

LAPORAN PRAKTIKUM

Judul : **Histoteknik**
Nama Praktikan : **Ichwan Alamsyah Lubis**
Group : **Pagi (08.00 – 11.00 Wib)**
Tanggal Praktikum : **24 – Oktober – 2013**

Tujuan Praktikum :

1. Melihat demonstrasi pembuatan preparat histology dimulai dari fiksasi jaringan hingga pemberian label pada preparat yang telah selesai dibuat.
2. Latihan teknik dasar dalam pembuatan sediaan preparat jaringan dengan menggunakan cara histoteknik.
3. Latihan menggunakan alat mikroskop untuk melihat preparat histologi yang telah selesai dibuat.

Pendahuluan :

Histoteknik adalah suatu metode yang digunakan untuk membuat preparat jaringan histologi dari spesimen tertentu dengan rangkaian proses, hingga menjadi suatu preparat yang siap untuk dianalisis. Spesimen yang digunakan berasal dari jaringan hewan dan manusia. Preparat yang dihasilkan digunakan untuk mempelajari bentuk dari suatu sel atau jaringan baik itu jaringan yang bersifat fisiologis ataupun patologis, sehingga bisa melihat perubahan yang terjadi pada sel atau jaringan yang akan diperiksa.

Histoteknik merupakan metode pilihan dalam melaksanakan penelitian, dan sebagai alat bantu untuk menegakkan diagnosis suatu penyakit.

Rangkaian proses histoteknik antara lain :

- Fiksasi
- Dehidrasi (*Dehydration*)
- Pembeningan (*Clearing*)
- Pembenaman (*Impregnation*)
- Pengecoran (*Blocking*)
- Pemotongan (*Sectioning*)

- Pewarnaan (*Staining*)
- Perekatan (*Mounting*)
- Pelabelan

Cara Kerja Pemrosesan Jaringan :

1. Sediakan organ/jaringan yang akan dibuat menjadi sediaan preparat,pada praktikum ini dipakai organ hepar dan colon yang berasal dari mencit.
2. Organ/Jaringan yang akan dibuat terlebih dahulu harus melewati proses fiksasi dengan cara merendam organ/jaringan menggunakan larutan formalin 10% selama 24 jam.Jaringan harus berada di dalam larutan formalin.
3. Setelah melakukan fiksasi lakukan pemotongan tipis pada jaringan yang akan digunakan.Pemotongan harus dilakukan dengan cara vertikal atau horizontal dengan melihat posisi jaringan yang ingin diamati/dianalisa.
4. Dilanjutkan dengan proses *Dehidrasi* dengan memasukkan jaringan kedalam alkohol 70%,80% dan 90% masing-masing selama 1 hari,dengan tujuan untuk menghilangkan cairan yang berada di dalam jaringan.
5. Selanjutnya lakukan proses Pembeningan (*Clearing*) dengan menggunakan larutan xylol (Xylol I, Xylol II).Jaringan dimasukkan kedalam masing-masing larutan selama 30 Menit,dengan tujuan untuk menghilangkan larutan alkohol dalam jaringan.
6. Selanjutnya melakukan proses pembenaman (*Impregnation*) dengan menggunakan paraffin dan sebuah oven paraffin.Jaringan dibenamkan pada paraffin I,II,dan III masing-masing selama 1 jam yang dimasukkan kedalam oven paraffin.
7. Setelah proses pembenaman selesai dilanjutkan ke proses pengecoran (*Blocking*).Dimana pada proses ini tuangkan sedikit paraffin cair pada alat cetak 2 potongan besi berbentuk huruf L yang digabung membentuk segi empat,lalu masukkan jaringan kedalam paraffin pada alat cetak tersebut dengan memposisikan jaringan sesuai dengan keinginan pada saat pemotongan.Lalu tuangkan parafin cair untuk menutup jaringan di dalam cetakan.Biarkan selama 1 hari.
8. Selanjutnya lakukan pemotongan (*Sectioning*) jaringan dengan menggunakan alat microtome.Letakkan pisau pada mikrotome dengan sudut tertentu.Rekatkan blok paraffin yang akan dipotong pada holder.Letakkan holder berikut blok preparat pada tempatnya di mikrotom.Lalu dilakukan pengirisan dengan ketebalan sesuai kebutuhan.Atur jarak preparat yang dipegang oleh holder kearah pisau sedekat mungkin lalu gerakkan rotor (putaran) pada mikrotom secara ritmis.Buang potongan-potongan paraffin awal yang tanpa jaringan,setelah potongan mengenai jaringan,potong blok preparat secara hati-hati kemudian pindahkan jaringan yang sudah dipotong ke atas air di dalam waterbath yang diatur pada suhu 40-50°C.Setelah pita paraffin terkembang dengan baik,tempelkan

paraffin ke kaca objek yang telah diberikan albumin secukupnya,lalu biarkan selama 12 jam.Simpan kaca objek yang berisi potongan paraffin sampai saat untuk dilakukan proses pewarnaan.

9. Proses berikutnya adalah pewarnaan (*Staining*),sebelum diberi zat warna harus dilakukan deparafinisasi dengan Xylol I dan II masing-masing 5 menit,lalu rehidrasi preparat dengan alkohol 100% (2 menit) → 95% (2 menit) → 90% (2 menit) → 80% (2 menit) → 70% (2 menit).
10. Proses berikutnya pewarnaan dengan menggunakan hematoxillin selama 5-10 menit,dimana hematoxillin akan mewarnai inti menjadi biru tetapi tidak bisa mewarnai sitoplasma,setelah itu cuci dengan aliran aquadest.
11. Dilanjutkan dengan pewarnaan menggunakan Eosin selama 2-3 menit,dimana eosin akan mewarnai sitoplasma lalu cuci dengan aliran aquadest.
12. Selanjutnya lakukan dehidrasi pada preparat menggunakan alkohol dengan gradasi meningkat dari alkohol 70% - Absolut.
13. Proses berikutnya adalah perekatan (*Mounting*) menggunakan Canada balsam secukupnya,berfungsi sebagai pengawet dan memberikan refraksi pada jaringan,selanjutnya jaringan yang diberikan Canada balsam ditutup dengan menggunakan Deck glass dengan merata tanpa ada gelembung udara di jaringan yang ditutup.
14. Proses akhir adalah labeling pada preparat untuk penamaan.Kemudian sediaan dilihat di mikroskop dimulai dari pembesaran terendah.

Kesimpulan :

1. Keuntungan Histoteknik :

- Proses pembuatan preparat sederhana dan tidak terlalu sulit,sehingga mudah dilakukan.
- Hasil dari preparat yang dibuat sesuai dengan prosedur dan proses yang baik akan memperlihatkan struktur suatu jaringan dengan jelas dan kemungkinan preparat akan bertahan lama.

2. Kerugian Histoteknik :

- Setiap proses harus dilakukan dengan baik dan teliti sesuai dengan urutan untuk mendapatkan hasil yang baik,dan apabila ada kelalaian akan membuat preparat tidak bisa untuk dianalisa.
- Membutuhkan waktu yang lama untuk membuat sebuah sediaan preparat jaringan yang baik sehingga kurang efisien dalam waktu.
- Banyak paraffin yang digunakan dengan metode histoteknik,sehingga biaya yang dikeluarkan menggunakan metode ini tidak sedikit.

Saran :

1. Karena lamanya melakukan proses histoteknik maka praktikan harus diberikan waktu dan kesempatan untuk melakukan proses ini sehingga waktu pertemuan praktikum tidak cukup dalam sekali pertemuan.
2. Dibutuhkan ruangan yang memiliki keran air untuk proses irigasi pewarnaan pada preparat.