

PRAKTIKUM HISTOTEKNIK

- Tujuan:**
- Melihat pada demo teknik-teknik Histologi, termasuk persiapan sampel dan penggunaan mikroskop
 - 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 tersebut hidup.

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, pemadatan koloid, diferensiasi optik, dan berpengaruh terhadap pewarnaan. Sejumlah faktor akan mempengaruhi proses pengawetan yaitu dapur, penetrasi, volume pengawet, konsentrasi, interval waktu, suhu, dan jenis larutan pengawet.

Ada 5 kelompok utama bahan pengawet yang dikelompokkan menurut mekanisme kerja, yaitu *aldehydes*, *mercurials*, *alcohols*, *oxidizing agents*, dan *picrates*. Larutan formalin adalah golongan *aldehydes* dan merupakan larutan fiksasi yang paling sering digunakan. Larutan ini akan mengawetkan struktur halus (*fine structures*), fosfolipida, dan beberapa enzim dengan sangat baik.

Formula yang sering digunakan adalah *Neutral Buffered Formalin*

Formalin	10 ml
<i>Acid sodium phosphate monohydrate</i>	0,40 gr
<i>Anhydrous disodium phosphate</i>	0,65 gr
Akuades	ad 100 ml

Larutan pengawet lainnya yang sering digunakan adalah larutan Bouin. Larutan ini mengandung larutan asam pikrat jenuh. Formula larutan Bouin adalah:

Larutan asam pikrat jenuh	75 ml
Formalin (40% formaldehida).....	25 ml
Bila akan digunakan, tambahkan " asam asetat glasial"	5 ml

Mengawetkan 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.

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 pembenangan.

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.

Dehidrasi (*Dehydration*)

Dehidrasi adalah proses pengeluaran air dari jaringan agar jaringan tersebut dapat diisi oleh parafin sehingga jaringan dapat diiris tipis. Cairan dehidrasi (dehidran) dapat berupa alkohol dengan kadar yang meningkat, metanol, sukrosa, dan aseton. Alkohol dan aseton adalah yang paling sering digunakan.

- Alkohol: Alkohol 70%, 80%, 90%, masing-masing 1 hari; alkohol 95% 2 hari (2x ganti); alkohol 100 % 2 hari (2x ganti).
- Aseton: 3 x 20 menit.