

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Umum Tentang Ginjal

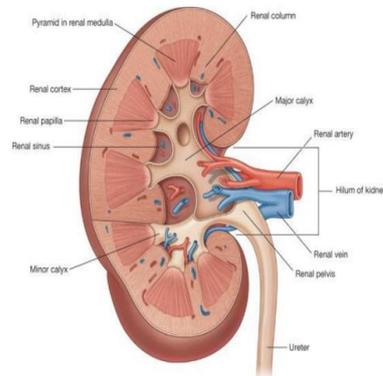
1) Definisi Ginjal

Ginjal adalah sepasang organ yang terletak di setiap sisi tulang belakang di dalam perut bagian bawah. Setiap ginjal berukuran sebesar kepalan tangan, dan ada kelenjar adrenal di puncak setiap ginjal. Ginjal merupakan bagian dari saluran air seni atau kencing yang membantu mengeluarkan kotoran dan air berlebih dari darah. Setiap ginjal memiliki ruang berongga yang disebut *renal pelvis* di tengahnya. Urin masuk ke kantung kemih melalui tabung yang disebut *urete* dan urin keluar dari tubuh melalui tabung yang disebut *urethra*. Ginjal juga menghasilkan senyawa yang membantu mengatur tekanan darah dan membuat sel-sel darah merah. Sel-sel kanker sering ditemukan di simpul getah bening yang berdekatan (Maharani, 2020).

Ginjal memiliki peran penting dalam metabolisme, ekskresi dan filtrasi. Dimana ginjal adalah sepasang organ yang letaknya berada di belakang rongga peritoneum. Sama dengan organ tubuh lainnya, ginjal bisa mengalami karsinoma atau kanker (Melisa dkk, 2016).

2) Anatomi Ginjal

Meskipun ginjal manusia kecil dan anatominya sederhana, tapi tanggung jawabnya terhadap kesehatan tubuh sangat besar. Setiap ginjal orang dewasa beratnya sekitar 150 gram dan panjangnya sekitar 11 cm dengan ketebalan 5 cm. Ginjal memiliki bentuk kacang dengan lekukan menghadap ke dalam. Ginjal juga memiliki bukaan yang disebut *hilus* yang menghubungkan *arteri renal*, *vena renal*, dan *ureter* (Hidayat, 2021).



Gambar 1. Anatomi ginjal

Sumber : Susilo & Akhmad (2014)

Ginjal terdiri atas dua area besar, yaitu :

- 1) Area di bagian luar yang berwarna cerah disebut renal cortex.
- 2) Bagian berwarna pekat di bagian dalam *medulla* yang disebut *renal medulla*. Di dalam *medulla* terdapat delapan atau lebih bagian berbentuk *cone-shaped section* yang disebut *renal pyramids* dan area di antara *pyramid* disebut *renal columns* (Hidayat, 2021).

Nephrons adalah struktur utama ginjal. Ginjal memiliki jutaan struktur mikroskopis di dalamnya yang berfungsi menyaring darah dan membuang limbah. Setiap hari, pembuluh darah arteri mengirimkan darah ke ginjal dalam volume 180 liter atau sekitar 50 galon. Setelah masuk ke ginjal, darah disaring sebelum kembali ke jantung melalui pembuluh darah vena. Nefron bagian kecil dari ginjal melakukan proses penyaringan. Sekitar satu miliar nefron terdapat di setiap ginjal. Nefron ini terdiri dari pembuluh darah kapiler atau tubulus. Tubulus yang pertama kali menerima zat buangan dan berbagai bahan kimia yang masih bisa digunakan tubuh setelah metabolisme. Ginjal mengambil zat kimia yang masih berguna untuk tubuh dan mengembalikannya ke peredaran darah untuk dibuang kembali. Dengan cara ini, ginjal mengatur jumlah zat kimia yang ada dalam tubuh. Ginjal yang normal pada orang dewasa biasanya berukuran panjang 10-13 cm (4-5 inci) dan lebar 5-7,5 cm (2-3 inci). Ginjal memiliki

berat sekitar 150 gram dan persentase beratnya adalah 0,5% dari berat tubuh (Hidayat, 2021).

3) Fisiologi Ginjal

Secara khusus, ada enam poin berikut dapat menggambarkan fungsi ginjal:

- a) Menyeimbangkan pH darah.
- b) Enzim *renin* yang dihasilkan oleh ginjal mengontrol tekanan darah dan keseimbangan *elektrolisis*, mengubah protein dalam darah menjadi hormon *angiotensis*, kemudian hormon angiotensis diubah menjadi *aldosterone* yang menyerap *sodium* dan air ke dalam darah.
- c) Memproses vitamin D untuk memungkinkan stimulasi tulang.
- d) Membersihkan darah dari racun dan limbah. *Urea* dan *uric acid* merupakan racun di dalam darah. Terlalu banyak dari kedua racun ini dapat mengganggu metabolisme tubuh.
- e) Menjaga kebersihan darah dengan mengontrol semua cairan tubuh.
- f) Menghasilkan hormon *erythropoietin* yang bertanggung jawab untuk menghasilkan sel darah merah di tulang (Hidayat, 2021).

B. Tinjauan Umum Tentang Tumor Ginjal

1) Definisi tumor ginjal

Tumor ginjal merupakan tumor terbanyak nomor tiga, dimana tumor ganas ini biasa disebut adenokarsinoma ginjal atau *renal cell carcinoma* (RCC). Selain itu, tumor ginjal bisa menyebar ke paru-paru, tulang-tulang, atau hati bahkan dari ginjal satu ke ginjal lainnya. Tumor ginjal merupakan 3% dari tumor ganas pada orang dewasa dan berasal dari epitel tubulus proksimal (Melisa dkk, 2016).

2) Epidemiologi tumor ginjal

Insiden terjadinya tumor ginjal lebih banyak dialami pada pria dibandingkan wanita. Pada negara-negara berkembang terjadi sebanyak

59% kasus tumor ginjal, contohnya di Amerika Utara dan Eropa menjadi negara dengan tingkat tertinggi dan di Asia dan Afrika kasus terendah. Tumor ginjal atau biasa disebut *Renal cell carcinoma* (RCC) terdapat 2-3% dari seluruh kasus di seluruh dunia. Terdapat sekitar 270.000 kasus baru di diagnosis per tahun di seluruh dunia dan pasien meninggal sekitar 116.000 per tahun. Pada kasus lain juga menunjukkan bahwa terdapat 209.000 kasus baru diseluruh dunia dan 102.000 meninggal per tahunnya. Sekitar 62.00 telah di diagnosis RCC pada tahun 2015 di Amerika Serikat dan telah meninggal sebanyak 14.000 karena kasus ini (Melisa dkk, 2016).

3) Diagnosis tumor ginjal

Dokter akan melakukan salah satu dari prosedur berikut jika gejala menunjukkan tumor ginjal, yaitu:

- a) Pemeriksaan fisik dengan memeriksa tanda-tanda kesehatan umum dan menguji tekanan darah tinggi dan demam serta meraba perut dan pinggang untuk memastikan apakah ada gejala tumor.
- b) *Intravenous pyelogram* (IVP) diagnosis dengan menyuntikkan zat berwarna ke vena lengan. Pigmentasi mencapai ginjal setelah melalui tubuh. Selanjutnya zat warna ditangkap oleh sinar X. Rentetan cahaya dari sinar X menjejaki zat warna saat melalui ginjal menuju kantung kemih.
- c) CT scan adalah pemeriksaan dengan sejumlah gambar ginjal yang secara rinci diambil melalui mesin sinar X yang terhubung ke komputer. Pasien menerima suntikan zat warna untuk membuat ginjal terlihat jelas.
- d) Tes *ultrasound* adalah pemeriksaan dengan alat *ultrasound* menggunakan gelombang suara yang tidak dapat didengar oleh manusia. Gelombang-gelombang suara ini memantul dari ginjal dan gema-gema ini diproses oleh computer untuk menghasilkan gambar yang disebut sonogram.

- e) Biopsi adalah pemeriksaan yang dilakukan dengan pengambilan jaringan untuk mencari sel-sel tumor ganas. Untuk mengangkat sampel jaringan jarum tipis dimasukkan ke dalam ginjal melalui kulit dengan menggunakan jarum yang dipandu *ultrasound* atau sinar X.
- f) Dokter biasanya merekomendasikan operasi dengan pengangkatan ginjal sebagian atau seluruhnya berdasarkan hasil CT scan, ultrasound dan sinar X. Setelah memeriksa jaringan dengan mikroskop, seorang ahli patologi membuat diagnosis akhir (Maharani,2020).

4) Stadium tumor ginjal

Ukuran tumor, penyebaran dan luas penyebaran menentukan stadium kanker ginjal. Stadium-stadium ini adalah sebagai berikut:

- a) Stadium I ini adalah stadium awal tumor ginjal. Tumornya tidak lebih besar dari bola tenis, berukuran 2,75 inci (7 cm) dan hanya sel-sel kanker yang ditemukan di ginjal.
- b) Stadium II ini adalah tahap awal tumor ginjal, tumor sudah berukuran lebih dari 2,75 inci dan sel kanker hanya ditemukan di ginjal.
- c) Stadium III adalah tahap dimana tumor tidak menyebar di luar ginjal namun sel kanker telah menyebar melalui sistem getah bening ke simpul getah bening yang berdekatan. Selain itu, tumor merusak kelenjar adrenal yang merupakan lapisan lemak dan jaringan berserabut yang mengelilingi ginjal namun sel-sel kanker masih belum menyebar di luar jaringan berserabut. Mereka dapat ditemukan pada suatu simpul getah bening yang berdekatan atau menyebar dari ginjal ke pembuluh darah besar yang berdekatan.
- d) Stadium IV adalah tahap tumor meluas diluar diluar jaringan berserabut di sekitar ginjal. Sel-sel tumor dapat ditemukan di beberapa simpul getah bening yang berdekatan atau dapat menyebar ke bagian lain di dalam tubuh seperti paru-paru.

- e) Kanker atau tumor yang kambuh merupakan kondisi tumor ganas yang muncul kembali setelah perawatan dan dapat muncul di ginjal atau area tubuh lainnya (Maharani,2020).

5) Pemeriksaan laboratorium tumor ginjal

Salah satu pemeriksaan laboratorium yang dapat dilakukan untuk menentukan adanya diagnosis tumor ginjal adalah :

- a) Tes urin untuk memastikan gejala tumor.
- b) Tes darah yang dilakukan di laboratorium untuk mengevaluasi fungsi ginjal dan dapat memeriksa konsentrasi bahan kimia tertentu seperti *creatinin* yang dapat menyebabkan ginjal tidak berfungsi secara normal (Maharani,2020).

6) Etiologi tumor ginjal

Tumor ginjal paling sering muncul pada orang yang berumur 40 tahun ke atas, tetapi tidak seorang pun mengetahui penyebab pastinya. Dokter bahkan jarang bisa menjelaskan mengapa seseorang menderita penyakit ini. Tidak orang yang dapat mewarisi penyakit ini dari orang lain. Namun demikian beberapa faktor dapat menyebabkan tumor ginjal, yaitu:

- a) Merokok adalah faktor risiko utama. Perokok dua kali lebih mungkin menderita tumor ginjal dibandingkan dengan orang bukan perokok. Perokok yang menyukai rokok cerutu bahkan bisa memiliki resiko yang paling parah.
- b) Obesitas atau kegemukan memiliki resiko yang lebih tinggi dari pada individu yang tidak mengalami kegemukan.
- c) Hipertensi adalah salah satu faktor adanya penyakit tumor ginjal.
- d) *Dialysis* Jangka Panjang adalah perawatan untuk individu dengan ginjal yang tidak berfungsi dengan baik. Pembuangan akan dikeluarkan dari darah melalui *dialysis*.
- e) *Von Hippel-Lindau (VHL) Syndrome* adalah perubahan dalam gen VHL yang mana penyakit ini jarang terjadi pada beberapa keluarga. Gen

yang tidak normal dapat menyebabkan kista atau tumor di mata, otak dan bagian tubuh lainnya. Penderita sindrom ini dapat diperiksa untuk yang tidak normal.

- f) Jenis Kelamin. Gender laki-laki lebih rentan terkena tumor ginjal dari pada perempuan (Maharani,2020).

7) Jenis-jenis tumor ginjal

Beberapa jenis tumor ganas dapat berasal dari ginjal. Jenis tumor ginjal antara lain:

- a) *Renal adenocarcinoma* atau *Hypernephroma* adalah jenis tumor ginjal yang paling umum pada orang dewasa.
- b) *Transitional Cell Carcinoma* adalah jenis tumor ganas yang memberikan efek pada *renal pelvis* yang mirip dengan tumor kantung kemih.
- c) *Wilms Tumor* adalah jenis tumor ginjal yang paling umum pada anak-anak. tumor ganas ini berbeda dari tumor ginjal orang dewasa dan membutuhkan perawatan yang berbeda (Maharani, 2020).

8) Gejala tumor ginjal

Salah satu gejala tumor ginjal adalah:

- a) Darah dalam urin (urin berwarna merah muda atau karatan).
- b) Nyeri pada sisi tubuh yang tidak kunjung hilang pada sisi badan.
- c) Terdapat gumpalan yang terasa di sisi badan atau di area perut.
- d) Mengalami penurunan berat badan.
- e) Demam.
- f) Perasaan tidak nyaman atau lelah (Maharani, 2020).

C. Tinjauan Umum Tentang Teknik Histologi Diagnosis Tumor Ginjal

Histopatologi adalah cabang biologi yang mempelajari kondisi dan fungsi jaringan dalam hubungannya dengan penyakit dan merupakan salah satu pertimbangan dalam penegakan diagnosis melalui hasil pengamatan terhadap jaringan yang diduga terganggu (Arirahma, 2019).

Histoteknik adalah metode untuk membuat sediaan histologi dari spesimen tertentu melalui suatu rangkaian proses hingga menjadi sediaan yang siap untuk diamati atau dianalisis. Sediaan histologi yang dibuat harus memberikan gambaran tentang bentuk dan ukuran serta susunan sel, seperti inti sel dan sitoplasma, badan inklusi, susunan serat jaringan ikat, otot dan lain sebagainya sesuai dengan gambaran jaringan tubuh dalam kondisi hidup (Rahmadani, 2022).

Tahapan teknik pembuatan sediaan dengan teknik histologi adalah sebagai berikut :

a. *Grossing*

Grossing atau kamar potong adalah proses pemotongan jaringan secara makroskopis dimana setelah jaringan dipotong maka jaringan dimasukkan ke dalam kaset.

b. Fiksasi

Fiksasi merupakan langkah yang dilakukan untuk melindungi struktur sel dan komposisi biokimianya agar tidak rusak. Tujuan utama dilakukannya fiksasi adalah agar dapat mempertahankan sel serta komponen jaringan agar saat sediaan diperiksa maka akan menghasilkan hasil yang sama seperti keadaan pada saat jaringan masih hidup (Musyarifah & Agus, 2018).

Fiksasi dilakukan untuk menghindari atau memperkecil kerusakan bentuk sel/jaringan saat terlepas dari tubuh dan mengeraskan sel/jaringan (Simanullang, 2022). Standar waktu fiksasi yang umum digunakan adalah 24 jam. Zat fiksatif yang paling umum digunakan dalam diagnostik patologi adalah formalin karena ia mampu menampilkan morfologi,

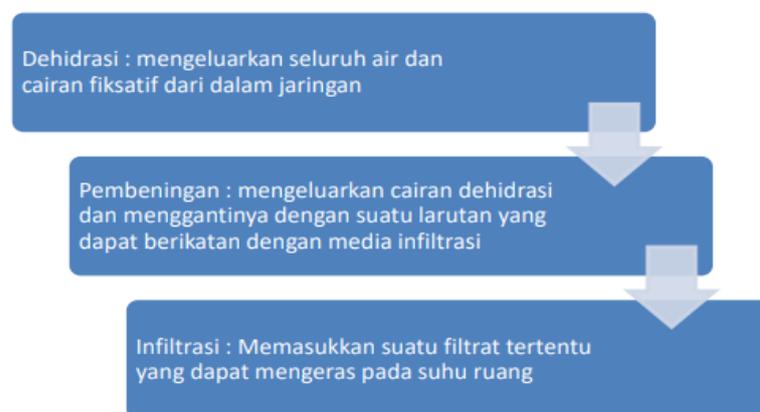
limfosit, detail inti, dan pewarnaan yang sangat baik. Dalam fiksasi, *netral buffer formalin* 10% (NBF 10%). Sejenis formaldehid menjadi zat yang biasa digunakan. Cairan ini digunakan karena penggunaannya lebih mudah dan dapat digunakan untuk mengawetkan jaringan dalam kurun waktu yang cukup lama (Pratiwi dkk, 2019).

Fiksasi jaringan dilakukan dengan cara :

- 1) Potong spesimen jaringan $\pm 4 \mu$.
- 2) Rendam dengan larutan fiksasi sesuai dengan tujuan pewarnaan.
- 3) Tunggu hingga tahap fiksasi selesai sempurna.
- 4) Cuci dengan air mengalir atau aquades (Simanullang, 2022).

c. *Tissue Processing* (pematangan jaringan)

Pematangan jaringan histologi masih menjadi *gold standard* penentuan terapi dan prognosis pasien. Hasil yang baik dapat memberikan gambaran tentang bentuk, susunan sel, inti sel, sitoplasma, susunan serat jaringan ikat, otot dan lain sebagainya sesuai dengan gambaran jaringan dalam kondisi pada waktu masih hidup. Proses pengeluaran air dan larutan fiksatif yang ada di dalam jaringan disebut pematangan jaringan, yang kemudian nantinya diganti dengan media yang membuat jaringan menjadi kaku sehingga bisa dilakukan pemotongan jaringan dengan ketebalan yang sangat tipis (Orno dkk, 2022).



Gambar 4. Tahapan pematangan jaringan

Sumber : Khristian & Inderiati (2017)

1) Dehidrasi

Dehidrasi merupakan tahap pertama dalam pematangan jaringan. Dehidrasi merupakan tahap atau proses menghilangkan air dan zat fiksatif dari komponen jaringan. Reagen yang dapat digunakan untuk dehidrasi yaitu Etanol, Etanol aseton, methanol, isoprofil, butanol, glikol dan alcohol terdenaturasi (Orno dkk, 2022).

2) *Clearing* (pembeningan)

Pembeningan adalah tahap kedua dari pematangan jaringan. Dimana perantara antara larutan dehidrasi dan infiltrasi adalah reagen pembeningan. Reagen pembeningan larut didalam larutan dehidrasi dan infiltrasi serta kebanyakan berupa hidrokarbon dengan indeks bias yang mirip protein. reagen yang digunakan dalam pembeningan yaitu xylol. Xylol merupakan cairan yang mudah terbakar dan tidak berwarna dengan aroma yang khas minyak bumi, larut dengan sebagian pelarut dan lilin parain (Orno dkk, 2022).

3) Infiltrasi

Suatu proses memasukkan materi atau filtrat kedalam jaringan disebut infiltrasi, sehingga jaringan tersebut dapat mengeras akibat filtrat di suhu ruang. Filtrat yang paling banyak digunakan untuk infiltrasi dan embedding adalah parafin (Orno dkk, 2022).

Faktor-faktor yang mempengaruhi tingkat kematangan jaringan yaitu agitasi, suhu, viskositas, vakum, jenis jaringan dan ukuran jaringan (Orno dkk, 2022).

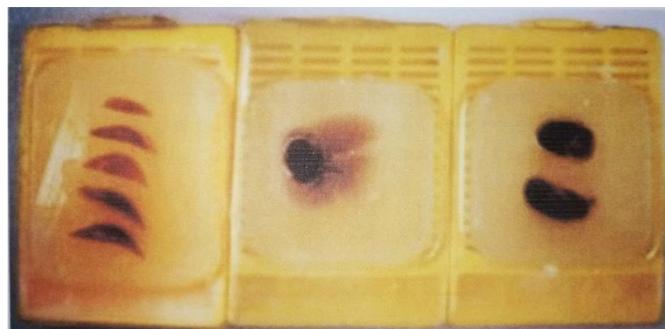
Tabel 1. Tahapan *Processing* Jaringan

Tahapan	Larutan	Waktu Proses	
		2 Jam	8 Jam
Dehidrasi	Alkohol 95%	1 menit	20 menit
Dehidrasi	Alkohol 95%	1 menit	20 menit
Dehidrasi	Alkohol Absolut	1 menit	20 menit
Dehidrasi	Alkohol Absolut	11 menit	40 menit
Dehidrasi	Alkohol Absolut	30 menit	60 menit
Pembeningan	Xilol	1 menit	30 menit
Pembeningan	Xilol	11 menit	30 menit
Pembeningan	Xilol	25 menit	60 menit
Infiltrasi	Parafin/Paraplast	3 menit	40 menit
Infiltrasi	Parafin/Paraplast	5 menit	40 menit
Infiltrasi	Parafin/Paraplast	15 menit	

Sumber : Orno dkk (2022)

d. Embedding (blocking)

Embedding adalah proses pembuatan blok preparat dengan menanamkan atau memasukkan jaringan ke dalam cetakan untuk memudahkan proses penyayatan dengan mikrotom (Simanullang, 2022).



Gambar 6. Blok Jaringan dengan posisi jaringan yang baik

Sumber : Khristian & Inderiati (2017)

e. Mikrotomi

Mikrotomi adalah proses pemotongan blok preparat dengan menggunakan mikrotom. Hal ini dilakukan untuk mendapatkan sediaan jaringan yang tipis, rata serta melipat atau terputus saat diletakkan pada gelas objek (Simanullang, 2022).

Mikrotom akan memotong jaringan menggunakan pisau khusus secara vertikal, sehingga didapatkan pita jaringan dengan ketebalan tertentu. Salah satu kunci utama pada poses pemotongan dengan mikrotom adalah pisau yang digunakan. Saat ini digunakan dua jenis pisau yaitu pisau stainless steel sekali pakai, pisau gelas, dan pisau berlian. Pisau yang tajam akan menghasilkan potongan halus dengan ketebalan 2-4 μ (Orno dkk, 2022).

1) *Trimming* (potong kasar)

Trimming atau potong kasar merupakan tahap awal dari pemotongan blok jaringan yang memiliki tujuan agar membuang kelebihan parafin yang menutupi jaringan sehingga permukaan jaringan dapat terbuka dan mampu menghasilkan pita jaringan yang utuh. Pemotongan dilakukan dengan ukuran 8-10 μ (Orno dkk, 2022).

2) *Section* (potong halus)

Section atau potong halus ini bertujuan untuk menghasilkan pita jaringan dengan ketebalan tertentu. Blok jaringan yang akan dipotong harus didinginkan terlebih dahulu untuk memberikan suhu yang stabil pada blok parafin dan jaringan. Ketebalan pita jaringan untuk hasil pembedahan rutin menggunakan ukuran 3-5 μ . Idealnya hasil pemotongan yang baik akan saling menempel satu sama lain membentuk pita dengan ketebalan yang sama (Orno dkk, 2022).

Tabel 2. Penyebab Kegagalan Proses Pemotongan dan Solusinya

Penyebab	Solusi
Pita/potongan paralel menggulung	
1. Potongan tidak tersambung	1. Potong blok hingga paralel
2. Pisau tumpul	2. Ganti pisau atau geser pada bagian yang berbeda
3. Kelebihan parafin	3. Potong kasar kelebihan parafin
4. Adanya listrik statis pada pita sehingga pita menggulung ke atas	4. Lembabkan udara disekitar area pemotongan, hindari penyebab listrik statis, tempatkan lembaran pengering dekat mikrotom.
Potongan yang tebal dan tipis	
1. Parafin selalu lembek untuk jaringan	1. Dinginkan blok atau tanam ulang jaringan pada parafin yang lebih keras (paraplastin)
2. Sudut pemotongan kurang tepat	2. Atur ulang sudut pemotongan
3. Pisau atau blok longgar saat dijepit	3. Perkuat penjepit
4. kegagalan mekanisme mikrotom	4. Lakukan perawatan, lumasi dan kalibrasi ulang mikrotom

Sumber : Orno dkk (2022)

f. *Staining* (Pewarnaan)

Staining adalah proses pemberian warna pada jaringan yang telah dipotong agar unsur jaringan mudah dikenali saat pengamatan dengan menggunakan mikroskop (Simanullang, 2022). Pewarnaan jaringan merupakan salah satu prosedur yang terdapat di dalam histoteknik. Pewarnaan merupakan proses pemberian warna pada jaringan yang bertujuan untuk memperjelas struktur dan morfologi jaringan tertentu (Juliati, 2017). Pewarnaan jaringan pada dasarnya terdiri dari 2 macam, yaitu pewarnaan rutin *hematoxylin eosin* (HE) dan pewarnaan khusus PAS

atau *periodic acid Schiff*, *mallory*, *masson's trichrome* dan lain-lain (Setiawan, 2016). Sebelum melakukan pewarnaan, jaringan yang telah melewati proses pematangan masih mengandung parafin, sedangkan proses pewarnaan adalah proses yang melibatkan air, sehingga sebelum proses pewarnaan parafin harus dilunturkan terlebih dahulu. Proses pelunturan parafin dari jaringan disebut deparafinisasi. Selanjutnya adalah proses penarikan air yang disebut rehidrasi (Orno dkk, 2022).

1) *Hematoxylin eosin* (HE)

Pewarnaan rutin yang sering digunakan untuk histopatologi adalah pewarnaan *hematoxylin eosin*. *hematoxylin* diekstrak dari kayu bulat amerika yaitu *hematoxylo campechianum*. *Hematoxylin* berfungsi untuk memberikan warna biru (basofilik) pada inti sel. *Eosin* adalah pewarna sintesis yang termasuk golongan *xanthenes*. *Eosin* yang bersifat asam berfungsi untuk memberikan warna merah muda pada sitoplasma sel dan jaringan penyambung (Juliati, 2017).

Prinsip pewarnaan menggunakan reagen *hematoxylin eosin* yaitu kromatin dalam inti akan mengikat warna bersifat basa (*hematoxylin*) dan protein sitoplasma akan mengikat warna bersifat asam (*eosin*) sehingga sel-sel akan berwarna merah muda dengan inti sel berwarna biru keunguan (Rahmadani, 2022).

Pewarnaan ini memiliki dua fungsi, salah satu manfaatnya adalah kemampuan untuk mengidektifikasi bagian tertentu dari jaringan dengan memulasnya secara diferensial. Kegunaan kedua adalah kemampuan untuk mewarnai dengan gradasi warna yang berbeda yang menghasilkan kedalaman warna yang berbeda (Rasyid, 2021).

Dalam proses pewarnaan, setelah diwarnai maka ada tahapan yaitu diferensiasi. Dimana tahap ini adalah proses pemberian atau penggunaan larutan asam untuk menghilangkan pewarnaan yang berlebih atau disebut dekoloriasi. Larutan yang sering digunakan adalah asam alkohol 1%. Selain itu ada juga tahap *bluing*. Dimana

tahap ini dipakai untuk mengubah pewarnaan inti dari ungu kemerahan menjadi biru atau ungu jernih (Orno dkk, 2022).

Tabel 3. Tahap Pewarnaan Jaringan

No.	Tahap	Zat	Waktu
1	Deparafinisasi (menghilangkan parafin)	Xilol 1 Xilol 2	10 menit 15 menit
2	Rehidrasi (memasukkan air)	Alkohol dengan penurunan konsentrasi Aquades (Absolut-70%) Etanol Absolut-Alkohol 95%-Alkohol 70%-Aquades	3 menit
3	Pewarnaan hematoksilin (dilakukan penundaan dengan tiga variasi waktu berbeda)	Hematoxylin Alum	10 menit, 20 menit, 30 menit
4	Pencucian	Pencucian pada air mengalir sampai berwarna biru	5 menit
5	Diferensiasi (proses dekolorisasi pada sitoplasma)	Asam alkohol 1% (1% HCl dalam 70% Alkohol) dalam waktu 5-10 detik	3 celup
6	Pencucian	Air mengalir	1 menit
7	Blueing (proses memperjelas warna biru pada inti sel) diikuti dengan pencucian dengan air mengalir	Lithium Carbonat	3 celup
8	Pewarnaan Eosin (dilakukan penundaan dengan tiga variasi waktu berbeda)	Eosin 1% dalam waktu 10 menit	10 menit, 20 menit, 30 menit

9	Dehidrasi (menghilangkan air)	Alkohol dengan kenaikan konsentrasi (70% - Absolut) Alkohol 70% - alkohol 95% - alkohol 95% - Etanol absolute – Etanol Absolut	1–3 menit
10	Clearing	Xilol Xilol 1 – Xilol 2	3-5 menit
11	Mounting (proses penutupan jaringan diantara cover glass dengan objek glass oleh entelan)	Entelan	

Sumber : Orno dkk (2022)

2) PAS (*periodic acid schiff*)

Metode pewarnaan histokimia khusus yang digunakan untuk mendeteksi adanya karbohidrat polisakarida, musin netral dan glikoprotein lain di dalam jaringan merupakan metode PAS atau *periodic acid schiff*. Glikogen adalah salah satu polisakarida yang ditemukan pada manusia yang dapat dievaluasi dengan teknik histokimia (Yona dkk, 2022). Glikogen berwarna merah tua/magenta, sel goblet atau bahan mucin berwarna merah magenta, brush border di tubulus berwarna positif/merah muda, inti sel biru, sitoplasma merah, sabut retikuler dan elastic magenta (Mochtar, 2019).

3) *Masson's trichrome*

Masson's trichrome disebut juga teknik pewarnaan jaringan ikat karena digunakan untuk menunjukkan elemen pendukung jaringan ikat terutama kolagen. Berdasarkan namanya, teknik pewarnaan ini menghasilkan tiga warna yaitu inti dan struktur *basophilic* lainnya berwarna biru, kolagen berwarna hijau atau biru tergantung pada varian dari teknik ini digunakan dan sitoplasma, otot, eritrosit serta keratin diwarnai dengan warna merah cerah (Andriani dkk, 2017).

Setelah proses pewarnaan selesai dilakukan, preparat ditetesi dengan entellan lalu ditutupi dengan deck glass, dimana proses ini disebut *mounting*. Perekatan dilakukan agar preparat tahan lama dan tidak tergores. Pada preparat yang telah diberi cover, ditempatkan label yang berisi nama pasien dan nomor rekam medik. Pelabelan atau *labelling* sangat penting dilakukan agar tidak tertukar dengan pasien lainnya (Simanullang, 2022)