

LAPORAN PRAKTIKUM TISSUE PROCESSING

Praktikan : Rebecca Rumesty Lamtiar

TT :

Tujuan praktikum :

1. Mempelajari langkah-langkah persiapan preparat Histologi melalui demo yang disediakan
2. Latihan membuat preparat Histologi dengan menggunakan jaringan yang disediakan
3. Latihan melakukan teknik pewarnaan *Haematoxylin* dan *Eosin* pada preparat yang telah disiapkan
3. Memeriksa hasil preparat Histologi dengan menggunakan mikroskop

Bahan:

1. Jaringan yang akan diperiksa
2. Larutan alkohol absolut (100%)
3. Larutan alkohol 90 %
4. Larutan alkohol 80 %
5. Larutan alkohol 70 %
6. Larutan xylol
7. Parafin
8. Hematoxylin
9. Eosin
10. Canada balsem
11. Albumin

Alat yang digunakan:

1. Potongan besi
2. Mikrotom
3. Waterbath
4. Gelas wadah
5. Pisau
6. Objek glass
7. Deck glass
8. Oven

9. Timer
10. Pinset

Cara Kerja :

1. Persiapan organ
Jaringan yang akan diperiksa dipotong-potong dalam ukuran yang lebih kecil supaya mempermudah dalam proses fiksasi.
2. Fiksasi
Proses fiksasi dilakukan supaya jaringan yang akan diperiksa tidak mengalami pembusukan. Cairan fiksasi yang digunakan dalam praktikum ini adalah larutan formalin 10 %. Jaringan yang telah dipotong, direndam dalam formalin 10 % selama minimal 24 jam.
3. Dehidrasi
Proses dehidrasi dilakukan untuk menarik air keluar dari jaringan. Proses ini dilakukan dengan menggunakan alkohol 70 %, alkohol 95 %, dan alkohol 100 %. Jaringan yang sudah difiksasi direndam dengan alkohol 70 % selama 3 hari. Rendaman harus diganti setiap hari (3 kali ganti wadah alkohol). Setelah hari ketiga, jaringan kembali direndam dengan alkohol 95 % dan dilakukan selama 3 hari juga (diperlakukan sama seperti proses rendaman dengan alkohol 70 %). Begitu juga hari selanjutnya, jaringan kembali direndam dengan alkohol 100 % selama 3 hari.
4. Pembeningan / Clearing
Prose pembeningan dilakukan untuk menarik alkohol yang ada pada jaringan dan mempersiapkan sel masuk kedalam proses pembedahan. Larutan yang digunakan pada praktikum ini adalah xylol. Larutan xylol akan menyebabkan sitoplasma kosong, sehingga jaringan tidak mengandung air atau alkohol lagi (jaringan murni). Xylol dibuat dalam 2 wadah (xylol I dan xylol II). Jaringan yang sudah mengalami dehidrasi, direndam dalam xylol I selama 30 menit. Setelah itu direndam kembali dalam xylol II selama 30 menit, sampai jaringan terlihat transparan dan bening. Setelah ini maka jaringan siap untuk dibenamkan.
5. Pembedahan
Pembedahan dilakukan untuk mengeluarkan cairan pembening (dalam hal ini dipakai xylol) dari jaringan dan menggantikannya dengan paraffin. Proses pembedahan dilakukan dalam 3 tahap. Pada tahap pertama, jaringan dimasukkan ke dalam parafin cair yang terdapat di dalam oven selama 2 jam. Bagian jaringan harus terbenam seluruhnya. Tahap yang kedua, jaringan

dibenamkan pada parafin selama 1 jam dan pada tahap yang ketiga jaringan dibenamkan selama 2 jam. Setelah pembedahan, proses dilanjutkan dengan pengecoran (blocking)

6. Pengecoran / blocking

Pada tahap ini, digunakan 2 potongan besi berbentuk L. Potongan besi ini disusun di atas lembaran logam sehingga membentuk ruang kubus. Parafin cair dituang sedikit menutupi alas. Setelah itu bagian jaringan yang akan diperiksa diletakkan di dasar kubus. Parafin kembali dituang secukupnya menutupi jaringan. Pembentukan gelembung pada saat menuang parafin dihindari. Setelah itu cetakan parafin didiamkan selama 24 jam sampai beku.

7. Pengirisan jaringan / sectioning

Dilakukan dengan menggunakan mikrotom knife. Ketebalan disesuaikan dengan kebutuhan ($\pm 5-10\mu\text{m}$). Jarak preparat yang dipegang oleh holder ke arah pisau diatur sedekat mungkin. Rotor pada mikrotom digerakkan secara ritmis. Pita-pita parafin awal yang tanpa jaringan dibuang. Setelah mengenai jaringan, blok preparat dipotong secara hati-hati. Hasil potongan dipindahkan secara hati-hati dengan sengkeli ke atas air yang ada dalam waterbath yang sudah diatur pada suhu $45-50^{\circ}\text{C}$.

Disiapkan kaca objek yang sudah diolesi albumin (pada hal ini dipakai putih telur). Setelah parafin terkembang dengan baik, lembar parafin ditempelkan pada kaca objek tersebut. Cara menempelkan parafin pada kaca objek, yaitu dengan mencelupkan secara tegak lurus kaca objek dengan lembar parafin. Diatur supaya jaringan berada di tengah slide. Setelah ini, kaca objek yang sudah ditempel dengan parafin didiamkan selama semalaman (12 jam) agar benar-benar kering.

8. Setelah kaca objek kering, kemudian direndam kembali dengan larutan xylol. Dilakukan dalam 2 tahap, yaitu dengan xylol I dan xylol II, masing-masing selama 5 menit. Setelah tahap ini, maka masuk ke tahap rehidrasi

9. Rehidrasi

Rehidrasi dilakukan dengan menggunakan alkohol 100 %, alkohol 90 %, alkohol 80 % dan alkohol 70 %. Disiapkan masing-masing 2 wadah larutan alkohol 100 %, alkohol 90 %, alkohol 80 % dan alkohol 70 %. Kaca objek direndam dalam alkohol 100 % pada wadah pertama selama 2 menit dan dilanjutkan pada wadah kedua selama 2 menit. Hal ini diulangi dengan menggunakan alkohol 90 %, alkohol 80 % dan alkohol 70 %.

10. Pewarnaan

Larutan warna yang digunakan adalah hematoxylin dan eosin. Larutan hematoxylin digunakan untuk mewarnai inti sehingga terlihat berwarna biru. Kaca objek direndam dalam larutan hematoxylin selama 5-10 menit. Setelah itu dibilas dengan air mengalir selama 5 menit. Lalu direndam dalam larutan eosin selama 3 menit. Larutan eosin akan memberi warna pada sitoplasma sehingga terlihat berwarna merah (pink). Setelah itu dibilas lagi dengan air mengalir.

11. Dilakukan proses dehidrasi kembali.

Kaca objek direndam dalam alkohol 70 % sebanyak 2 kali, masing-masing selama 2 menit. Hal ini diulang kembali dengan menggunakan alkohol 80 %, setelah itu 90 % dan 100 %.

12. Setelah dehidrasi, kembali direndam dengan xylol sebanyak 2 kali, masing-masing selama 2 menit.

13. Perekatan / Mounting

Dilakukan dengan meneteskan *Canada balsm* 1 tetes dan menutupnya dengan *deckglass*. Pada proses ini diusahakan tidak boleh ada gelembung udara, sehingga pada pemeriksaan dibawah mikroskop jaringan dapat terlihat jelas.

14. Labeling

Preparat yang sudah selesai diberi label dan nama.

Medan, 2 Oktober 2012

Penilai

(dr. Esther R D Sitorus, Sp. PA)