

Hari/tgl: Sabtu/ 22 September 2012

TISSUE PROCESSING

Pendahuluan

Histoteknik adalah metoda membuat sajian histologi dari spesimen tertentu melalui suatu rangkaian proses hingga menjadi sajian yang siap untuk dianalisis.

Sumber jaringan bisa dari hewan maupun manusia.

Rangkaian proses pembuatan sajian histologi, yaitu:

1. Fiksasi/pengawetan

Bahan yang digunakan: formalin 10%

Cara:

- a. potong jaringan yang mau difiksasi dengan ukuran maksimum 1 x 1 cm
- b. rendam dalam larutan formalin sampai benar-benar terendam
- c. volume larutan pengawet minimal 20 kali volume jaringan yang mau difiksasi
- d. diamkan selama 24 jam

2. Dehidrasi,

yaitu menghilangkan cairan dari dalam jaringan yang mau diperiksa, dengan cara merendamnya di dalam alkohol.

Bahan yang digunakan: - alkohol 70%

- alkohol 80%
- alkohol 90%
- alkohol 100% (absolut)

Cara:

- a. rendam jaringan dalam alkohol 70 % selama 12 jam
- b. rendam jaringan dalam alkohol 80 % selama 12 jam
- c. rendam jaringan dalam alkohol 90 % selama 12 jam
- d. rendam jaringan dalam alkohol 100 % selama 12 jam

3. Pembeningan (Clearing)

Fungsi:

- mengeluarkan/menarik alcohol
- mempersiapkan jaringan untuk pembedaman

Bahan yang digunakan: xylol

Cara:

- a. rendam jaringan dalam larutan xylol I selama 30 menit
- b. rendam jaringan dalam larutan xylol I selama 30 menit

4. Pembedaman (Impregnation/Ovening)

Yaitu memasukkan jaringan ke larutan parafin, dengan syarat semua jaringan harus terendam parafin.

Bahan yang digunakan: parafin yang dicairkan

Cara:

- a. rendam jaringan pada wadah I yang berisi parafin cair selama 1 jam
- b. rendam jaringan pada wadah II yang berisi parafin cair selama 1 jam
- c. rendam jaringan pada wadah III yang berisi parafin cair selama 1 jam

5. Pengecoran (Blocking)

Bahan dan alat:

- besi potongan berbentuk L
- paraffin cair

Cara:

- a. susun 2 buah potongan besi di atas lembaran logam sehingga membentuk ruang kubus
- b. tuangkan sedikit paraffin cair di bagian pinggir agar tidak bocor
- c. letakkan sisi jaringan yang mau diperiksa di bawah
- d. tuangkan parafin secukupnya agar menutupi jaringan seluruhnya
- e. diamkan selama 24 jam

6. Pemotongan jaringan (Sectioning)

Bahan dan alat:

- pisau mikrotom
- coated slides: albumin + gliserin
- object glass
- sengkelit
- waterbath berisi air hangat dengan suhu 45 - 50°C

Cara:

- ketebalan \pm 5 – 10 μm (disediakan kebutuhan)
- atur jarak preparat yang dipegang oleh holder kea rah pisau sedekat mungkin
- gerakan rotor (putaran) pada mikrotom secara ritmis
- buang pita-pita parafin awal yang tanpa jaringan
- setelah potongan mengenai jaringan, potong blok preparat secara hati-hati
- pindahkan secara hati-hati dengan sengkelit ke atas air di dalam waterbath yang diatur pada suhu 45 - 50°C
- oleskan campuran albumin dan gliserin pada object glass
- setelah pita paraffin berkembang dengan baik, tempelkan paraffin ke object glass dengan cara mencelupkan object glass ke dalam waterbath dan perlahan dekatkan ke pita paraffin lalu angkat. Pita paraffin akan langsung menempel pada object glass.
- Simpan object glass berisi potongan paraffin dan jaringan selama 1 hari sampai saatnya untuk diwarnai

7. Deparafinisasi

Yaitu menghilangkan / menarik paraffin.

Bahan yang digunakan: xylol

Cara:

- rendam object glass pada wadah xylol I selama 5 menit
- rendam object glass pada wadah xylol II selama 5 menit

8. Rehidrasi

Bahan yang digunakan :

- alkohol absolut
- alkohol 90%
- alkohol 80%
- alkohol 70%

Cara:

- celupkan object glass pada 2 wadah alkohol absolut masing-masing selama 2 menit
- celupkan object glass pada 2 wadah alkohol 90% masing-masing selama 2 menit
- celupkan object glass pada 2 wadah alkohol 80% masing-masing selama 2 menit
- celupkan object glass pada 2 wadah alkohol 70% masing-masing selama 2 menit

9. Pewarnaan (Staining)

Bahan yang digunakan: - larutan hematoxillin

- larutan eosin

Cara:

- rendam object glass dalam larutan hematoxillin selama 5 – 10 menit
- bersihkan sisa larutan hematoxillin dengan aliran aquades
- rendam object glass dalam larutan eosin selama 5 – 10 menit
- bersihkan sisa larutan eosin dengan aliran aquades

10. Dehidrasi

Bahan yang digunakan: - alkohol 70%

- alkohol 80%
- alkohol 90%
- alkohol 100% (absolut)

Cara:

- rendam jaringan dalam alkohol 70 % selama 2 menit, lakukan 2 kali dalam wadah berbeda
- rendam jaringan dalam alkohol 80 % selama 2 menit, lakukan 2 kali dalam wadah berbeda

- c. rendam jaringan dalam alkohol 90 % selama 2 menit, lakukan 2 kali dalam wadah berbeda
- d. rendam jaringan dalam alkohol 100 % selama 2 menit, lakukan 2 kali dalam wadah berbeda

11. Pembeningan

Bahan yang digunakan: xylol

Cara:

- a. Celupkan dalam larutan xylol I
- b. Celupkan dalam larutan xylol II

12. Mounting

Bahan yang digunakan: Canada balsam

Cara:

- a. Teteskan Canada balsam pada fiber glass
- b. tempelkan fiber glass ke object glass pada jaringan yang mau diperiksa
- c. tekan-tekan dengan pinset sampai rata dan tidak ada air buble

13. Mikroskoping

Periksa atau lihat object glass di mikroskop untuk melihat bagus atau tidak pewarnaan yang kita lakukan serta melihat ada atau tidak air bubble, bila ada air bubble kita tekan-tekan lagi fiber glass dengan pinset.

14. Labelling

Memberikan nama pada object glass

Kelebihan atau keuntungan dari histoteknik:

- 1. Sangat baik untuk melihat jaringan pada hewan percobaan. Jadi setelah hewan coba kita paparkan dengan zat atau senyawa yang mau kita periksa efeknya terhadap tubuh, maka kita tinggal mengambil jaringan mana dari hewan coba yang mau kita periksa.
- 2. Cukup sederhana dan ada beberapa pilihan proses dan bahan kimia yang hendak digunakan, tergantung waktu yang diinginkan cepat atau lambat. Misalnya pada waktu proses dehidrasi, bila kita mau cepat kita maka kita dapat mengganti alkohol dengan aseton.

Kekurangan atau kelemahan histoteknik:

- 1. Tidak dapat digunakan pada penelitian yang menggunakan cairan tubuh: seperti darah dan serum.
- 2. Membutuhkan kemampuan yang baik dalam mengenali bagian-bagian jaringan, dalam hal ini pengetahuan histologi sangat penting dimiliki peneliti, atau setidaknya peneliti mendapat bantuan untuk membaca dan menginterpretasikan jaringan yang diperiksa di bawah mikroskop. Penting bagi peneliti mengetahui mana jaringan yang normal dan mana yang patologis.

Saran:

Mungkin bisa menambah waktu praktikum dengan susunan jadwal tertentu agar mahasiswa dapat mengerjakan langsung keseluruhan proses histoteknik.

Penilai

dr. Esther RD Sitorus,Sp.PA
NIP. 197112082003122001

