

Praktik Biomedik 506 – Keterampilan Dasar Laboratorium
Laporan Praktikum Histoteknik
Kamis, 1 Desember 2011 dan Rabu, 14 Desember 2011
Oleh: S u k a i s i

Tujuan:

1. Memahami teknik membuat preparat histology jaringan dengan baik
2. Mampu melakukan *tissue processing* dengan tepat
3. Mampu melakukan pewarnaan (*staining*) HE dengan benar

Pendahuluan

Hampir semua jaringan tubuh manusia tidak memiliki warna. Agar dapat mengamati strukturnya sel dan jaringan harus diberi pewarnaan terlebih dahulu. Sebelum dapat diwarnai, jaringan-jaringan yang akan diamati akan menjalani serangkaian proses yang disebut *tissue processing*. Pemrosesan jaringan ini bertujuan mengawetkan, mencegah pembusukan, dan memudahkan jaringan dan sel karena memiliki sifat alamiah untuk mengikat zat warna. Rangkaian proses hingga jaringan dapat diamati ini disebut Histoteknik.

A. Pemrosesan Jaringan (*Tissue Processing*)

Jaringan yang akan diproses pada praktikum ini adalah ginjal mencit. Dalam kegiatan praktikum histology ini, karena keterbatasan waktu praktik maka dilakukan penyesuaian waktu.

Prosesnya meliputi:

1. **Dehidrasi**

Tujuan: menghilangkan air pada jaringan

- Aseton I selama 20 menit
- Aseton II selama 20 menit
- Aseton III selama 20 menit

2. **Clearing**

Tujuannya untuk menarik air pada jaringan sehingga jaringan jadi bening dan transparan, yaitu:

- Xylol I selama 30 menit
- Xylol II 30 selama menit

3. **Impregnating**

Tujuan: pengeluaran *clearing agent* dan menggantikan dengan cairan parapin. Jaringan direndam parapin dengan suhu 60 °C selama 10 menit.

4. **Blocking**

Jaringan diletakkan didasar cetakan kayu berbentuk huruf L (Leuckhart) yang sudah diisi parapin panas.

5. **Sectioning**

Jaringan yang sudah diblok diiris dengan alat Microtome dengan ketebalan 5 µm

6. **Mounting**

Jaringan yang sudah diiris (pita parapin) dimasukkan pada waterbath 55 °C agar mengembang lalu pita parapin ditempelkan pada objek gelas yang sudah disiapkan.

7. **Drying**

Pita parapin yang sudah melekat pada objek dikeringkan sebentar (seharusnya diletakkan pada *hotplate* 45 °C)

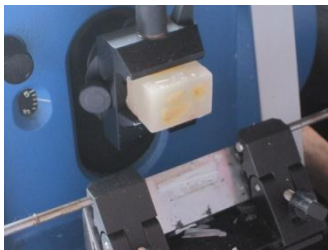
B. Pewarnaan HE (Hematoxylin-eosin)

Proses selanjutnya, jaringan direndam:

- Xylol I selama 2 menit
- Xylol II selama 2 menit
- Alkohol 100% I selama 2 menit
- Alkohol 100% II selama 2 menit
- Alkohol 96% I selama 2 menit
- Alkohol 96% II selama 2 menit
- Alkohol 90% I selama 2 menit
- Alkohol 90% II selama 2 menit
- Alkohol 80% I selama 2 menit
- Alkohol 80% II selama 2 menit
- Alkohol 70% I selama 2 menit

- Alkohol 70% II selama 2 menit
- Air kran/Akuades selama 2 menit
- *Haematoxylin* Mayer selama 7 menit
- Air kran mengalir selama 3 menit
- Eosin selama 2 menit
- Alkohol 70% I 10 celup
- Alkohol 70% II 10 celup
- Alkohol 80% I 10 celup
- Alkohol 80% II 10 celup
- Alkohol 90% I 10 celup
- Alkohol 90% II 10 celup
- Alkohol 96% I 10 celup
- Alkohol 96% II 10 celup
- Alkohol 100% I 10 celup
- Alkohol 100% II 10 celup
- Xylol I selama 2 menit
- Xylol II selama 2 menit
- Merekatkan pada *cover glass*

Jaringan siap dilihat pada Mikroskop



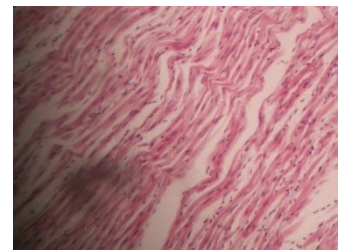
Gambar 1



Gambar 2



Gambar 3



Gambar 4

Keterangan Gambar:

Gambar 1. Proses *sectioning* (pengirisan pada microtome)

Gambar 2. Pita parafin yang sudah mengembang dirtempelkan pada objek glass

Gambar 3. Serangkaian proses pewarnaan

Gambar 4. Sel dari jantung mencit dilihat pada mikroskop

Hal Penting Saat Histologi:

1. Pada saat awal *tissue processing*, yaitu dehidrasi. Sebagian besar volume setiap sel adalah air. Air akan memberikan konsistensi yang lunak pada jaringan sehingga keberadaan air akan menyulitkan saat pengirisan jaringan. Padahal saat pengirisan dengan makrotome, jaringan harus cukup keras. Penggunaan aceton yang sudah berulang akan mengurangi fungsi aceton.
2. Pada saat pewarnaan He (*staining processing*). HE merupakan teknik pewarnaan yang berdasarkan asam basa. Larutan hemotoxylin bersifat basa, larutan eosin bersifat asam. Sifat basa pada larutan hematoxylin akan memungkinkan hematoxylin berikatan terutama dengan komponen sel yang bersifat asam. Hematoxylin sendiri bukanlah zat warna yang benar-benar bersifat basa. Warna biru yang ditimbulkan hematoxylin banyak ditemukan pada nucleus.

Kelemahan Histoteknik Pada Biomedik:

1. Praktikum sediaan histoteknik kelihatan sederhana namun penting dalam hal teknik dan waktu yang tepat. Selama praktik diharapkan penyiapan dari awal dilakukan oleh mahasiswa sendiri, misalnya menyiapkan aceton pada tempatnya, bukan yang sudah disediakan laboran. Mengingat banyak penelitian biomedik yang menggunakan histoteknik.
2. Pembacaan pada mikroskop. Memang selama praktik mahasiswa ditunjukkan beberapa sel seperti sel pada ginjal, otak, jantung, uterus. Namun sebaiknya juga mahasiswa mendapatkan pengalaman melihat, misalnya, jaringan otot pada ginjal normal dan yang mengalami polutan.