

LAPORAN PRAKTIKUM HISTOTEKNIK

TISSUE PROCESSING

Tanggal Praktikum : 22 September 2012

Disusun Oleh : Rika Nailuvar Sinaga

Tujuan Praktikum :

1. Mampu membuat preparat histologi jaringan atau dapat melaksanakan tissue processing dimana hasil preparat tersebut dapat dianalisa lanjut dengan mikroskop.
2. Mampu melaksanakan pewarnaan HE.

Pendahuluan :

Histoteknik adalah suatu metode untuk membuat sediaan dari spesimen tertentu melalui rangkaian proses sehingga di dapatkan sajian yang dapat dianalisa selanjutnya. Spesimen yang dapat dipakai berupa jaringan yang berasal dari hewan dan manusia. Preparat yang dihasilkan dapat digunakan untuk mempelajari bagaimana bentuk dari suatu sel atau jaringan baik itu secara fisiologis maupun patologis, dapat melihat perubahan yang terjadi pada sel atau jaringan yang telah mendapatkan suatu perlakuan pada penelitian sehingga histoteknik dapat menjadi salah satu metode pilihan dalam melaksanakan penelitian, dan alat bantu untuk mendiagnosis suatu penyakit. Preparat harus dalam keadaan baik, yang dapat memberikan gambaran tentang bentuk, besar dan susunan sebagaimana sel atau jaringan tersebut hidup.

Alat dan Bahan :

- | | |
|---------------------------------------|---|
| - Jaringan | - Inkubator |
| - Larutan Formalin 10% | - Dua potongan besi berbentuk L (Leuckhart) |
| - Alkohol (70%, 80%, 90% dan absolut) | - Lembaran logam |
| - Larutan xylol | - Mikrotom |
| - Parafin cair | - Waterbath |

- Object glass
- Albumin
- Gliserin
- Sengkelit
- Pewarna Haematoxyllin Mayer
- Aquadest
- Pewarna Eosin
- Cover Glass
- Balsam Canada
- Label
- Mikroskop

Cara kerja :

1. Siapkan organ yang akan dibuat menjadi sediaan atau preparat, pada praktikum ini dipakai organ kolon yang berasal dari mencit.
2. Jaringan di fiksasi (pengawetan awal) dengan menggunakan larutan formalin 10% selama \pm 24 jam. Usahakan semua jaringan tenggelam atau masuk ke dalam larutan formalin.
3. Setelah di fiksasi lakukan pemotongan pada jaringan dengan ukuran maksimal 1x1 cm.
4. Berikutnya lakukan proses dehidrasi dengan memasukkan jaringan ke dalam alkohol 70%, 80% dan 90% masing-masing selama 1 hari. Tujuan dari proses dehidrasi adalah untuk menghilangkan cairan dari jaringan.
5. Selanjutnya lakukan proses clearing (pembeningan) dengan menggunakan larutan xylol (xylol I, xylol II). Jaringan di rendam di dalam masing-masing larutan selama \pm 30 menit. Tujuan dari proses clearing adalah untuk menghilangkan alkohol dan mempersiapkan jaringan untuk proses berikutnya yaitu impregnation (pembenaman).
6. Proses impregnation dilakukan dengan menggunakan paraffin oven dimana jaringan dibenamkan pada paraffin I, II dan III masing-masing selama \pm 1 jam. Setelah pbenaman proses dilanjutkan dengan pengecoran (blocking).
7. Pada proses blocking tuangkan sedikit paraffin cair di bagian pinggir pada alat cetak lalu letakkan jaringan sesuai dengan keinginan saat jaringan diiris. Tuangkan paraffin secukupnya agar menutupi jaringan seluruhnya. Lalu biarkan selama satu hari satu malam.

8. Selanjutnya lakukan pengirisan jaringan atau sectioning dengan menggunakan microtome. Letakkan pisau pada mikrotom dengan sudut tertentu. Rekatkan blok paraffin yang akan dipotong pada *holder* dengan menggunakan spatula atau *scalpel blade* yang panas. Letakkan *holder* berikut blok preparat pada tempatnya di mikrotom. Pengirisan dilakukan dengan ketebalan $\pm 5 - 10 \mu\text{m}$ (disesuaikan kebutuhan). Atur jarak preparat yang dipegang oleh *holder* ke arah pisau sedekat mungkin lalu gerakkan rotor (putaran) pada mikrotom secara ritmis. Buang pita-pita paraffin awal yang tanpa jaringan, setelah potongan mengenai jaringan, potong blok preparat secara hati-hati kemudian pindahkan secara hati-hati dengan sengkeli 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 diberi albumin secukupnya. Lalu biarkan selama ± 12 jam. Simpan kaca objek berisi potongan paraffin dan jaringan sampai saatnya untuk diwarnai.
9. Proses berikutnya adalah pewarnaan (staining), sebelum memberi zat warna lakukan deparafinisasi dengan xylol I dan II masing-masing ± 5 menit, lalu rehidrasi preparat dengan alkohol 100% (2x2 menit) – 95% (2 menit) – 90%(2 menit) – 80% (2 menit) – 70% (2 menit).
10. Berikutnya pewarnaan preparat dengan hematoxillin selama $\pm 5-10$ menit, hematoxillin akan mewarnai inti menjadi biru tetapi tidak bisa mewarnai sitoplasma, setelah itu cuci dengan aliran aquadest.
11. Lanjutkan pewarnaan dengan menggunakan eosin selama ± 3 menit , eosin akan mewarnai sitoplasma, cuci dengan aliran aquadest.
12. Selanjutnya lakukan dehidrasi pada preparat menggunakan alkohol dengan gradasi meningkat (70%-absolut) dan inkubasi dengan xylol 2x2 menit.
13. Proses berikut adalah mounting dengan Canada balsam, berfungsi sebagai pengawet dan dapat memberikan refraksi pada jaringan.
14. Proses terakhir adalah labeling. Selanjutnya sediaan dapat dilihat di mikroskop.

Kesimpulan :

- Histoteknik merupakan metode yang dapat digunakan untuk membantu penelitian.
- Peneliti dapat melihat fisiologis dan patologis jaringan spesimen sehingga mengetahui perubahan sel/jaringan akibat suatu perlakuan pada penelitian.
- Histoteknik dapat digunakan sebagai dokumentasi data dan bukti penelitian maupun sebagai jawaban atas riset yang dilakukan.

Saran:

- Praktikan di beri kesempatan untuk melakukan proses histoteknik dari awal sampai akhir dengan menggunakan berbagai macam jaringan.
- Praktikan di beri kesempatan untuk melihat hasil preparat jaringannya di mikroskop.

Praktikan

Instruktur

Rika Nailuvar Sinaga

dr. Esther R D Sitorus Sp.PA
NIP 197112082003122001