

LAPORAN PRATIUM IV PRATIUM HISTOTEKNIK

NAMA : IKA WARAZTUTY
PRODI : MAGISTER ILMU BIOMEDIK
TGL PRATIUM : 31 MARET 2015

TUJUAN PRATIUM :

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

HASIL PRATIUM :

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. Spesimen ini dapat berupa jaringan dari manusia atau hewan. Sediaan yang baik dapat digunakan untuk mempelajari sel atau jaringan dalam keadaan fisiologis atau patologis, mempelajari perubahan sel atau jaringan akibat suatu perlakuan pada penelitian dan sebagai alat bantu mendiagnosa penyakit

Alat dan Bahan:

Jaringan, Larutan Formalin 10%, Larutan Alkohol 100%, 90%, 80%, 70%, Larutan Xylol, Paraffin cair, Inkubator, mikrotom, water bath, dua potongan besi berbentuk L (Leuckhart), Lembaran logam, object glass, cover glass, Albumin, gliserin, Sengkelit, Pewarna Haematoxylin Mayer, eosin, Air Kran mengalir, Balsam Canada, Label, Mikroskop.

Rangkaian Proses atau Cara Kerja:

1. Fiksasi Jaringan (*Fixation*).

Jaringan difiksasi dengan cara direndam dalam larutan formalin 10% selama 24 jam, dengan tujuan untuk mempertahankan unsur penting dalam jaringan. Pada demo jaringan yang telah difiksasi berupa ginjal usus, hepar. Jaringan tersebut dipotong dengan ukuran 1x1 cm untuk dapat diproses lebih lanjut

2. Dehidrasi (*Dehydration*).

Jaringan yang telah difiksasi 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 paraffin. Pada demo tahap ini telah dikerjakan sebelumnya

3. Pembersihan (*Clearing*).

Tujuannya adalah mengeluarkan air supaya jaringan bening dan transparan. Jaringan dimasukkan ke dalam larutan xylol selama 15-30 menit

4. Pembedaman (*Infiltration/Impregnation/Embedding*).

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. 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. Tunggu hingga paraffin mengeras ± 3jam

6. Pemotongan Jaringan (*Sectioning*).

Kemudian bahan diiris menggunakan alat mikrotom dengan ketebalan 5-7 µm dan hasil pengirisan yang bagus dimasukkan secara hati-hati ke dalam *water bath* pada suhu 50 ° C. Setelah pita paraffin berkembang dengan baik, tempelkan pita paraffin secara hati-hati ke *object glass* yang telah dilapisi dengan albumin + gliserin, keringkan ditempat terbuka selama 1 malam, selanjutnya siap dilakukan proses pewarnaan.

7. Pewarnaan (*Staining*).

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

- Xylol selama 5 menit : Tujuan untuk mengeluarkan sisa paraffin
- Hidrasi dengan alkohol dengan konsentrasi yang bertingkat dimulai dari konsentrasi 100%, 95%, 90%, 80%, 70% masing-masing selama 2x2 menit diikuti dengan air keran selama 3 menit
- Inkubasi/dibenamkan dalam larutan hematoksiliin selama beberapa menit, selanjutnya dicuci dengan air mengalir selama 15-20 menit (pada demo larutan hematoksilin diganti dengan pewarna Giemsa)
- Inkubasi/di benamkan dalam larutan eosin selama beberapa menit, selanjutnya dicuci dengan air mengalir selama 15-20 menit
- Hidrasi kembali dengan alkohol dengan konsentrasi bertingkat dimulai dengan konsentrasi 70%, 80%, 90%, 95%, 100% masing-masing selama 2 menit, selanjutnya diinkubasi dalam larutan xylol selama 2 menit (pada pewarnaan dengan menggunakan Giemsa tahap ini tidak perlu dilakukan karena akan melunturkan pewarna Giemsa)
- Objek glass yang berisi jaringan yang telah diwarnai dikeringkan

8. Perekatan (*Mounting*).

Kemudian preparat ditempel dengan cover glass yang sudah ditetesi balsam Canada sebanyak 1 tetes. Usahakan tidak terbentuk gelembung udara

9. Pelabelan (*Labelling*).

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

KEKUATAN TEKNIK HISTOTEKNIK

1. Dengan histoteknik dapat dihasilkan suatu sajian histologi dari preparat tertentu yang mana sajian tersebut dapat digunakan untuk bahan pengajaran dan praktikum mahasiswa, guna mempelajari bentuk dan struktur jaringan tubuh tertentu yang normal, untuk keperluan Riset, guna mempelajari perubahan jaringan dan organ tubuh hewan percobaan yang mendapat perlakuan tertentu atau mempelajari pertumbuhan dan perkembangan jaringan atau organ tubuh tertentu dan dapat membantu menegakkan diagnosa penyakit yang diderita oleh seorang pasien
2. Preparat jaringan yang telah dibloking dengan paraffin dapat disimpan dalam waktu yang lama dan dapat memudahkan jika sewaktu-waktu ingin melihat/memeriksa jaringan tersebut, sehingga pemeriksa dapat menyimpulkan kondisi dari sel jaringan tersebut.

KELEMAHAN TEKNIK HISTOTEKNIK DALAM PENELITIAN BIOMEDIK

1. Teknik Histoteknik ini membutuhkan ketrampilan, ketelitian dan kehati-hatian dalam proses pengerjaannya (pembuatan sediaan) sehingga apabila terdapat kesalahan pada satu langkah saja maka dapat mengakibatkan sediaan akan sulit nantinya untuk dianalisis
2. Proses pembuatan jaringan dengan teknik histoteknik membutuhkan waktu yang lama sehingga butuh kesabaran bagi pemeriksa dalam pembuatan jaringan sampai akhir pemeriksaanya dengan menggunakan mikroskop

SARAN

Sebaiknya untuk kegiatan praktikum histoteknik dasar, setiap praktikan melakukan sendiri serangkaian proses ini mulai dari fiksasi sampai dengan pelabelan. Untuk itu diperlukan penambahan waktu pratikum.