

LAPORAN PRAKTIKUM HISTOTEKNIK

Melya Susanti

Magister biomedik USU

Tujuan:

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

Histoteknik adalah metoda membuat sajian dari spesimen tertentu melalui suatu rangkaian proses hingga menjadi preparat histologi yang baik dan siap untuk dianalisis. Spesimen dapat berasal dari manusia dan hewan. Preparat yang baik harus dapat memberikan gambaran tentang bentuk, besar, dan susunan sebagaimana sel/jaringan tersebut hidup.

Langkah-Langkah Membuat Preparat Histologi Dengan Metode Histoteknik

1. Fiksasi jaringan
Pada praktikum ini, langkah fiksasi jaringan tidak dilakukan, hanya diperlihatkan ada jaringan yang sudah difiksasi dalam larutan alcohol, yang siap untuk diproses dengan metode histoteknik
2. Dehidrasi (*Dehydration*)
Langkah ini juga tidak dilakukan, namun dijelaskan secara prinsip jaringan perlu di dehidrasi sebelum diproses agar jaringan dapat diisi paraffin sehingga bisa diiris tipis
3. Pembeningan (*Clearing*)
Tahapan ini juga tidak dilakukan, tujuan tahapan ini untuk mengeluarkan dehidran dan menggantinya dengan larutan yang dapat bercampur dengan paraffin yaitu xylol
4. Pembenanaman (*Infiltration/Impregnation/Embedding*)
Proses untuk mengeluarkan clearing agent dan menggantinya dengan paraffin, dibenamkan dalam paraffin 3x1 jam, juga tidak dilakukan dalam praktikum ini
5. Pengecoran (*Blocking/Casting*)
Pengecoran adalah proses pembuatan blok paraffin. agar dapat dipotong dengan mikrotom. Agar mudah diiris, jaringan dibentuk dan dikeraskan dengan parafin. Tidak dilakukan dalam praktikum ini
6. Mengiris Blok Parafin (sectioning)
Langkah ini dilakukan, tetapi hasilnya tidak dipakai untuk tahapan berikutnya karena harus dikeringkan semalaman. Teknik sectioning dilakukan sesuai cara kerja sectioning di penuntun praktikum, sehingga didapatkan potongan jaringan dengan ketebalan 5-10 μm
7. Mewarnai Preparat

Langkah ini dikerjakan praktikan dalam praktikum ini

- Deparafinisasi dengan xylol, didiamkan dalam larutan xylol $\pm$ 10, 15, 20 menit, sampai slide terlihat bersih
- Hidrasi dengan alkohol 100% (3 kali celup) – 95% (3 kali celup) – 90% (3 kali celup) – 80% (3 kali celup) – 70% (3 kali celup) – air kran (beberapa kali celup);
- Inkubasi dalam larutan *haematoxylin* Mayer selama 10 menit, dalam praktikum ini memakai larutan giemsa
- Cuci dalam air kran mengalir selama 2 menit;
- Observasi di bawah mikroskop, bila masih terlalu biru cuci lagi di air mengalir selama beberapa menit. Bila sudah cukup warnanya, lanjutkan dengan tahap selanjutnya;
- *Counterstaining* dengan *eosin working solution* selama beberapa menit. Lama inkubasi bergantung pada umur eosin dan kedalaman warna yang diinginkan
- Inkubasi dalam xylol 2x2 menit.
- Tutup (*mounting*) dengan entellan□/balsam Kanada dan *cover glass*
- Beri label pada sajian tersebut dan biarkan hingga entellan mengering

Hasil dari pewarnaan

1. Terlihat inti dari sel yang berwarna biru karena pewarnaan giemsa
2. Terlihat sitoplasma dari sel yang berwarna merah muda karena pewarnaan dari eosin

Kesimpulan:

1. Dalam praktikum ini tidak dilakukan semua langkah teknik histoteknik karena keterbatasan waktu
2. Langkah yang dilakukan adalah mewarnai, juga tidak sesuai penuntun, juga karena keterbatasan waktu, namun hasil pewarnaan dibawah mikroskop terlihat adanya inti dan sitoplasma
3. Zat warna yang dipakai dalam praktikum ini bukan HE tapi GIEMSA, prinsipnya HE atau GIEMSA bersifat basa sehingga dapat diikat oleh inti yang bersifat asam, dan sitoplasma bersifat basa sehingga mengikat zat warna asam
4. Dalam pewarnaan dengan giemsa tidak dilakukan dehidrasi dalam alkohol serial bertingkat 70%. 80%, 90%, 100% karena zat warna giemsa larut dalam alkohol, jadi jika dilakukan dehidrasi dengan alkohol menyebabkan hilangnya warna inti yang diwarnai oleh giemsa karena zat warnanya larut dalam alkohol
5. Warna inti dari masing-masing praktikan tampak berbeda, semakin lama di diamkan dalam larutan giemsa warna inti semakin biru.

SARAN

1. Untuk mendapatkan hasil maksimal, sebaiknya praktikum dilakukan sesuai dengan penuntun praktikum

