

LAPORAN PRAKTIKUM HISTOTEKNIK

OLEH: KAROLINA BR SURBAKTI

PROGRAM MAGISTER BIOMEDIK

TANGGAL PRAKTIKUM; JUMAT 21 SEPTEMBER 2012

PENDAHULUAN:

Histoteknik adalah metoda membuat sajian dari specimen tertentu melalui suatu rangkaian proses hingga menjadi preparat histology yang baik dan siap untuk dianalisis.

Spesimen dapat berasal dari manusia dan hewan. Preparat yang baik dapat digunakan untuk mempelajari peran sel/jaringan dalam keadaan fisiologi atau patologi, dan dapat juga mempelajari perubahan sel jaringan akibat suatu perlakuan pada penelitian serta sebagai alat bantu diagnosis penyakit.

TUJUAN :

1. Melatih praktikan untuk menyiapkan preparat histologi menggunakan jaringan yang disediakan
2. Melatih praktikan dalam proses dehidrasi, pembenangan dan pembedaan jaringan
3. Melatih praktikan dalam proses pengirisan preparat dari blok parafin, mewarnai dengan Haematoxylin dan Eosin
4. Menganalisa preparat yang telah diproses dengan menggunakan mikroskop

CARA KERJA

1. Pengawetan (Fixation) dilakukan dengan merendam bahan/jaringan dalam larutan formalin.

Pengawetan (fiksasi) adalah unsur penting pada pembuatan preparat jaringan karena unsur tersebut tidak terlarut, berpindah, atau terdistorsi selama prosedur berlangsung. Efek fiksasi terhadap jaringan yang diproses adalah menghambat proses pembusukan dan autolysis, pengawetan jaringan, pengerasan jaringan, pemadatan koloid, diferensiasi optik, dan berpengaruh terhadap pewarnaan.

Ada 5 kelompok utama bahan pengawet yang dikelompokkan menurut mekanisme kerja, yaitu aldehydes, mercurials, alcohols, oxidizing agents, dan picrates. Larutan formalin adalah golongan aldehydes dan merupakan larutan fiksasi yang paling sering digunakan.

2. Dehidrasi (Dehydration): setelah jaringan diambil /dipotong sesuai dengan yang kita butuhkan maka dilakukan dehidrasi dengan memasukkan jaringan tersebut kedalam alkohol 70%, 80%, 90%, masing-masing 1 hari; alkohol 95% 2 hari (2x ganti); alkohol 100 % 2 hari (2x ganti).

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.

3. Pembeningan (Clearing): menggunakan xylol sebanyak 2X dengan masing-masing waktu 30 menit
4. Pembenaman (Impregnasi/Embedding):

Impregnasi adalah proses pengeluaran cairan pembening dari jaringan dan menggantikannya dengan paraffin. Dilakukan dengan menggunakan paraffin oven.

Pembenaman dilakukan dengan cara; pembenaman paraffin I selama 2 jam, pembenaman

paraffin II selama 1 jam, pembenaman paraffin III selama 2 jam

5. Pengecoran (Blocking): Preparat jaringan ditanam ke dasar blok paraffin dengan menggunakan besi potongan berbentuk L (leuckhart). Caranya susun 2 buah potongan besi di atas lembaran logam sehingga membentuk ruang kubus, kemudian tuangkan sedikit parfin cair di bagian pinggir agar tidak bocor, selanjutya letakkan jaringan sesuai dengan keinginan pada saat jaringan akan diiris nantinya, kemudian tuangkan paraffin sampai menutupi jaringan seluruhnya.
6. Pemotongan jaringan (Sectioning): pemotongan jaringan menggunakan alat mikrotom sesuai tebal irisan yang diinginkan agar mempermudah proses analisa dibawah mikroskop.
7. Pewarnaan (Staining): jaringan yang sudah dipotong dimasukkan kedalam water bath suhu 40 – 50 derajat celcius, kemudian diletakkan diatas objek glass (objek gelas lebih dahulu diberi albumin untuk merekatkan preparat), kemudian direndam dalam xylo1 selama 5-7 menit (2x), selanjutnya dicelupkan kedalam alcohol 100%, lalu alcohol 90%, 80%, 70% (2x) kemudian inkubasi kedalam Haematoxylin selama 5 menit. Cuci dengan air keran, inkubasi dengan Eosin selama 3 menit. Cuci dengan air keran. Lalu masukkan kedalam alcohol 70%, 80%, 90%, 100% (2x) lalu celupkan ke Xylo1
8. Perekatan (Mounting): Deck gelas diolesi terlebih dahulu dengan balsam kanada kemudian diletakkan di atas objek gelas tepat di atas jaringan yang ada di objek gelas.
9. Pelabelan (Labelling). Pemberian nama dan tanggal pembuatan preparat tersebut.

KESIMPULAN.

1. Preparat jaringan yang telah diwarnai dapat diamati di bawah mikroskop, preparat ini juga dapat di simpan di tempat penyimpanan preparat, dan jika kita mau mengamati kembali kita tidak perlu membuat preparat yang baru .
2. Jaringan yang didalam paraffin (blocking) dapat disimpan dalam waktu yang cukup lama sehingga dapat dilakukan pemeriksaan sewaktu-waktu pada jaringan yang telah disimpan dan diawetkan dalam blok parafin karena kalau dalam blok paraffin morfologi jaringan tidak rusak dan berubah.
3. Dengan menggunakan tehnik histoteknik memudahkan praktikan dalam mengenal dan memberikan gambaran tentang jenis sel, perubahan dari sel sehat dan sel yang mengalami kelainan.
4. Bahan-bahan yang digunakan dalam histoteknik ini mudah didapatkan dan relatif tidak terlalu mahal sehingga tidak terlalu sulit jika melakukan penelitian dengan menggunakan histoteknik mounting.

SARAN

1. Proses dalam histoteknik ini membutuhkan waktu yang lama, dalam proses dehidrasi saja membutuhkan waktu 7 hari pada masing-masing alkohol dengan konsentrasi yang semakin lama semakin tinggi.
2. Memerlukan ketelitian dalam melakukan proses histoteknik dalam menentukan bagian yang akan diiris (bagian perifer, bagian tengah atau bagian dalam) dan kesabaran dalam melakukan proses dehidrasi sampai pewarnaan.
3. Dalam praktikum perlu ditunjukkan pada paratikan bagaimana jaringan normal dan jaringan yang patologis