

LAPORAN PRAKTIKUM HISTOTEKNIK DASAR

Nama : Lasmono Susanto

NIM : 147008018

Hari/Tanggal Praktikum : SELASA / 31 Maret 2015

I. Tujuan Praktikum

1. Agar praktikan mampu memahami dan melaksanakan tissue processing.
2. Agar praktikan mampu melaksanakan pewarnaan HE.
3. Agar praktikan mampu memahami dan membuat sajian histologi dari specimen tertentu untuk yang diamati di bawah mikroskop

II. Pendahuluan :

Histoteknik adalah metoda untuk membuat sediaan histologi dari spesimen jaringan tertentu melalui suatu rangkaian proses hingga menjadi sediaan yang siap untuk dianalisa melalui mikroskop. Sediaan histologi atau disebut juga preparat histologi adalah suatu gambaran tentang bentuk, besar, dan susunan sel/jaringan sebagaimana aslinya pada saat sel/jaringan tersebut hidup.

Preparat histologi yang baik dapat digunakan untuk :

1. Mempelajari bentuk dan struktur jaringan tubuh tertentu yang normal (fisiologis) dan abnormal (patologis).
2. Mempelajari perubahan jaringan dan organ tubuh yang mendapat perlakuan tertentu sehingga memberikan hasil yang benar-benar akurat yang dibutuhkan untuk menjawab permasalahan yang timbul dari suatu penelitian atau dalam keperluan diagnosa.
3. Mempelajari pertumbuhan dan perkembangan jaringan atau organ tubuh tertentu.
4. Membantu menegakkan diagnosa penyakit yang diderita oleh seorang pasien atau pada kedokteran forensik

III. Cara Kerja

• Alat dan Bahan :

- | | |
|---|--------------------------|
| 1. Pinset | 9. Paraffin cair |
| 2. Pisau. | 10. Mikrotom |
| 3. Jaringan Mencit (pankreas, hepar, lambung) dalam larutan formalin 10%. | 11. Water bath |
| 4. Larutan Alkohol 70 %, 80%, 90%, 100%. | 12. Object glass |
| 5. Larutan Xylol | 13. Albumin + gliserin |
| 6. Inkubator | 14. Pewarna Haematoxylin |
| 7. Dua potongan besi berbentuk L (Leuckhart). | 15. Pewarna Eosin |
| 8. Lembaran logam | 16. Balsam Canada |
| | 17. Cover glass |
| | 18. Mikroskop |

• **Prosedur Kerja :**

1. Fiksasi Jaringan (*Fixation*). Jaringan difiksasi dengan cara direndam dalam larutan formalin 10% selama 24 jam. Kemudian dilakukan pemotongan pada jaringan maksimal ukuran 1 x 1 cm.
2. Dehidrasi (*Dehydration*). Jaringan yang telah diletakan didalam casset dimasukkan ke dalam larutan alkohol 70%, 80%, 90% dan 100% masing-masing selama 1 hari.
3. Pembeningan (*Clearing*). Jaringan dikeluarkan dari alkohol 100% dan dipindahkan ke dalam larutan xylol selama 2 kali 30 menit.
4. Pembenaan (*Infiltration/Impregnation/Embedding*). 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 berupa yaitu potongan besi berbentuk L (Leuckhart). Dua buah potongan besi disusun diatas lembaran logam hingga rapat dan membentuk ruang seperti kubus. Paraffin cair dituang kedalam cetakan yang berisi jaringan. Dilakukan *labeling* identitas jaringan pada blok parafin. Blok paraffin dibiarkan sampai mengeras dan blok siap untuk dipotong menggunakan microtom.
6. Pemotongan Jaringan (*Sectioning*). Bahan diiris dengan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 5-10 μ m. Jarak preparat diatur menggunakan *holder preparat*. Rotor pada mikrotom digerakan secara ritmis. Pita-pita paraffin awal yang tanpa jaringan dibuang. Setelah potongan mengenai jaringan secara sempurna, blok preparat dipotong secara hati hati dan hasil pengirisan yang bagus dimasukkan ke dalam *water bath* pada suhu 50 °C. Setelah pita paraffin terbentang dengan baik (tidak berlipat/berkerut) pita paraffin diletakan pada objek gelas yang sudah dioles albumin + gliserin. Slide dikeringkan ditempat terbuka.
7. Pewarnaan (*Staining*). Proses pewarnaan harus melalui tahapan-tahapan sebagai berikut:
 - Deparafinisasi dengan xylol: Xylol I (2 menit), Xylol II (2 menit).
 - Hidrasi dengan merendam Alkohol 100% (2 menit), Alkohol 90% (2 menit), Alkohol 80 % (2 menit), Alkohol 70 % (2 menit).
 - Direndam dalam giemsa 5 menit (modifikasi), dicuci pada air mengalir 3 menit.
 - Direndam dalam Eosin 3 menit, dicuci dengan air mengalir 5 menit
 - dehidrasi dengan Alkohol 70 % (10 kali celup), Alkohol 80 % (10 kali celup), Alkohol 90 % (10 kali celup), Alkohol 100% (10 kali celup)
 - di rendam dalam Xylol I (2 menit) dan Xylol II (2 menit)
 - Preparat ditetesi balsem kanada kemudian ditutup dengan *cover glass* . diusahakan agar tidak terbentuk gelembung, dan diberi label tentang informasi sampel jaringan. Selanjutnya sediaan siap dianalisis dengan menggunakan mikroskop.

III. Hasil dan Pembahasan.

- Pada hasil pewarnaan terlihat inti sel berwarna merah (*seharusnya biru gelap*), hal ini karena giemsa merupakan campuran dari biru metilena dan eosin. Kedua zat warna ini larut dalam air tapi bila disatukan akan membentuk endapan berwarna gelap yang larut dalam methanol. Giemsa akan mewarnai sitoplasma menjadi merah muda dan inti menjadi biru. Derajat warna biru pada pewarnaan Giemsa dapat beragam dari ungu sampai magenta, dan derajat warna ini bergantung pada biru metilena yang terdegradasi saat berikatan dengan

eosin. Sedangkan hematoksilin yang dioksidasi dengan penambahan Natrium Iodat akan menghasilkan hematin yang berwarna biru pada kondisi alkali dan berwarna magenta bila dalam kondisi asam alkohol. Kemungkinan inti sel yang berwarna merah pada pewarnaan Giemsa adalah zat warna biru metilena yang kurang terdegradasi secara sempurna pada saat berikatan dengan eosin.

- Sitoplasma berwarna merah. Hal ini karena eosin mewarnai sitoplasma menjadi warna merah muda.

IV. Kesimpulan :

1. Histoteknik merupakan suatu cara *tissue processing* untuk membuat suatu sediaan/preparat histologi, yang digunakan sebagai alat bantu untuk melihat keadaan fisiologis atau patologis dari jaringan.
2. Pada pewarnaan sediaan Histologi dengan metode Hematoksilin, modifikasi Hematoksilin dengan Giemsa kurang memberikan hasil pewarnaan inti sel yang baik, sehingga kurang layak digunakan.

V. Saran:

Sebaiknya setiap praktikan berhati-hati dalam melakukan pemotongan menggunakan microtom agar terhindar dari cedera terpotong dan waspadaai penggunaan bahan kimia yang digunakan karena sebagian larutan yang dipakai bersifat iritan dan karsinogenik (xylol).