

LAPORAN PRAKTIKUM HISTOTEKNIK

NAMA PRAKTIKAN : Ramadhan Bestari

GRUP PRAKTIKAN : Grup Pagi (08.00-11.00)

HARI/TGL. PRAKTIKUM : Rabu, 24 Oktober 2013

I. TUJUAN PRAKTIKUM

1. Mahasiswa mampu memahami dan melakukan langkah-langkah yang dilakukan dalam pembuatan sediaan preparat jaringan dengan pewarnaan hematoxilin eosin.
2. Mahasiswa mampu mengamati dan menganalisa sediaan preparat jaringan yang telah dibuat dengan menggunakan mikroskop cahaya.

II. PENDAHULUAN

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

Rangkaian proses histoteknik antara lain :

1. Fiksasi
2. Dehidrasi
3. Pembeningan
4. Pemotongan
5. Pengecoran
6. Pembenaman
7. Pemotongan
7. Pewarnaan
8. Perekatan
9. Pelabelan

III. ALAT DAN BAHAN

1. Jaringan
2. Larutan formalin 10%
3. Larutan alkohol 100%
4. Larutan alkohol 90%
5. Larutan alkohol 80%
6. Larutan alkohol 70%
7. Larutan xylol
8. Parafin cair
9. Inkubator
10. 2 potongan besi berbentuk L (Leuckhart)
11. Lembaran logam
12. Mikrotom
13. Waterbath
14. Kaca objek
15. Albumin
16. Gliserin
17. Sengkelit
18. Pewarna hematoxilin mayer
19. Air kran mengalir
20. Pewarna eosin
21. Kaca penutup

- 22. Balsem Kanada
- 23. Label
- 24. Mikroskop

IV. CARA KERJA

FIKSASI JARINGAN

Cara melakukan fiksasi jaringan ada 2 macam, yaitu supravital/intravital atau merendam dalam larutan pengawet. Merendam dalam larutan pengawet adalah yang paling sederhana dan sering dilakukan. Pada praktikum ini jaringan yang difiksasi adalah hepar, limpa, dan usus mencit.

Hal-hal yang harus diperhatikan dalam fiksasi jaringan histologi adalah :

1. Tebal irisan.
 2. Volume larutan pengawet.
 3. Jenis larutan pengawet.
- Jenis-jenis cairan fiksasi yang digunakan antara lain:

- FORMALIN
- MULLER
- BOUIN
- CARNOY
- ZENKER FORMAL (CAIRAN HELLY)
- ETANOL
- ASAM ASETAT-ALKOHOL-FORMALIN (TELLYESNICZKY)

PEMROSESAN JARINGAN

Setelah jaringan difiksasi, jaringan harus diproses menjadi bentuk yang dapat diiris dengan mikrotom. Biasanya pengirisan dikerjakan dengan menaruh jaringan di dalam parafin (suatu jenis lilin). Langkah awal pemrosesan jaringan adalah dehidrasi dan pembeningan. Jaringan tertentu memiliki struktur yang berbeda dengan kebanyakan jaringan lainnya. Jaringan yang mengandung kalsium (tulang) atau jaringan yang keras (kulit) akan menjalani proses tertentu sebelum dilakukan proses dehidrasi.

DEHIDRASI

Dehidrasi adalah proses pengeluaran air dari jaringan agar jaringan tersebut dapat diisi oleh parafin sehingga jaringan dapat diiris tipis. Cairan dehidrasi (dehidran) dapat berupa alkohol dengan kadar yang meningkat, metanol, sukrosa, dan aseton. Alkohol dan aseton adalah yang paling sering digunakan. Bila menggunakan alkohol, maka alkohol 70%, 80%, 90%, masing-masing 1 hari lalu alkohol 95% 2 hari (2x ganti) dan terakhir alkohol 100 % 2 hari (2x ganti). Sedangkan bila menggunakan aseton maka dilakukan selama 3 x 20 menit (3x ganti).

PEMBENINGAN

Pembeningan adalah upaya untuk mengeluarkan zat penarik air (dehidran) dan menggantinya dengan bahan kimia yang dapat bercampur dengan dehidran maupun parafin. Bahan kimia yang dapat digunakan sebagai *clearing agent* yaitu kloroform, benzena (benzol), xylene (xylol), *cedar wood oil*, *benzyl benzoate*, atau *methyl benzoate*. Xylol adalah bahan yang sering digunakan sebagai *clearing agent*. Meski karsinogenik, bahan ini memberikan waktu *clearing* yang cepat yakni sekitar ½ - 1 jam. Pembeningan dilakukan dengan merendam jaringan dalam xylol 2 kali 15 menit hingga jaringan menjadi bening dan transparan. Pada organ yang banyak mengandung darah, organ akan tampak menghitam. Volume xylol adalah 20 kali volume jaringan. Setelah bening, jaringan dimasukkan ke dalam parafin cair panas dalam oven parafin.

PEMBENAMAN/IMPREGNASI

Pembenaman atau Impregnasi adalah proses pengeluaran *clearing agent* dari jaringan dan menggantikannya dengan parafin. Ada banyak jenis parafin yang digunakan untuk pembenaman. Parafin tersebut dapat berbeda dalam hal titik cair (*melting point*), untuk beragam kekerasan dan cara pemotongan. Untuk tujuan rutin, yang digunakan adalah parafin yang mencair pada suhu 56-59 °C. Pembenaan dilakukan dengan merendam jaringan dalam parafin cair di oven bersuhu 60 °C selama 3 x 1 jam (3x ganti parafin). Hal yang perlu diperhatikan adalah *clearing agent* yang tersisa dapat mengkristal dalam jaringan sehingga saat dipotong dengan mikrotom, jaringan akan robek.

PENGECORAN

Pengecoran adalah proses pembuatan blok parafin agar dapat dipotong dengan mikrotom. Agar mudah diiris, jaringan dibentuk dan dikeraskan dengan parafin. Alat pencetak dapat berupa besi berbentuk L (Leuckhart), atau cetakan (*mold*). Tuangkan parafin secukupnya pada cetakan dan letakkan jaringan pada dasar cetakan sesuai dengan keinginan saat jaringan diiris. Hindarkan terbentuknya gelembung udara. Diamkan hingga blok parafin menjadi keras. Berilah label identitas jaringan.

PEMOTONGAN

Pemotongan adalah pengirisan blok parafin dengan mikrotom dengan ketebalan 5-10 μm dan hasil pengirisan yang bagus dimasukkan ke dalam *water bath* pada suhu 50 °C. Setelah pita parafin berkembang dengan baik, tempelkan pita parafin secara hati-hati ke kaca objek yang telah dilapisi dengan albumin + gliserin secara tegak lurus, keringkan ditempat terbuka, selanjutnya dilakukan proses pewarnaan.

PEWARNAAN HEMATOKSILIN DAN EOSIN

Untuk menganalisis struktur jaringan yang telah diiris, preparat harus diwarnai. Pewarnaan rutin yang sering dikerjakan adalah hematoksin-eosin (HE). Hematoksin akan mewarnai nukleus sedangkan eosin mewarnai sitoplasma. Proses pewarnaan melalui tahapan-tahapan sebagai berikut : Kaca objek yang berisi jaringan dimasukkan ke dalam larutan-larutan yang telah tersedia :

Larutan	Lama
Xylol I	5 menit
Xylol II	5 menit
Alkohol 100% I	2 menit
Alkohol 100% II	2 menit
Alkohol 90% I	2 menit
Alkohol 90% II	2 menit
Alkohol 80% I	2 menit
Alkohol 80% II	2 menit
Alkohol 70% I	2 menit
Alkohol 70% II	2 menit
Hematoxilin Mayer	5 menit
Air kran mengalir	5 menit
Eosin	3 menit
Air kran mengalir	5 menit
Alkohol 70% I	10x celup
Alkohol 70% II	10x celup
Alkohol 80% I	10x celup
Alkohol 80% II	10x celup
Alkohol 90% I	10x celup
Alkohol 90% II	10x celup
Alkohol 100% I	10x celup
Alkohol 100% II	10x celup
Xylol I	2 menit
Xylol II	2 menit

PEREKATAN

Setelah itu kemudian preparat ditempel dengan kaca penutup yang sudah ditetesi balsem Canada sebanyak 1 tetes. Usahakan tidak terbentuk gelembung udara.

PELABELAN

Berikan keterangan di kaca objek mengenai jaringan apa yang menjadi sediaan. Selanjutnya sediaan dilihat menggunakan mikroskop.

V. HASIL DAN PEMBAHASAN

No.	KEGIATAN	LAMA	CONTRENG
1.	Pemrosesan jaringan		✓
2.	Dehidrasi		
	Aseton I	20 menit	✓
	Aseton II	20 menit	✓
	Aseton III	20 menit	✓
3.	Clearing		
	Xylol I	30 menit	✓
	Xylol II	30 menit	✓
4.	Impregnating		✓
5.	Blocking		✓
6.	Sectioning		✓
7.	Mounting		✓
8.	Drying		✓
9.	Pewarnaan HE		
	Xylol I	2 menit	✓
	Xylol II	2 menit	✓
	Alkohol 100% I	2 menit	✓
	Alkohol 100% II	2 menit	✓
	Alkohol 90% I	2 menit	✓
	Alkohol 90% II	2 menit	✓
	Alkohol 80% I	2 menit	✓
	Alkohol 80% II	2 menit	✓
	Alkohol 70% I	2 menit	✓
	Alkohol 70% II	2 menit	✓
	Hematoksilin Mayer	5 menit	✓
	Air kran mengalir	10 menit	✓
	Eosin	2 menit	✓
	Air kran mengalir	10 menit	✓
	Alkohol 70% I	10x celup	✓
	Alkohol 70% II	10x celup	✓
	Alkohol 80% I	10x celup	✓
	Alkohol 80% II	10x celup	✓
	Alkohol 90% I	10x celup	✓
	Alkohol 90% II	10x celup	✓
	Alkohol 100% I	10x celup	✓
	Alkohol 100% II	10x celup	✓

Praktikum histoteknik yang dilakukan tidak mengikuti prosedur yang sebenarnya, beberapa prosedur dilakukan dengan memperpendek waktu pengerjaan agar semua proses dapat dilakukan sesuai dengan waktu perpraktikuman yang tersedia.

VI. KESIMPULAN

1. Preparat jaringan yang telah dilakukan pengecoran dengan parafin 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.
2. Dengan sistem pengecoran menggunakan parafin pemeriksa dapat memotong setipis mungkin jaringan tanpa merusak jaringan tersebut.

3. Proses pembuatan jaringan dengan teknik histoteknik membutuhkan waktu yang lama sehingga butuh kesabaran bagi pemeriksa dalam pembuatan jaringan sampai akhir pemeriksaanya dengan menggunakan mikroskop.
4. Pemeriksa harus mempunyai ketelitian yang tinggi dalam menentukan jaringan dan dalam pemotongan jaringan.

VII. SARAN

Sebaiknya diberikan kesempatan kepada praktikan untuk melakukan pemrosesan jaringan dengan bahan-bahan yang berbeda pada setiap langkah histoteknik agar dapat terlihat kelebihan dan kekurangan masing-masing bahan tersebut.