

LAPORAN PRAKTIUM
PRAKTIKUM HISTOTEKNIK

Nama : Islah Wahyuni (147008024)

Tanggal Praktikum : 31 Maret 2015

Tujuan Praktikum :

- i) Melihat pada demo teknik-teknik, histologi, termasuk persiapan sampel dan penggunaan mikroskop
- ii) Latihan membuat preparat histologi jaringan masing-masing yang dapat dianalisa lanjut dengan mikroskop

Prosedur kerja:

Dimulai dengan pemrosesan jaringan dilanjutkan dengan pewarnaan

1. **Fiksasi** (pengawetan jaringan)
Tujuan: Agar tidak berbau dan membusuk serta teksturnya tahan untuk pemrosesan selanjutnya, dengan menggunakan bahan kimia seperti formalin.
(tidak di dilakukan di lab karena sudah dilakukan pihak labor histologi berhubung butuh waktu yang lama)
2. **Dehidrasi** (menghilangkan air dari sel)
Tujuan: Supaya jaringan dapat diiris dengan ukuran 1-4 mikron agar jaringan bisa diberi parafin
Caranya: mencelupkan dalam alkohol secara bertingkat: mulai dari konsentrasi rendah ke tinggi (alkohol 70%, 80%, 90% → masing-masing 1 hari, dan alkohol 100% → 2 hari dan ganti tiap hari)
(tidak di dilakukan di lab karena sudah dilakukan pihak labor histologi berhubung butuh waktu yang lama)
3. **Clearing** (Mengeluarkan air supaya jaringan bening dan transparan)
Caranya: Direndam dalam larutan xylol selama 15-30 menit
(tidak di dilakukan di lab karena sudah dilakukan pihak labor histologi berhubung butuh waktu yang lama)
4. **Impregnating** (Memasukkan lilin/paravin dalam sel agar bisa di blok dan diiris)
Caranya: Pemberian/ embeding sel jaringan yang dengan ukuran 1x1 cm dalam paravin cair pada suhu 56-59° C dengan suhu oven 60° C
(tidak di dilakukan di lab karena sudah dilakukan pihak labor histologi berhubung butuh waktu yang lama)
5. **Blocking** (Mencetak lilin paravin cair kedalam cetakan yang tersedia dari kayu dan dinginkan)
Agar menjadi blok paravin (mudah diiris)
(tidak di dilakukan di lab karena sudah dilakukan pihak labor histologi berhubung butuh waktu yang lama)
6. **Sectioning** (pemotongan)
Tujuan: mendapatkan potongan jaringan dengan ukuran yang diinginkan (5-7 mikron) menggunakan mikrotom, pada pelaksanaannya dipotong 7 mikron, hasilnya dimasukkan ke **water bath** suhu 50° agar lembaran paravin yang mengandung jaringan melebar
7. **Mounting** (Merikatkan/meletakan hasil potongan ke objek glass)
Sebelumnya objek glass diolesi dengan albumin (gliserin + putih telur), celupkan objek glass ke dalam water bath dan usahakan lembaran paravin sel jaringan tepat di atas objek glass.
8. **Drying** (pengeringan objek glass)
Dibiarkan sampai kering (sebaiknya sampai 1 malam)

9. Pewarnaan HE

- ✓ Objek glass dicelupkan ke larutan xylol untuk menghilangkan sisa lilin (paravin) selama 5 menit
- ✓ Rehidrasi (mencelupkan objek glass ke dalam larutan alkohol bertingkat mulai dari yang tinggi ke rendah(100%, 90%, 80%, 70%)
- ✓ Celupkan ke *Haematoxylin* (di ganti dengan giemsa) selama 5 menit → warna biru → mewarnai nukleus
- ✓ Bilas dengan air mengalir untuk menghilangkan warna biru yang tidak dibutuhkan
- ✓ Celupkan ke larutan Eosin warna merah selama 2 menit → untuk mewarnai sitoplasma
- ✓ Bilas dengan air mengalir untuk menghilangkan warna merah yang tidak dibutuhkan
- ✓ Rehidrasi ulang menggunakan alkohol dari konsentrasi rendah ke tinggi (70%, 80%, 90%, 100%)
- ✓ Karena Haematoxylin di ganti dengan giemsa (giemsa sangat mudah larut dalam alkohol) maka rehidrasi dengan alkohol tidak dilakukan, maka pengeringan secara manual menggunakan tissue.
- ✓ Saat objek glass kering, ambil cover glass (entellan) dan ditetesi balsem kanada (montee) dan letakkan entellan itu diatas objek glass
- ✓ Pemberian label
→ Jaringan hepar xX
- ✓ Lihat hasilnya dibawah mikroskop dengan pembesaran 40 mikron

Hasil:

- Pewarnaan nukleus tidak jelas terlihat karena giemsa belum melekat pada nukleus, kurang lama direndam dalam giemsa.
- Sitoplasma terlihat jelas berwarna merah muda

Saran :

1. Perlu adanya persiapan sediaan bahan sesuai dengan prosedur yang seharusnya (seperti hematoxylin harus sudah tersedia sehingga tidak perlu digantikan dengan zat pewarnaan yang lain) sehingga mahasiswa memperoleh peragaan yang sesuai dengan yang seharusnya
2. Mahasiswa belum mendapatkan gambaran bagaimana proses penyediaan jaringan, dimulai dari cara memotong jaringan, membuat sediaan jaringan, blok paravin, dll. Untuk itu perlu penambahan waktu untuk praktikum agar lebih dimengerti
3. Perlu pendjelasan dalam penggunaan mikroskop dan bagaimana melihat dan menilai hasil dari lembaran paravin yang dilihat dibawah mikroskop tersebut, karena background mahasiswa yang praktikum bermacam-macam (dokter, perawat, bidan, MIPA, biologi)

Kelebihan histoteknik

1. Teknik ini mampu membantu kita memahami histologi jaringan sampel yang akan diperiksa dengan adanyanya sistem pewarnaan yang sudah valid dan teruji sehingga saat kita memeriksa sampel jaringan akan diketahui normal atau abnormalnya jaringan tersebut.
2. Pemrosesan jaringan yang ada dapat tahan lama, karena adanya pengawetan, sehingga dapat dilakukan berulang kali apabila hasil pemeriksaan pertama kurang jelas atau kurang memperlihatkan hasil yang diharapkan.

Kekurangan histoteknik

1. Teknik ini memerlukan waktu pemrosesan dan pemeriksaan yang lama bisa berhari-hari, sehingga diperlukan ketelitian yang tinggi dalam bekerja
2. Dan teknik ini memerlukan biaya yang tinggi dan memerlukan seorang laboran yang cakap dan mahir dalam mengerjakan dan menilai hasil sampel jaringan yang akan kita periksa.