

Laporan Praktikum 4

PRAKTIKUM HISTOTEHNIK

NAMA : SUNARTI

NIM :147008015

HARI/ TGL: SELASA, 31 MARET 2015

Tujuan Praktikum:

1. Latihan tehnik-tehnik Histologi, persiapan sampel dan penggunaan Mikroskop
2. Latihan Membuat Preparat Histologi jaringan masing-masing yang dapat dianalisa lanjut dengan mikroskop

A. Pengertian

- Histotehnik adalah: Metode membuat preparat Histologi dari specimen tertentu melalui beberapa rangkaian proses hingga siap untuk dianalisa.

B. Langkah-Langkah Pemrosesan Jaringan

1. Dehidrasi (*Dehydration*)

Proses Dehidrasi dilakukan bertujuan untuk mengeluarkan air dari sel atau jaringan agar mudah dimasukan lilin atau Parafin

Caranya: Dengan Mencelupkan alkohol bertingkat mulai terendah ke tinggi yaitu:

- Alkohol 70% : 1 Hari, Alkohol 80% : 1 Hari, Alkohol 90 %: 1 Hari , Alkohol 95%: 2 Hari (2x ganti) dan Alkohol 100%: 2 Hari (2x ganti)

2. Pembeningan (*Clearing*)

Proses pembeningan dilakukan untuk menarik air dari sel atau jaringan agar jaringan bening dan transparan.

Caranya: Dengan memasukkan kedalam Kom yang berisi Xylol selama 15- 30 Menit

3. Pembenaman (*Embedding*)

Pembenaman dilakukan bertujuan untuk mengeluarkan *Clearing agent* (Xylol) dari jaringan agar dapat digantikan dengan parafin . Pembenaman dilakukan di oven dengan suhu 60 ° C dan Suhu Parafin 56-59 ° C. pembenaman dilakukan bertingkat selama 3x. Com baris I selama 1 jam, com baris 2 selama 1 jam dan com baris 3 selama 1 jam.

Pembenaman secara bertingkat bertujuan agar clearing agent dapat hilang pada com 3 dan digantikan dengan parafin.

4. Pengecoran (*Blocking*)

Blocking dilakukan dengan cara mencetak parafin berisi jaringan yang dikeluarkan dari oven dengan pencetakan dari kayu yang sudah disediakan hingga membentuk petak kecil kemudian didiamkan selama $\pm$ 3 Jam agar paraffin benar-benar mengeras. Bertujuan untuk menanamkan jaringan di block paraffin agar mudah untuk dilakukan sectioning

5. Mengiris (*Sectioning*)

Sectioning dilakukan bertujuan untuk mengiris Jaringan yang sudah diparafin menggunakan Microtome dengan terlebih dahulu mengatur ketebalan jaringan yang akan diiris 5-7 μ dan meletakkan preparat ke Holder Microtome kearah pisau sedekat mungkin Kemudian putar rotor pada microtome searah dengan jarum jam Maka pita paraffin yang berisi jaringan akan terpotong selanjutnya pegang irisan dengan sudip atau pisau agar dapat dipindahkan ke waterbath

6. Mounting

Mounting merupakan proses meletakkan jaringan yg sudah diiris dalam waterbath dengan suhu 50°C dengan tujuan supaya jaringan dapat melebar dan tidak menggulung

7. Drying

Drying merupakan Proses pengeringan dengan cara memindahkan hasil potongan dari waterbath dengan objek glass yang terlebih dahulu diolesi albumin atau gliserin. Lalu

keringkan jaringan dengan suhu ruangan selama 1 hari. Yang bertujuan untuk mengeringkan jaringan supaya jaringan tidak lembek

8. Pewarnaan

Pewarnaan dilakukan dengan tujuan untuk memberikan Warnah pada bagian sel. Hematoxylin untuk mewarnai inti sel sedangkan Eosin untuk mewarnai Sitoplasma.

Caranya:

- Deparafinisasi dengan xylol selama 5 menit (Xylol I 2 menit. Xylol II 2 Menit) dengan tujuan membuang sisa paraffin yang ada pada jaringan
- Rehidrasi mulai alkohol 100%, 90%, 80% dan 70% masing-masing 2 Menit
- Kemudian mencuci dengan air mengalir selama 3 menit
- Lalu Rendam (Incubasi) dalam Hematoxylin selama 2 menit lalu Cuci dengan air mengalir selama 15-20 Menit
- Rendam (Incubasi) dengan eosin selama 2 menit lalu bilas dengan air mengalir selama 15-20 Menit
- Dehidrasi dengan alkohol bertingkat 70%, 80%,90%,100% masing-Masing 2 menit
- Lalu Celupkan Xylol 2 x 2 menit (Xylol 1 selama 2 menit, Xylol II 2 Menit) dengan tujuan warnah pada jaringan lebih terang baik yang melekat di inti sel maupun di sitoplasma.
- Pada praktikum kali ini menggunakan Gimsa maka tidak perlu dicelupkan dalam alkohol bertingkat dan Xylol. Agar warnah tdk memudar atau hilang.
- Kemudia Jaringan yang ada diobjek glass yang sudah diwarnai dioles dengan balsem Kanada kemudian ditutup dengan Cover glass dan keringkan dengan suhu ruangan dengan tujuan jaringan tersebut awet serta dapat digunakan dalam jangka waktu yang lama.

9. Labeling

Merupakan proses pemberian label pada objek glass misalnya 01 Biomed Usus Jar. Usus,. Dengan tujuan agar preparat jaringan tidak tertukar. Kemudian selanjutnya jaringan siap untuk di amati dibawah mikroskop

C. Kekuatan dan Kelemahan

- Kekuatan

1. Pembuatan preparat dengan cara histoteknik menyebabkan jaringan tersebut dapat tahan lama (Awet) dan dapat digunakan dalam jangka waktu yang lama
2. Pembuatan preparat histoteknik tidak memerlukan banyak jaringan (Hanya membutuhkan Jaringan yang dibutuhkan saja) sementara pengamatannya dapat dilakukan untuk menganalisa banyak sel

- Kelemahan

1. Pembuatan Preparat dengan cara histoteknik memiliki langkah –langkah yang panjang sehingga memerlukan keahlian dan ketelitian
2. Pembuatan Preparat dengan cara histoteknik membutuhkan waktu yang lama sehingga praktikan harus sabar melakukannya

D. Saran

Diharapkan peralatan yang digunakan lengkap sesuai dengan jumlah mahasiswa sehingga mahasiswa terampil untuk melakukannya secara mandiri, Butuh waktu yang lama sehingga langkah- langkah pengerjaan dapat dilakukan semua, serta alat pemotong seperti pisau microtom supaya lebih tajam agar jaringan yang di sectioning tidak pecah.

