

Laporan Praktikum Keterampilan Dasar Laboratorium

Topik : Histoteknik Dasar

Nama Praktikan : Kirana Patrolina Sihombing

NIM : 147008001

Hari/Tanggal Praktikum : Selasa/31 Maret 2015

Tujuan Praktikum :

1. Agar dapat memahami dan mampu melaksanakan teknik-teknik pembuatan sediaan sampel/preparat dalam histologi, termasuk pengamatan dengan menggunakan mikroskop.
2. Agar dapat memahami dan mampu melaksanakan pewarnaan dengan hematoksin eosin/HE.
3. Agar dapat memahami dan mampu menganalisa ataupun membedakan bagian-bagian dari jaringan yang terwarnai oleh perwarnaan HE.

Pendahuluan :

Histoteknik adalah metode membuat sajian dari specimen tertentu melalui suatu rangkaian proses hingga menjadi preparat histology yang baik dan siap untuk dianalisis. Specimen dapat berasal dari manusia atau hewan. Preparat yang baik dapat digunakan untuk mempelajari peran sel/jaringan dalam keadaan fisiologis atau patologis, mempelajari perubahan sel/jaringan akibat suatu perlakuan pada penelitian, dan alat bantu diagnostic penyakit. Preparat yang baik dapat memberikan hasil yang akurat untuk menjawab pertanyaan riset. Untuk mencapai tujuan tersebut, preparat harus dapat memberikan gambaran tentang bentuk, besar, dan susunan sebagaimana sel/jaringan tersebut hidup.

Prinsip pewarnaan dengan HE adalah : inti yang bersifat asam akan menarik zat/larutan yang bersifat basa sehingga warna akan menjadi biru, sedangkan sitoplasma yang bersifat basa akan menarik zat/larutan yang bersifat asam sehingga warna menjadi merah.

Alat dan bahan :

Jaringan mencit (pancreas, hepar, ginjal) dalam larutan formalin 10%	Albumin + gliserin	Incubator
Larutan Xylol	Paraffin cair	Pisau
Larutan alcohol 70%, 80%, 90%, dan 100%	Microtom	Pinset
Pewarna Eosin	Object glass	Potongan kayu bentuk L
Pewarna hematoksin	Mikroskop	Cover glass
Balsam kanada	Water bath	Lembaran kayu/logam

Tahapan :

1. Fiksasi jaringan

Jaringan yang telah diambil difiksasi dengan cara direndam dalam larutan formalin 10% selama 24 jam. Kemudian dilakukan pemotongan pada jaringan maksimal ukuran 1x 1 cm.

2. Dehidrasi

Jaringan yang telah diletakkan dalam casset dimasukkan dalam larutan alcohol secara bertahap yaitu : 70%, 80%, 90%, 95% dan 100% masing-masing selama 1 hari. Tujuan : mengeluarkan air dari jaringan agar dapat dibloking dengan paraffin

3. Pembeningan/Clearing

Jaringan dikeluarkan dari alcohol 100% dan dipindahkan kedalam larutan xylol selama 2 x 30 menit. Tujuan untuk mengeluarkan air sehingga jaringan bening dan transparan.

4. Pembenaman / Embedding

Jaringan dimasukkan ke dalam paraffin cair suhu 56-60 oC selama 3 x 1 jam dalam incubator (paraffin ke-1 : 1 jam, paraffin ke-2 : 1 jam, dan paraffin ke-3 : 1 jam). Tujuan untuk memasukkan paraffin ke dalam bagian-bagian sel dengan baik dan memastikan Xylol keluar seluruhnya.

5. Pengecoran/Blocking ; Casting

Bahan jaringan dimasukkan ke dalam alat pencetak berupa potongan besi atau kayu berbentuk L. dua buah potongan besi/kayu disusun di atas lembaran logam/kayu hingga rapat dan membentuk ruang seperti kubus. Paraffin cair dituang ke dalam cetakan yang berisi jaringan. Dilakukan labeling identitas jaringan pada blok paraffin. Blok paraffin dibiarkan sampai mengeras dan blok siap untuk dipotong.

6. Pemotongan/sectioning

Bahan jaringan yang ada dalam blok paraffin dipotong menggunakan microtom dengan ketebalan 5-7 μm . Jarak preparat diatur menggunakan holder preparat. Rotor pada mikrotom digerakkan secara ritmis. Potongan-potongan paraffin awal yang tanpa jaringan dibuang. Setelah potongan mengenai bahan jaringan dengan sempurna, maka blok preparat dipotong secara hati-hati dan hasil pengirisan yang bagus (ada bahan jaringan di dalamnya) dimasukkan ke dalam water bath pada suhu 50 oC. Perendaman ke dalam waterbath berguna untuk mengembangkan paraffin yang terlipat. Setelah pita paraffin terbentang dengan baik (tidak berlipat/berkerut) pita paraffin diletakkan pada object glass yang sudah diolesi albumin ditambah gliserin. Slide dikeringkan selama 1 hari di tempat terbuka.

7. Pewarnaan/Staining

Proses pewarnaan harus melalui tahap-tahap sebagai berikut:

- Deparfinisasi dengan xylol : tahap I selama 2 menit; tahap II selama 2 menit, atau satu kali selama 5 menit. Tujuannya untuk mengeluarkan sisa paraffin.
- Rehidrasi dengan merendam alcohol 100% selama 2 menit; alcohol 90% selama 90%; alcohol 80% selama 2 menit; alcohol 70% selama 2 menit, dan air mengalir 3 menit
- Object glass direndam dalam giemsa selama 5 menit karena tidak adanya hematoksilin, kemudian dicuci pada air mengalir selama 15-20 menit
- Object glass direndam dalam eosin selama 3 menit, kemudian dicuci pada air mengalir selama 5 menit
- Dehidrasi dengan alcohol 70% dengan 10x dicelup; alcohol 80% dengan 10x dicelup, ; alcohol 90% dengan 10x dicelup ; alcohol 100% dengan 10x dicelup.
- Direndam kembali dengan xylol : I selama 2 menit; tahap II selama 2 menit
- Preparat ditetesi dengan balsam kanada kemudian ditutup dengan cover glass, diusahakan agar tidak terbentuk gelembung, dan diberi label tentang informasi sampel jaringan. Selanjutnya sediaan siap dianalisis dengan menggunakan mikroskop.

Hasil

Pada pengamatan di mikroskop terlihat inti sel berwarna merah. Seharusnya berwarna biru.

Pada pengamatan di mikroskop sitoplasma berwarna merah. Hal ini karena eosin mewarnai sitoplasma menjadi warna merah muda.

Pembahasan

Warna merah yang didapati pada inti sel kemungkinan adalah kurang lama direndam dalam pewarnaan giemsa. Giemsa bersifat basa yaitu dengan pH 10. Tinta Giemsa tersusun atas campuran pewarna eosin, methylene blue, dan methylene azure. Campuran methylene azure dan methylene blue akan membentuk eosinat yang membuat hasil pewarnaan menjadi lebih stabil. Hal ini disebabkan giemsa merupakan campuran dari biru metilena dan eosin. Kedua zat warna ini larut dalam air namun jika disatukan akan membentuk endapan berwarna gelap yang larut dalam methanol.

Kesimpulan

Pada pewarnaan HE, dengan mengganti Hematoksilin dengan Giemsa kurang memberikan hasil pewarnaan inti sel yang baik sehingga belum layak dipergunakan sebagai sediaan preparat analisis dalam histologi.

Kelemahan Pewarnaan HE : sulitnya memastikan tahap demi tahap apakah sudah sesuai dengan yang diharapkan sehingga saat tahap akhir dapat dipastikan kalau hasil yang kita dapatkan sudah baik dan layak untuk dianalisa. Jika tidak, maka harus mengulang lagi dari tahap awal.

Saran

- Sebaiknya alat dan bahan praktikum ini ditambah, sehingga praktikan betul-betul dapat melakukan sendiri semua tahapan dalam praktikum ini dan bukan sekedar demonstrasi.
- Saat praktek menggunakan microtom, agar disediakan pisau yang benar-benar tajam sehingga dapat diperoleh hasil potong yang baik dan sesuai.

===TERIMA KASIH ===