

LAPORAN PRAKTIKUM 1

HISTOTEKNIK

Jumat, 14 september 2012

14.00 s/d 17.00

NAMA : MARIA LESTARI

NIM : 127008012

TUJUAN :

1. Melihat teknik-teknik Histologi, termasuk persiapan sampel dan penggunaan mikroskop
2. Latihan membuat preparat histologi jaringan masing-masing yang dapat dianalisa lanjut dengan mikroskop

PENDAHULUAN :

Histoteknik adalah metoda membuat sajian dari spesimen tertentu melalui suatu rangkaian proses hingga menjadi preparat histologi yang baik dan siap untuk dianalisis. Spesimen dapat berasal dari manusia dan 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 diagnosis 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 itu hidup

KOMPONEN HISTOTEKNIK

A. LARUTAN PENGAWET

Pengawetan (fiksasi) adalah stabilisasi unsur penting pada jaringan sehingga unsur tersebut tidak terlarut, berpindah, atau terdistorsi selama prosedur selanjutnya. Fiksasi yang benar adalah dasar dari semua preparat yang baik. Efek fiksasi terhadap jaringan

yang diproses adalah menghambat proses pembusukan dan *autolysis*, pengawetan jaringan, pengerasan jaringan, pemedatan koloid, diferensiasi optik, dan berpengaruh terhadap pewarnaan. Sejumlah faktor akan mempengaruhi proses pengawetan yaitu diperlukan, penetrasi, volume pengawet, konsentrasi, interval waktu, suhu, dan jenis larutan pengawet.

B. PROSES PENGAWETAN JARINGAN

Cara melakukan pengawetan jaringan ada 2 macam, yaitu supravital/intravital atau merendam dalam larutan pengawet. Merendam dalam larutan pengawet adalah yang paling sederhana dan sering dilakukan.

C. PEMROSESAN JARINGAN

Setelah jaringan diawetkan, jaringan harus diproses menjadi bentuk yang dapat diiris dengan mikrotom. Biasanya pengirisan dikerjakan dengan parafin (suatu jenis lilin). Langkah utama pemrosesan jaringan adalah dehidrasi dan pembeningan. Jaringan tertentu memiliki struktur yang berbeda dengan kebanyakan jaringan lainnya. Jaringan yang mengandung kalsium (tulang) atau jaringan yang keras (kulit) akan menjalani proses tertentu sebelum proses dehidrasi.

Adapun pemrosesan jaringan terdiri atas:

1. **Fiksasi;** Organ sediaan dicuci dengan larutan NaCl 0,9%, lalu di fiksasi dengan menggunakan larutan formalin selama 1 malam.
2. **Pencucian (*washing*);** setelah ginjal difiksasi, dilakukan pencucian dengan menggunakan alkohol 70% yang berguna untuk menghilangkan larutan fiksasi dari jaringan.
3. **Dehidrasi;** langkah ini dilakukan setelah proses pencucian selesai, dengan menggunakan alkohol bertingkat dimulai dari alkohol 70%, 80%, 96%. Botol yang berisi organ tersebut digoyang-goyangkan terus menerus (shaker) dengan menggunakan tangan agar proses dehidrasinya lebih cepat.
4. **Penjernihan (*clearing*);** penjernihan dilakukan dengan menggunakan xylol 1, dan xylol 2
5. **Infiltrasi;** proses infiltrasi dilakukan di dalam oven dengan suhu 56°C, menggunakan perbandingan parafin 1, 2, dan 3 masing-masing selama \pm 2 menit.

Proses ini dimaksudkan untuk menghindari perubahan lingkungan yang sangat mendadak terhadap jaringan tersebut.

6. **Penanaman (embedding);** setelah proses infiltrasi, selanjutnya dilakukan proses penanaman dalam prafin, sebelum melangkah ke proses ini yang harus disiapkan adalah mencairkan parafin, setelah semuanya telah siap, proses embedding dimulai dengan menuangkan parafin yang telah cair kedalam cetakan secukupnya , selanjutnya ambil organ tersebut dengan cepat dari parafin murni dengan menggunakan pinset kecil lalu dimasukkan kedalam cetakan yang telah berisi parafin cair tadi, biarkan hingga parafin menjadi keras sampai terbentuk blok-blok parafin.
7. **Penyayatan (section);** penyayatan atau pemotongan dilakukan dengan memotong blok parafin yang telah ditempelkan pada holder kemudian dipasang pada mikrotom, lalu mikrotom diputar sampai blok parafin yang berisi organ tadi terpotong menjadi pita-pita parafin dengan ukuran ketebalan 6-10 μm .
8. **Penempelan (affixing);** penempelan dilakukan dengan mengambil beberapa pita paraffin yang telah terpotong dengan menggunakan skapel, kemudian dimasukkan ke dalam *water bath* (40-50 $^{\circ}\text{C}$) \pm 2 menit, hal ini bertujuan agar jaringan tidak berlipat, lalu di tempelkan pada objek glass yang telah diolesi albumin secukupnya
9. Dimasukkan kembali ke dalam xylol 1 dan xylol 2 hal ini bertujuan untuk meghilangkan paraffin yang masih ada pada jaringan
10. **Redehidrasi;** langkah ini dilakukan dengan menggunakan alkohol dimulai dari alkohol absolute hingga 70 %
11. **Pewarnaan (staining);** pewarnaan sediaan organ, diwarnai dengan menggunakan pewarna Hematoxilin Eosin. Tahapan pewarnaannya adalah sebagai berikut:
Pewarnaan; dilakukan dengan cara objek glass yang telah berisi irisan jaringan tadi dimasukkan ke dalam larutan pewarna *Hematoxilin Erlich* selama 3-7 menit, dicuci dengan aquadest \pm 3 menit , dimasukkan ke dalam larutan pewarna *eosin* 0,5% dalam alkohol 70% selama 1-3 menit, preparat dimasukkan berturut-turut ke dalam alkohol 70%, 80%, 90%, 96%, dan alkohol absolut, dikeringkan dengan kertas pengisap selanjutnya, preparat dimasukkan ke xylol 1 dan xylol 2
10. **Penutupan (mounting);** dari xylol jaringan kemudian ditutup dengan cover glass setelah ditetesi dengan Canada balsam terlebih dahulu.

11. Diberi label dan di amati di bawah mikroskop.

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Adapun kesimpulan yang diperoleh melalui praktikum adalah sebagai berikut:

- Melalui praktikum kita dapat mengetahui teknik pembuatan sedian preparat secara manual dan melakukan pengamatan langsung dibawah mikroskop
- Melalui praktikum kita dapat mengetahui pembuatan preparat histologi yang meliputi

Fiksasi, washing, dehidrasi, clearing, embedding (infiltrasi), section (cutting), affising, redehidrasi, staining, mounting, microscoping (pengamatan)

B. Saran

Adapun saran yang dapat disampaikan adalah sebagai berikut :

- Sebaiknya pada saat proses penghilangan parafin di dalam waterbath setelah proses pemotongan (*cutting*) dilakukan dengan baik agar jaringan sediaan organ tidak rusak
- Sebaiknya proses pewarnaan dilakukan dengan teliti agar hasil gambaran mikroskopis dapat dibaca secara tepat dan jelas.