

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Deskripsi dan Klasifikasi Ikan Bandeng (*Chanos chanos*)

Ikan bandeng merupakan salah satu komoditas ekspor yang dikenal dengan sebutan *milkfish*. Ikan ini memiliki karakteristik berbadan langsing, sirip bercabang serta lincah di air, memiliki sisik seperti kaca dan berdaging putih. Ikan bandeng memiliki keunikan, yakni mulutnya tidak bergigi dan makanannya adalah tumbuh-tumbuhan dasar laut. Selain itu panjang usus bandeng 9 kali panjang badannya (Murtidjo 1989).

Klasifikasi ikan bandeng (Saain 1984) adalah sebagai berikut :

Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Pisces
Subkelas	: Teleostei
Ordo	: Malacopterygii
Famili	: Chanidae
Genus	: <i>Chanos</i>
Spesies	: <i>Chanos chanos</i>

Ikan bandeng mempunyai ciri-ciri morfologi badan memanjang, agak pipih, tanpa skuta pada bagian perutnya, mata diseliputi lendir mempunyai sisik besar pada sirip dada dan sirip perut, sirip ekor panjang dan bercagak, sisik kecil dengan tipe *cycloid*, tidak bergigi, sirip dubur jauh di belakang sirip punggung (Saain 1984). Morfologi ikan bandeng dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1 Morfologi ikan bandeng (*Chanos chanos*) (Anonim 2010).

Ikan bandeng merupakan salah satu jenis ikan budidaya air payau yang potensial dikembangkan. Jenis ikan ini mampu mentolerir salinitas perairan yang luas (0-158 ppt) sehingga digolongkan sebagai ikan *euryhaline*. Ikan bandeng

mampu beradaptasi terhadap perubahan lingkungan seperti suhu, pH dan kekeruhan air, serta tahan terhadap serangan penyakit (Ghufron dan Kardi 1997).

Komposisi gizi ikan bandeng sangat tinggi, terutama kandungan proteinnya. Komposisi ikan bandeng segar dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Komposisi kimia ikan bandeng segar

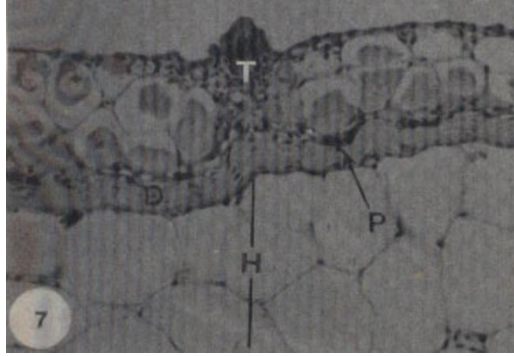
Kandungan gizi	Kadar (%)
Air	74,00
Protein	20,00
Lemak	4,80
Abu	1,19

Sumber : Saparinto *et al.* (2006)

2.2 Anatomi Kulit Ikan

Kulit ikan terdiri dari daerah punggung, perut dan ekor sesuai dengan bentuk badannya. Kulit ikan tersusun dari komponen kimia protein, lemak, air, dan mineral. Kulit ikan mengalami kemunduran mutu seperti bagian ikan yang lain ketika mati. Kadar protein yang tinggi pada kulit menyebabkan kulit mudah rusak pada suasana asam, basa, serta aktivitas mikroba sehingga kulit mudah busuk (Rahmat *et al.* 2008). Enzim-enzim yang banyak berperan dalam kemunduran mutu kulit, seperti halnya pada ikan, adalah enzim-enzim proteolitik, yaitu enzim katepsin dan kolagenase.

Kulit ikan merupakan penghalang fisik terhadap perubahan lingkungan serta serangan mikroba dari luar tubuh. Kerusakan kulit akan mempermudah mikroba menginfeksi inang. Ikan teleostei memiliki tiga lapisan pada kulitnya, yaitu epidermis, dermis, dan hipodermis atau subkutis. Ikan teleostei tidak memiliki lapisan keratin pada epidermisnya, tetapi dilapisi oleh kutikula yang memiliki mukus, mukopolisakarida, immunoglobulin spesifik, lisozim, dan sejumlah asam lemak bebas (Robert 1978 diacu dalam Cinabut *et al.* 1991). Mikrostruktur kulit ikan dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2 Mikrostruktur kulit ikan *catfish* (H&E, perbesaran 52x) (T: taste buds, P: pigmen melanin, H: hipodermis) (Sumber: Chinabut *et al.* 1991).

Epidermis tersusun atas tiga lapisan, lapisan luar adalah lapisan epitel pipih. Pada lapisan ini terdapat sel-sel lendir yang menyalurkan lendir ke kutikula. Lendir memiliki kemampuan protektif bagi hewan antara lain karena lendir melapisi permukaan tubuh sehingga mempermudah gerakan saat berenang, membentuk lapisan pelindung dari infeksi agensia patogenik, mengandung senyawa antimikroba dan berperan dalam proses osmoregulasi (Irianto 2005). Lapisan tengah epidermis tersusun oleh sel-sel gada, bentuknya bulat atau oval dan memiliki inti di tengah. Lapisan dalam epidermis adalah *stratum germinativum*, yang tersusun oleh lapisan tunggal sel kubus atau silinder. Sel ini mempunyai kemampuan diferensiasi yang tinggi (Yasutake dan Wales 1983).

Pada epidermis terdapat alarm sel, yaitu kelompok sel-sel eosinofil dan biasanya terdapat pada lapisan bawah dan tengah pada sejumlah spesies *cyprinid*. Sel-sel tersebut merupakan kelompok sel yang berperan dalam sekresi senyawa penanda bahaya (*alarm substance*). Sejumlah spesies lainnya memiliki sel-sel yang mirip yaitu sel-sel berukuran besar, jernih, tidak berlendir, tetapi tidak menghasilkan senyawa penanda bahaya, sel-sel bergranula, leukosit dan makrofag (Irianto 2005).

Lapisan dermis terletak dibawah epidermis. Lapisan ini berdiferensiasi menjadi *stratum compactum* dan *stratum spongiosum* (Schwinger *et al.* 2001). *Stratum compactum* terletak di bawah *stratum spongiosum*. *Stratum spongiosum* merupakan jaringan serat retikulin dan kolagen yang longgar, mengandung sel-sel pigmen, fibroblas, sel-sel penumpu sisik, dan sisik (Chinabut *et al.* 1991, Yasutake dan Wales 1983). *Stratum compactum* dicirikan oleh serabut kolagen

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

yang tersusun rapat di beberapa lapisan dan mengandung sedikit fibroblas (Putra 1992, Yasutake dan Wales 1983).

Hipodermis atau lapisan subkutan merupakan bagian kulit yang paling dalam dan paling tipis yang terletak antara *stratum compactum* dan serabut otot. Ciri yang paling mencolok dari lapisan ini adalah terdapatnya sel-sel adiposa (lemak), lapisan pigmen, pembuluh darah dan syaraf (Chinabut *et al.* 1991).

2.3 Kemunduran Mutu Ikan

Kemunduran mutu ikan digolongkan menjadi 4 tahap, yaitu *prerigor*, *rigor mortis*, *postrigor* dan pembusukan oleh bakteri (Junianto 2003). Menurunnya tingkat kesegaran atau kemunduran mutu pada ikan disebabkan adanya reaksi kimia dan pembusukan oleh mikroba (Gram dan Dalgaard 2002). Jika dilihat dari keberadaan kandungan dan besarnya unsur biokimia makro yang terdapat di dalam tubuh ikan, perubahan utama yang terjadi pada proses kemunduran mutu ikan umumnya bersumberkan dari perubahan atau kerusakan komponen protein dan lemak yang terdapat dalam tubuh ikan itu sendiri. Proses kemunduran mutu ikan selama penyimpanan, proses perubahan tingkat kesegaran ikan pada periode penyimpanan awal didominasi oleh proses autolisis dan kemudian digantikan oleh perubahan akibat aktivitas bakteri (Mahmoud *et al.* 2006).

2.3.1 Prerigor

Tahap *prerigor* merupakan perubahan yang pertama kali terjadi setelah ikan mati. Fase ini ditandai dengan pelepasan lendir cair, bening, atau transparan yang menyelimuti seluruh tubuh ikan. Proses ini disebut hiperemia yang berlangsung 2-4 jam. Lendir yang dikeluarkan ini sebagian besar terdiri dari glukoprotein dan musin yang merupakan media ideal bagi pertumbuhan bakteri (Junianto 2003).

Tahap *prerigor* terjadi ketika daging ikan masih lembut dan lunak. Perubahan awal yang terjadi ketika ikan mati adalah peredaran darah berhenti sehingga pasokan oksigen untuk kegiatan metabolisme berhenti. Di dalam daging ikan mulai terjadi aktivitas penurunan mutu dalam kondisi anaerobik. Pada fase ini terjadi penurunan ATP dan keratin fosfat melalui proses aktif glikolisis. Proses glikolisis mengubah glikogen menjadi asam laktat yang menyebabkan terjadinya penurunan pH (Eskin 1990).

2.3.2 Rigormortis

Fase selanjutnya adalah *rigormortis*. Morkore *et al.* (2006) menyatakan bahwa fase *rigormortis* adalah tahap yang terjadi ketika ikan mengalami kekakuan (kekejangan). Fase ini ditandai dengan terjadinya penurunan pH akibat akumulasi asam laktat. Faktor yang mempengaruhi lamanya fase *rigormortis* yaitu jenis ikan, suhu, penanganan sebelum pemanenan, kondisi stress pra kematian, kondisi biologis ikan, dan suhu penyimpanan *prerigor* (Skjervold *et al.* 2001). Nilai pH daging ikan selama fase *rigormortis* turun dari 7-6,5 (Cheret 2007).

Fase *rigormortis* sangat penting dalam industri perikanan karena fase ini merupakan tahapan sebelum terjadinya kebusukan oleh mikroba. Selama berada dalam tahap ini, ikan masih memiliki kualitas yang baik dan diterima oleh konsumen. Fase ini dihindari oleh industri *fillet* karena daging ikan yang kaku sulit untuk diproses (Eskin 1990).

2.3.3 Postrigor

Fase *postrigor* merupakan fase awal kebusukan ikan. Fase ini terjadi ketika daging dan otot ikan secara bertahap menjadi lunak kembali. Hal ini disebabkan terjadinya degradasi enzimatis di dalam daging ikan (Papa *et al.* 1997 diacu dalam Oceano-Higuera *et al.* 2011). Pada awalnya fase ini akan meningkatkan derajat penerimaan konsumen (Eskin 1990).

Proses autolisis berlangsung pada tahap *postrigor*. Autolisis terjadi disebabkan adanya enzim-enzim endogenous yang ada di dalam otot ikan (Oceano-Higuera *et al.* 2009). Penurunan nilai pH menyebabkan enzim-enzim dalam jaringan otot menjadi aktif. Katepsin, yaitu enzim proteolitik yang berfungsi menguraikan protein menjadi senyawa sederhana, merombak struktur jaringan protein otot menjadi lebih longgar sehingga rentan terhadap serangan bakteri. Hal ini mengakibatkan daging ikan menjadi lunak kembali (Iriyanto dan Giyatmi 2009).

2.3.4 Busuk

Mikroorganisme dominan yang berperan penting di dalam proses penurunan kesegaran ikan adalah bakteri. Dekomposisi berjalan intensif, khususnya setelah ikan melewati fase *rigormortis*, pada saat jaringan otot longgar dan jarak antar serta diisi oleh cairan (Iriyanto dan Giyatmi 2009).

Bakteri mengeluarkan getah pencernaan, enzim yang merusak dan menghancurkan jaringan. Bakteri pada daging menyebabkan perubahan bau dan rasa yang pada mulanya terasa masam, beraroma seperti rumput atau asam. Bau dan rasa ini dapat berubah secara bertahap menjadi pahit atau sulfida serta dapat berubah menjadi ammonia pada tahap akhirnya. Selain perubahan bau dan rasa, bakteri menyebabkan perubahan tampilan dan ciri fisik lendir. Lendir pada kulit dan insang dapat berubah dari yang biasanya tampak jernih dan berair menjadi keruh dan kehitaman. Warna kulit ikan hilang dan menjadi tampak pucat dan pudar. Lapisan perut menjadi pucat dan hampir lepas dari dinding bagian dalam tubuh (DKP dan JICA 2008).

2.4 Pemeriksaan Histologi

Anatomi mikro atau histologi adalah mempelajari suatu organ atau bagian tubuh hewan atau tumbuhan secara cermat dan rinci. Usaha atau cara untuk dapat mengamati, mempelajari dan meneliti jaringan-jaringan tertentu dari suatu organisme dapat ditempuh dengan jalan penyiapan spesimen histologi. Untuk penyiapan spesimen histologi tersebut dikenal 4 cara yang umum dilakukan (Davenport 1960 diacu dalam Gunarso 1986) yaitu:

- 1) Penyiapan preparat/spesimen secara keseluruhan (*whole mount*), yakni pengamatan perkembangan embrio dan lain sebagainya
- 2) Penyiapan spesimen dengan metode penyayatan (*sectioning methods*)
- 3) Penyiapan dengan metoda remasan (*teasing/squashing methods*)
- 4) Penyiapan dengan menggunakan metode ulasan (*smear methods*).

Metode penyayatan (*sectioning*) merupakan metode yang lazim dan banyak digunakan dalam penyiapan spesimen histologi. Melalui metode ini spesimen disayat setipis mungkin, diwarnai, dan dijadikan spesimen awetan. Penyayatan umumnya dilakukan dengan mikrotom. Melalui metode ini, spesimen dipersiapkan untuk disayat dan untuk itu diperlukan perlakuan tertentu yang mampu untuk mengeraskan spesimen sehingga memungkinkan untuk dilakukan penyayatan. Pengerasan jaringan tersebut dapat dilakukan dengan cara membekukan ataupun dengan jalan penanaman dalam suatu substansi yang mampu mengeraskannya (Davenport 1960 diacu dalam Gunarso 1986).

2.5 Pembuatan Preparat Histologi dengan Metode Parafin

Pembuatan preparat dengan metode parafin merupakan suatu metode yang paling umum digunakan. Metode ini banyak digunakan karena lebih mudah dan lebih cepat serta material kering dapat disimpan lebih lama (Kiernan 1990). Langkah-langkah yang perlu dilakukan dan diperhatikan dalam teknik histologi secara manual adalah fiksasi atau pengawetan jaringan, perlakuan (*processing*) jaringan, pemotongan jaringan, pewarnaan jaringan serta pengamatan di bawah mikroskop (Angka *et al.* 1990). Tahapan dalam persiapan preparat adalah fiksasi, dehidrasi, *clearing*, *impregnasi* dan *embedding*, *blocking* dan *trimming*, pemotongan, pewarnaan, dan perekatan jaringan.

2.5.1 Fiksasi

Tahap awal pembuatan preparat histologi yaitu fiksasi yang dilakukan untuk mencegah autolisis dan dekomposisi *post-mortem* dari suatu jaringan atau organ. Sel-sel dimatikan melalui fiksasi untuk memutuskan proses hidup dinamis sel secepat mungkin dan menjaga struktur dari pengaruh yang seminimal mungkin (Geser 1994). Fiksasi bertujuan untuk mengawetkan morfologi dan komposisi jaringan sehingga jaringan tetap, seperti keadaan semula sewaktu hidup, mengeras jaringan agar dapat diiris, mencegah jaringan larut selama proses pembuatan preparat serta mengaktifkan jaringan dan komponennya sehingga mudah untuk diwarnai (Angka *et al.* 1990).

Larutan fiksasi disebut fiksatif. Beberapa fiksatif yang dapat digunakan diantaranya fiksatif Zenker, fiksatif Baker, fiksatif Carnoys, Buffer Normal Formalin (BNF), Formol Saline, larutan Helly, Larutan ORTH, fiksatif Bouin's (Sastrohadinoto *et al.* 1973). Formula fiksatif BNF adalah (Angka *et al.* 1990):

NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	: 40 g
Na ₂ HPO ₄ (anhidrid)	: 6,5 g
Akuades	: 900 ml
Formaldehid 37-40%	: 100 ml

Waktu minimum yang dibutuhkan untuk jaringan dalam fiksatif ini adalah 24 jam dan maksimum 1 minggu. Fiksasi dilakukan dengan cara membenamkan potongan kecil jaringan ke dalam larutan fiksatif. Pengambilan jaringan dilakukan menggunakan pisau yang tajam untuk menghindari kerusakan pada potongan

jaringan. Potongan jaringan berukuran beberapa millimeter untuk memastikan bahwa zat fiksasi cukup menembus dengan cepat kedalam semua bagian jaringan (Genesser 1994).

2.5.2 Dehidrasi

Jaringan yang telah difiksasi akan mempertahankan kandungan air yang tinggi, suatu kondisi yang menjadi penghambat untuk proses selanjutnya, sehingga jaringan perlu didehidrasi (penghilangan air). Cairan dalam jaringan dapat menyebabkan jaringan lunak, berisi lumen atau celah cekung dan mudah rusak oleh penyayatan. Dehidrasi bertujuan agar cairan di dalam sel/jaringan ditarik keluar untuk digantikan dengan parafin (Sass 1951).

Penarikan air keluar dari sel/jaringan dilakukan dengan cara merendam jaringan dalam bahan kimia yang berfungsi sebagai dehidrator (penarik air) yang secara progresif konsentrasinya meningkat, yakni alkohol. Perubahan konsentrasi bertahap, yakni alkohol 80%, 90%, 95%, 95% masing-masing selama 2 jam dan alkohol absolut selama 12 jam (Angka *et al.* 1990). Peningkatan konsentrasi ini dilakukan agar penghilangan air dari jaringan dapat dilakukan secara sempurna (Genesser 1994). Pemberian alkohol absolut bertujuan untuk mengurangi penyusutan pada jaringan (Sass 1951).

2.5.3 *Clearing* (penjernihan)

Clearing merupakan proses penjernihan yang bertujuan untuk menggantikan alkohol. Proses *clearing* dilakukan dengan menambahkan *clearing agent* yang berfungsi sebagai pelarut parafin. Pada proses ini jaringan menjadi jernih dan yang tidak tembus cahaya menjadi transparan. Bahan yang dapat digunakan sebagai *clearing agent* adalah xylol, kloroform dan benzol. Xylol banyak dipergunakan karena bekerja dengan cepat, membuat preparat cukup transparan dan bersifat dealkoholisasi (Sastrohadinoto *et al.* 1973). Setelah proses dehidrasi, air di dalam sel keluar. Bagian yang kosong diisi parafin agar jaringan terikat kuat dengan parafin. Alkohol tidak dapat melarutkan parafin, oleh karena itu digunakan xylol yang dapat melarutkan parafin dan dapat bercampur dengan alkohol (Angka *et al.* 1990).

Proses *clearing* dilakukan dengan merendam jaringan dalam alkohol-xylol (1:1), xylol I, xylol II, xylol III masing-masing selama 30 menit. Perendaman

dilakukan sama halnya seperti pada perendaman dengan alkohol pada suhu ruang. Perendaman berturut-turut dalam xylol bertujuan agar penghilangan alkohol dari jaringan berjalan sempurna (Angka *et al.* 1990). Jika selama penjernihan, *clearing agent* menjadi keruh, menunjukkan bahwa air masih ada pada jaringan dan jaringan tidak terhidrasi dengan sempurna dan dapat dilakukan pengulangan ke dalam alkohol absolut.

2.5.4 *Impregnasi dan embedding*

Impregnasi merupakan tahapan dimana medium untuk menanam dimasukkan ke dalam jaringan secara bertahap. Medium yang digunakan untuk menanam adalah parafin. *Embedding* adalah proses untuk memasukkan parafin cair ke dalam jaringan. Proses penggantian ini berlangsung di dalam oven pada suhu 60 °C karena titik cair parafin 54-58 °C. Proses ini bertujuan agar parafin menyusup ke dalam seluruh celah antar sel dan bahkan ke dalam sel sehingga jaringan lebih tahan saat pemotongan (Angka *et al.* 1990). Pada suhu yang lebih tinggi dari titik cair parafin sisa-sisa *dehidratant* dan *clearing agent* akan lebih cepat menguap (Sastrohadinoto *et al.* 1973). Proses pembenaman kedalam parafin membantu memudahkan pemotongan dalam pemotongan jaringan yang sangat tipis.

Penyusupan parafin ke dalam jaringan dilakukan dengan cara merendam jaringan dalam xylol : parafin (1:1), parafin I, parafin II, dan parafin III masing-masing selama 45 menit. Proses pemindahan berturut-turut dalam parafin bertujuan agar xylol yang ada dalam jaringan benar-benar tergantikan oleh parafin (Angka *et al.* 1990).

2.5.5 *Blocking dan Trimming*

Jaringan yang telah diembedding dalam parafin cair lalu diblok (dicetak agar mudah dipotong) dengan parafin cair yang kemudian dibekukan. Proses ini membutuhkan cetakan yang dapat dibuat dari kertas yang kaku seperti kertas kalender dengan ukuran 2x2x2 cm³. Parafin cair dituangkan ke dalam cetakan hingga memenuhi sekitar 1/8 bagian cetakan dan dibiarkan hingga sedikit membeku. Setelah itu, jaringan disusun dalam cetakan dan dituangi parafin cair hingga material jaringan terendam. Selanjutnya dibiarkan beku dalam suhu ruang selama 24 jam (Angka *et al.* 1990).

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Pada waktu menjadi dingin, parafin mengeras dan bersama-sama dengan potongan jaringan yang dibenamkan, membentuk blok jaringan yang keras. Blok parafin dikeluarkan dari cetakan setelah mengeras dan ditriming menggunakan silet. Tujuan dilakukannya *trimming* yakni membuang parafin yang berlebihan, mengatur bentuk potongannya agar rapi dan agar dapat disesuaikan dengan tempat blok alat pemotong (Sastrohadinoto *et al.* 1973, Angka *et al.* 1990).

2.5.6 Pemotongan jaringan

Pemotongan jaringan dilakukan menggunakan mikrotom. Ketebalan potongan diatur dengan cara menggeser bagian pengatur ketebalan hingga ketebalan yang diinginkan. Ketebalan sayatan untuk jaringan keras yakni 7-8 μm , sedangkan jaringan lunak 5-6 μm (daging, hati, ginjal dan lain-lain). Potongan diusahakan agar sambung menyambung membentuk pita parafin. Pita parafin awal tanpa jaringan dibuang sehingga diperoleh potongan yang mengandung preparat jaringan. Pita parafin diletakkan di permukaan air hangat/*waterbath* (45-50 °C) agar jaringan di dalam parafin teregang. Pita parafin kemudian diangkat dari permukaan air dengan menggunakan slide yang telah direndam di dalam metanol. Perendaman slide di dalam metanol bertujuan untuk membersihkan kotoran ataupun minyak yang menempel pada slide. Preparat yang telah merekat pada slide kemudian dibiarkan hingga mengering.

2.5.7 Pewarnaan dan perekatan jaringan

Sejumlah pita parafin ditempelkan pada slide dan diwarnai. Parafin yang ada di dalam jaringan harus dihilangkan sebelum pewarnaan dengan diberi xilene (xilol) kemudian dilakukan hidrasi dengan konsentrasi alkohol yang menurun, yakni alkohol 100%, 100%, 95%, 90%, 80%, 70%, dan 50% masing-masing selama 3 menit. Penghilangan parafin dari jaringan bertujuan agar jaringan menjadi jernih (Angka *et al.* 1990).

Pewarnaan histologi yang banyak dipakai adalah kombinasi hematoksilin dan eosin (HE). Hematoksilin dan Eosin adalah metode pewarnaan yang banyak digunakan dalam dalam pewarnaan jaringan sehingga pewarnaan ini diperlukan dalam diagnosis medis dan penelitian. Hematoksilin adalah pewarna yang sering digunakan pada pewarnaan histoteknik. Hematoksilin merupakan ekstrak dari pohon yang diberi nama *logwood tree*. Hematoksilin bekerja sebagai pewarna



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

basa, artinya zat ini mewarnai unsur basofilik jaringan. Hematoksilin memulas inti dan struktur asam lainnya dari sel (seperti bagian sitoplasma yang kaya RNA dan matriks tulang rawan) menjadi biru. Eosin bersifat asam dan memulas komponen asidofilik jaringan seperti mitokondria, granula sekretoris, dan kolagen. Eosin mewarnai sitoplasma dan kolagen menjadi warna merah muda. Setelah pewarnaan, dilakukan hidrasi dengan konsentrasi alkohol yang meningkat, yakni alkohol 50%, 70%, 85%, 90%, 100%, 100% masing-masing selama 2 menit. Proses hidrasi dilakukan dengan tujuan agar preparat dapat direkatkan dengan kaca penutup. Setelah proses hidrasi dilakukan proses *mounting* (Angka *et al.* 1990).

Mounting merupakan proses perekatan sayatan jaringan pada kaca sediaan dengan mempergunakan bahan perekat (*adhesive*). Proses *mounting* menggunakan *mounting media*. *Mounting media* adalah zat yang mengisi antara preparat yang telah diwarnai dan kaca penutup. Zat yang dapat digunakan sebagai *mounting media* harus memenuhi beberapa persyaratan, yakni meningkatkan sifat tembus cahaya (transparansi) dari jaringan, index refraksinya harus sama dengan atau mendekati kaca obyek maupun kaca penutup serta merupakan alat perekat kaca obyek dan kaca penutup yang baik (Sastrohadinoto *et al.* 1973).

Zat yang dapat digunakan sebagai *mounting media* yakni gliserol, Canada Balsam. Gliserol memiliki sifat yang kurang baik karena hanya dipakai bagi preparat yang dipakai sebentar yakni selama satu atau dua hari. Canada Balsam index refraksinya hampir sama dengan kaca obyek (Sastrohadinoto *et al.* 1973). Penutupan kaca obyek dengan gelas penutup dilakukan agar preparat menjadi licin dan permukaan yang dihasilkan tidak menyebabkan pantulan cahaya selama pengamatan mikroskopis (Geneser 1994).