

Laporan Praktikum
***Tissue Processing* (Pemrosesan Jaringan)**

Hari / Tanggal : Sabtu / 22 September 2012

Nama : Rica Vera Br. Tarigan

Tujuan Praktikum:

- mampu melaksanakan *tissue processing*
- Mampu melaksanakan pewarnaan HE

Alat dan Bahan:

Alat	Bahan
Beaker Glass	Formalin 10%
Oven	Alkohol 70%; 80%; 90%; 100%
Pencetak parafin	Xylol
Pemotong (Mikrotom)	Parafin
Waterbath	Aquades
Sungkit	Pewarna HE
Fiber glass (deck glass)	Canada Basam
Kaca Slide	Perekat (Albumin + gliserin)
Microskop	

Hasil dan Pembahasan:

1. Menyediakan organ hewan yang akan difiksasi, dalam praktikum ini yang digunakan adalah organ dari monyet.
2. Organ hewan diawetkan (difiksasi) menggunakan formalin 10% dengan cara merendam organ yang diambil.

Tujuan digunakannya kadar formalin 10% agar organ yang diawetkan diperoleh hasil yang maksimal dan proses pengawetannya merata sehingga jaringan nya tidak ada yang rusak.

Tujuan organ difiksasi:

- Menghambat proses pembusukan dan autolisis
 - Untuk pengawetan dan pengerasan jaringan
 - Memberikan pengaruh yang baik saat pewarnaan
3. Proses berikutnya setelah jaringan diawetkan adalah dehidrasi, dimana air dikeluarkan dari dalam jaringan agar jaringan tersebut dapat diisi dengan parafin sehingga jaringan mudah diiris tipis-tipis.

Larutan yang digunakan dalam dehidrasi ini adalah alkohol dari konsentrasi yang rendah sampai pada konsentrasi absolute (70% ke 80% ke 90% ke 100%) masing-masing 3 hari. Dalam hal ini organ harus terendam semua di dalam alkohol.

Alasan penggunaan konsentrasi alkohol dari yang rendah ke yang tinggi supaya proses dehidrasi tidak terlalu cepat yang akan merusak mukosa (jaringan lunak) dan supaya tidak menimbulkan artefack yang akan mengganggu diagnosis.

4. Setelah proses dehidrasi dilakukan clearing pada organ tersebut. Clearing dilakukan dengan xylol selama 30 menit sebanyak 2 kali.

Clearing dilakukan dalam xylol sebanyak dua kali karena pada perendaman xylol pertama kemungkinan alkohol masih ada, sehingga dilakukan clearing pada xylol kedua agar alkohol benar-benar tidak ada lagi pada organ.

Fungsi xylol adalah untuk menarik alkohol, mempersiapkan bagian organ untuk pembedaan (memasukkan parafin) karena xylol menyebabkan sitoplasma kosong dan hanya terdiri bagian padat saja.

Yang perlu diperhatikan adalah perendaman tidak boleh terlalu lama pada xylol karena dapat memberikan warna kehitaman pada bagian organ.

5. Setelah bening bagian organ dimasukkan ke dalam parafin cair yang proses ini disebut pembedaan (*impregnation/embedding*). Parafin yang digunakan adalah parafin yang mencair pada suhu 56 – 59 °C, pembedaan dilakukan sebanyak 3 kali pemindahan wadah dengan waktu \pm 3 jam (masing-masing 1 jam untuk setiap wadah parafin).

Tujuan dari pembedaan dilakukan pemindahan wadah parafin sebanyak 3 kali supaya ada waktu resting bagian yang dibenamkan dan praktikan lebih siaga dengan waktu.

6. Proses selanjutnya adalah pengecoran (*blocking/casting*), yaitu proses pembuatan blok parafin, yaitu dengan menggunakan cetakan besi berbentuk L dengan menuangkan parafin secukupnya pada cetakan dan meletakkan jaringan pada dasar cetakan. Hindari terjadinya gelembung udara. Proses ini dibiarkan selama 1 malam agar parafin benar-benar membeku.

7. Langkah selanjutnya adalah mengiris blok parafin dengan menggunakan mikrotom. Mikrotom diatur sedemikian rupa hingga diperoleh potongan-potongan jaringan yang tipis (dengan ketebalan 7 μ m).

8. Setelah diperoleh potongan-potongan jaringan, jaringan dimasukkan ke dalam waterbath menggunakan sengkeli dengan suhu 40⁰-50⁰ yang tujuannya untuk menghilangkan parafin dan mengembangkan potongan sehingga kerutan atau lipatan dapat hilang.

9. Langkah selanjutnya menyiapkan kaca objek yang telah diolesi dengan alat perekat berupa putih telur (Albumin dan gliserin), kaca objek yang telah diolesi perekat dicelupkan ke dalam waterbath dengan perlahan tempelkan pita parafin pada kaca objek, usahakan potongan jaringan berada pada tengah kaca objek, setelah menempel angkat kaca objek dan dibiarkan kering semalaman dalam suhu kamar.

10. Proses berikutnya adalah pewarnaan. Sebelumnya dilakukan deparafinisasi dengan xylol sebanyak dua kali dengan waktu masing-masing 5 menit. Kemudian hidrasi dengan alkohol 100 %; 90 %; 80 %; 70 % masing-masing selama 2 menit dan sebanyak dua kali pemindahan. Kemudian siram dibawah air mengalir selama 3 menit. Lalu diinkubasi dalam larutan *haematoxylin* selama 5 menit. Setelah itu cuci dibawah air mengalir selama 5 menit, lalu inkubasi dalam larutan *eosin* selama 3 menit.
11. Setelah proses pewarnaan dengan HE dilakukan dehidrasi kembali dengan alkohol bertingkat mulai 70 – 100 % masing-masing selama 2 menit dan masing-masing konsentrasi dilakukan dua kali. Kemudian inkubasi kembali dalam xylol selama 2 x 2 menit.
Dalam penggunaan xylol apabila jaringan masih mengandung air, maka xylol akan mengeruh sebentar.
12. Setelah proses dehidrasi kembali jaringan ditutup (*mounting*) dengan balsam Kanada dan tutup dengan *deck glass* sampai tidak ada air bubbly (gelembung udara) karena apabila masih mengandung air akan terjadi penghitaman pada jaringan.
13. Pemberian Label
14. Sediaan siap diamati di bawah mikroskop.

Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan:

1. Semua alat yang digunakan dalam praktikum tidak berbentuk plastik karena plastik dapat larut dalam xylol.
2. Untuk memperoleh hasil potongan atau irisan yang baik, pisau yang digunakan harus tajam.
3. Pengaturan potongan tidak boleh terlalu tebal karena dapat mengakibatkan jaringan double pada satu irisan dan akan mengacaukan pengamatan.
4. Xylol selain membeningkan jaringan berfungsi juga untuk menghilangkan alkohol, parafin dan air yang terdapat pada jaringan.
5. 2 hal tentang kekuatan teknik histoteknik
 - Ⓢ Teknik histoteknik sangat baik untuk melihat jaringan pada percobaan hewan coba. Jadi pada penelitian hewan coba ingin diamati jaringan atau organ hewan coba setelah sejumlah perlakuan, maka teknik ini sangat membantu.
 - Ⓢ Teknik ini cukup sederhana dan terdapat beberapa pilihan proses dan bahan kimia yang hendak digunakan, tergantung waktu yang diinginkan cepat atau lambat. Misalnya penggunaan aseton dan alkohol untuk proses dehidrasi (Aseton lebih cepat dalam proses dehidrasi dibanding dengan alkohol).

6. 2 hal tentang kelemahan teknik histoteknik

- ④ teknik ini tidak dapat digunakan pada penelitian menggunakan cairan tubuh seperti darah atau serum.
- ④ Teknik ini membutuhkan kemampuan yang baik dalam mengenali bagian-bagian jaringan, dalam hal ini pengetahuan histologi sangat penting dimiliki peneliti, atau setidaknya peneliti memiliki bantuan untuk membaca dan menginterpretasikan hasil jaringan di bawah mikroskop.

7. Penting untuk memahami mana yang normal dan mana yang patologis.

Saran:

1. Mungkin bisa menambahkan waktu praktikum dengan susunan jadwal tertentu agar mahasiswa dapat mengerjakan dan mengawasi keseluruhan proses teknik histoteknik ini.

Penilai

Dr. Esther R. Sitorus, Sp.PA
19711208 200312 2 001