

LAPORAN PRAKTIKUM HISTOTEKNIK DASAR

Nama : Ayu Elvana
NIM : 127008013
Hari/Tanggal Praktikum : Sabtu/22 September 2012

Tujuan Praktikum :

1. Agar praktikan memahami dan mampu melaksanakan *Tissue Processing* yang dapat dianalisa lanjut dengan mikroskop
2. Agar praktikan mengetahui dan mampu melaksanakan pewarnaan HE

Pendahuluan :

Histoteknik adalah metoda atau cara/proses untuk membuat sajian histologi dari spesimen tertentu melalui suatu rangkaian proses hingga menjadi sajian yang siap untuk diamati atau dianalisa. Sajian histologi yang baik dapat digunakan untuk :

1. Bahan pengajaran dan praktikum mahasiswa, guna mempelajari bentuk dan struktur jaringan tubuh tertentu yang normal.
2. Riset, guna mempelajari perubahan jaringan dan organ tubuh hewan percobaan yang mendapat perlakuan tertentu atau mempelajari pertumbuhan dan perkembangan jaringan atau organ tubuh tertentu.
3. Membantu menegakkan diagnosa penyakit yang diderita oleh seorang pasien

Untuk mencapai ketiga tujuan tersebut sajian histologi yang dibuat harus dapat memberikan gambaran tentang bentuk dan besar serta susunan sel; inti sel dan sitoplasma; badan inklusi (glikogen, tetesan lemak, pigmen dsbnya); susunan serat jaringan ikat; otot dan lain sebagainya sesuai dengan gambaran jaringan tubuh tersebut dalam kondisi hidup.

Sajian yang baik dapat membantu mahasiswa memahami struktur histologi jaringan tubuh sesuai dengan kondisi yang sebenarnya pada waktu hidup.

Sajian yang baik juga akan memberikan hasil yang benar-benar shahih (valid/akurat) yang sangat dibutuhkan oleh para peneliti untuk menjawab permasalahan yang timbul. Di samping itu sajian yang baik juga diperlukan oleh klinikus untuk menunjang diagnosa penyakit yang diderita oleh pasien.

Sumber jaringan atau organ adalah Manusia dan hewan Jaringan dapat diambil dari hewan yang difiksasi dalam keadaan hidup (fiksasi supra/ intravital) atau hewan yang telah mati (fiksasi emersi/rendam).

Setelah jaringan atau organ tubuh yang akan dibuat sajian histologi diisolasi dari sumbernya, jaringan tubuh tersebut kemudian diproses hingga menjadi sajian histologi.

Rangkaian proses pembuatan sajian histologi terdiri atas : 1.Fiksasi (Fixation); 2.Dehidrasi (Dehydration); 3.Pembeningan (Clearing); 4.Pembenaman (Impregnasi/Embedding); 5.Pengecoran (Blocking); 6.Pemotongan jaringan (Sectioning); 7.Pewarnaan (Staining); 8.Perekatan (Mounting); 9.Pelabelan (Labelling).

Alat dan Bahan :

Alat	Bahan
1. Inkubator	1. Jaringan
2. Dua potongan besi berbentuk L (Leuckhart).	2. Larutan Formalin 10%
3. Lembaran logam	3. Larutan Alkohol 100%
4. Mikrotom	4. Larutan Alkohol 90 %
5. Water bath	5. Larutan Alkohol 80 %
6. Object glass	6. Larutan Alkohol 70 %
7. Cover glass	7. Larutan Xylol
8. Sengkelit	8. Paraffin cair
9. Label	9. Albumin
10. Mikroskop	10. Gliserin
	11. Sengkelit
	12. Pewarna Haematoxylin Mayer
	13. Air Kran mengalir
	14. Pewarna Eosin
	15. Balsam Canada

Prosedur Kerja :

1. Fiksasi Jaringan (*Fixation*).
Jaringan yang digunakan adalah organ kolon mencit. Jaringan difiksasi dengan cara direndam dalam larutan formalin 10% selama 24 jam, dengan tujuan untuk mempertahankan unsur penting dalam jaringan. Kemudian dilakukan pemotongan pada jaringan maksimal ukuran 1 x 1 cm.
2. Dehidrasi (*Dehydration*).
Jaringan diambil dari larutan formalin 10% dan dimasukkan ke dalam larutan alkohol 70%, 80%, 90% masing-masing selama 1 hari. Gunanya adalah mengeluarkan air dari dalam jaringan agar jaringan tersebut dapat diisi oleh parafin sehingga jaringan dapat diiris tipis menggunakan mikrotom.
3. Pembeningan (*Clearing*).
Tujuannya adalah mengeluarkan zat penarik air (dehidran) dan menggantinya dengan bahan kimia xylol yang dapat bercampur dengan dehidran maupun paraffin. Jaringan dimasukkan ke dalam larutan xylol selama 2 kali 30 menit (xylol I 30 menit, xylol II 30 menit).
4. Pembenaman (*Infiltration/Impregnation/Embedding*).
Tujuannya adalah mengeluarkan *clearing agent* dari jaringan dan menggantikannya dengan paraffin. Bahan (jaringan) dimasukkan ke dalam paraffin cair suhu 56-60 °C selama 3 x 1 jam dalam inkubator (paraffin I 1 jam, paraffin II 1 jam, paraffin III 1 jam).
5. Pengecoran (*Blocking/Casting*).

Bahan jaringan dimasukkan kedalam alat pencetak yaitu potongan besi berbentuk L (Leuckhart). Dua buah potongan besi disusun diatas lembaran logam hingga rapat dan membentuk ruang seperti kubus. Tuangkan sedikit parafin cair di bagian pinggir tempat pertemuan potongan besi agar tak bocor. Jaringan kemudian dimasukkan ke dalam ruangan kubus. Selanjutnya parafin dituangkan kedalam ruangan kubus tersebut. Hal yang harus dicegah adalah jangan sampai gelembung udara mengisi kedalam blok parafin tersebut. Simpan selama satu malam, selanjutnya siap untuk diiris.

6. Pemotongan Jaringan (*Sectioning*).

Kemudian bahan diiris menggunakan alat mikrotom dengan ketebalan 5-10 µm dan hasil pengirisan yang bagus dimasukkan ke dalam *water bath* pada suhu 50 ° C. Setelah pita paraffin terkembang dengan baik, tempelkan pita paraffin secara hati-hati ke *object glass* yang telah dilapisi dengan albumin + gliserin, keringkan ditempat terbuka, selanjutnya dilakukan proses pewarnaan.

7. Pewarnaan (*Staining*).

Proses pewarnaan melalui tahapan-tahapan sebagai berikut:

Object glass yang berisi jaringan dimasukkan kedalam larutan-larutan yang telah tersedia:

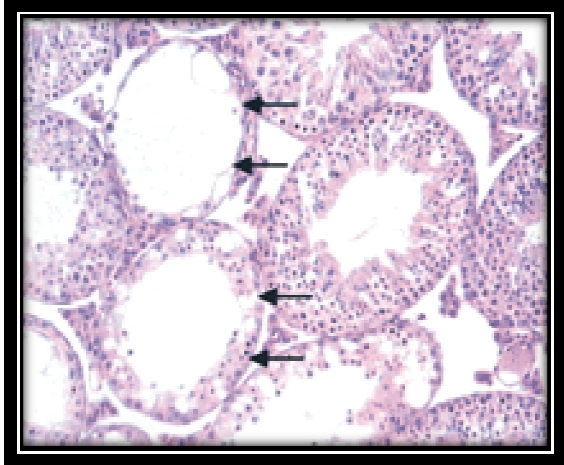
LARUTAN	LAMA PERENDAMAN
Xylol I	5 menit
Xylol II	5 menit
Alkohol 100% I	2 menit
Alkohol 100% II	2 menit
Alkohol 90 % I	2 menit
Alkohol 90 % II	2 menit
Alkohol 80 % I	2 menit
Alkohol 80 % II	2 menit
Alkohol 70 % I	2 menit
Alkohol 70 % II	2 menit
Haematoxylin Mayer	5 menit
Air Kran mengalir	5 menit
Eosin	3 menit
Air Kran mengalir	5 menit
Alkohol 70 % I	10 kali celup
Alkohol 70 % II	10 kali celup
Alkohol 80 % I	10 kali celup
Alkohol 80 % II	10 kali celup
Alkohol 90 % I	10 kali celup
Alkohol 90 % II	10 kali celup
Alkohol 100 % I	10 kali celup
Alkohol 100 % II	10 kali celup
Xylol I	2 menit
Xylol II	2 menit

8. Perekatan (*Mounting*).

Kemudian preparat ditempel dengan *cover glass* yang sudah ditetesi balsam Canada sebanyak 1 tetes. Usahakan tidak terbentuk *air bubble*.

9. Pelabelan (*Labelling*).

Beri keterangan di *object glass* mengenai jaringan apa yang menjadi sediaan. Selanjutnya sediaan dilihat menggunakan mikroskop.

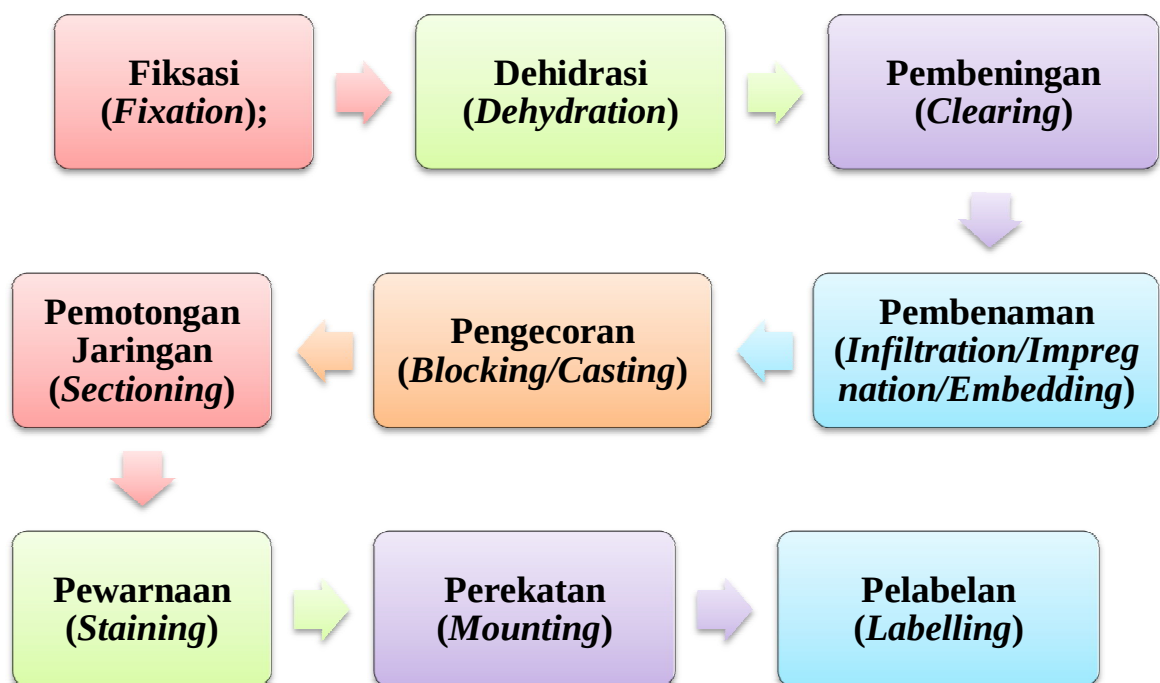


Preparat : Kolon Mencit

Perbesaran : 10 x 10

Kesimpulan :

1. Histoteknik dapat digunakan sebagai alat bantu untuk melihat keadaan fisiologis atau patologis dari jaringan, sehingga dapat diketahui perubahan sel atau jaringan akibat perlakuan pada penelitian.
2. Pewarnaan Hematoksilin Paling banyak digunakan/ rutin. HE dapat menunjukkan sebagian besar struktur histologi.
3. Tissue processing :



Saran:

Sebaiknya setiap praktikan melakukan sendiri serangkaian proses ini mulai dari fiksasi sampai dengan pelabelan agar lebih paham secara utuh bagaimana proses pembuatan awetan jaringan dan teknik pewarnaan tersebut.

Praktikan

Penilai

Ayu Elvana

dr. Esther R D Sitorus, Sp.PA

NIM. 127008013

NIP. 19711208 200312 2 001