



# PRAKTIKUM Sitohistoteknologi

Sodikin Kurniawan

[www.sodiy.com.id](http://www.sodiy.com.id)

## PERTEMUAN

*Pengecatan HE*

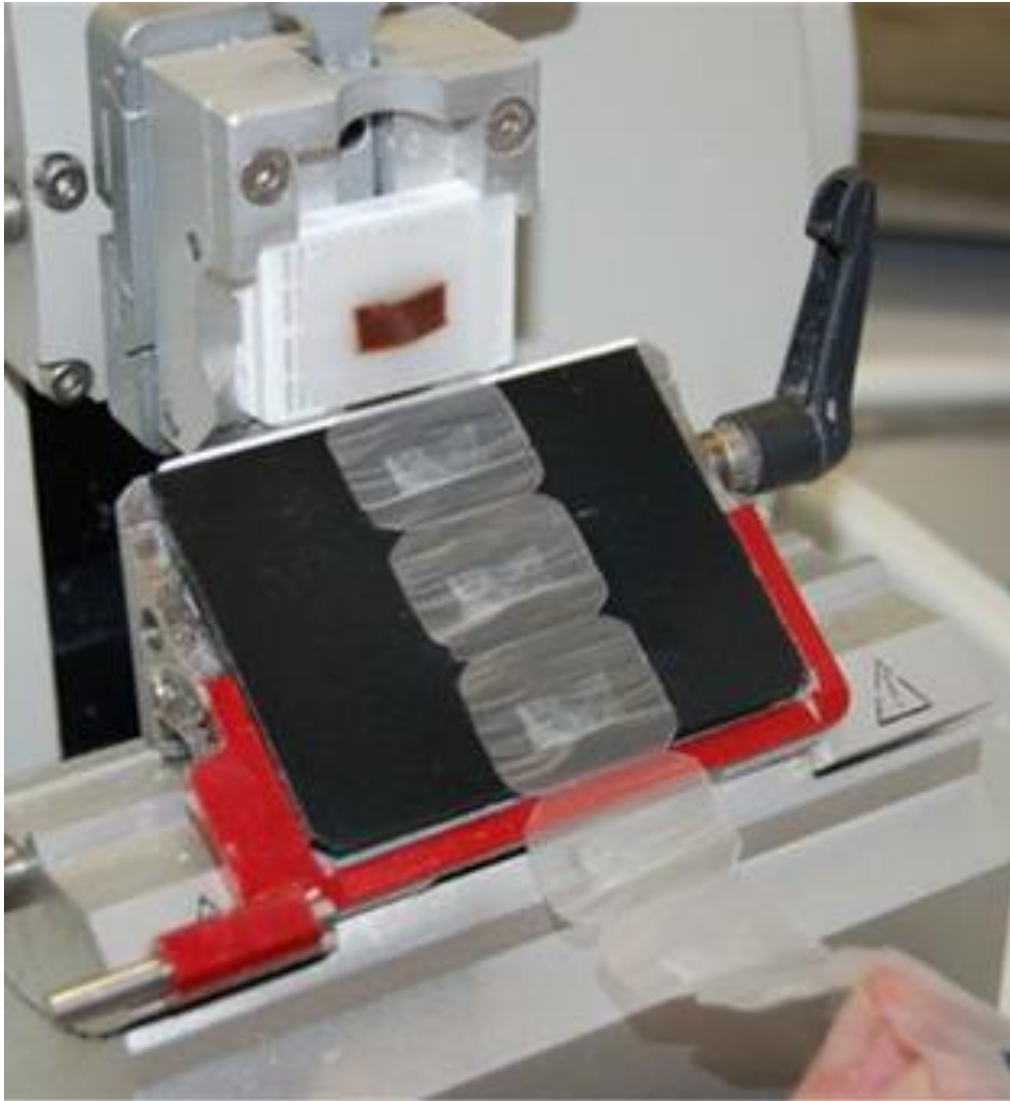
*Lecture prepared by Sodikin Kurniawan, Muhammadiyah University of Semarang*

# Prosesing Jaringan

---

- Fiksasi
- Pemotongan & Identifikasi
- Diklasifikasikan
- Dehidrasi
- Clearing
- Infiltrasi/Impregnasi
- Embedding
- Pemotongan
- Staining

# Pemotongan



# Pewarnaan Rutin Histology

Pewarnaan yang paling umum digunakan di laboratorium histology (Haemotoxylin dan Eosin).

Jenis preparat termasuk : *frozen sections, fine needle aspirates, and paraffin fixed embedded tissues.*

- Dewaxing
- Rehydration
- Hematoxylin
- Differentiation
- Bluing
- Eosin
- Dehydration
- Clearing
- Cover-slipping

# Haematoxylin



Haematoxylin – mewarnai struktur **anionik atau asam** (basofilik) menjadi biru keunguan.

Haematoxylin adalah pewarna dasar yang teroksidasi menjadi **hematein** – **Mordan** meningkatkan kemampuan mengikat pada jaringan (mengunkat ionik positif).

**Mordan** – aluminum ammonium sulfate (alum)

Contoh paling sering digunakan : **Mayer's hematoxylin**, Harris hematoxylin.

# Eosin



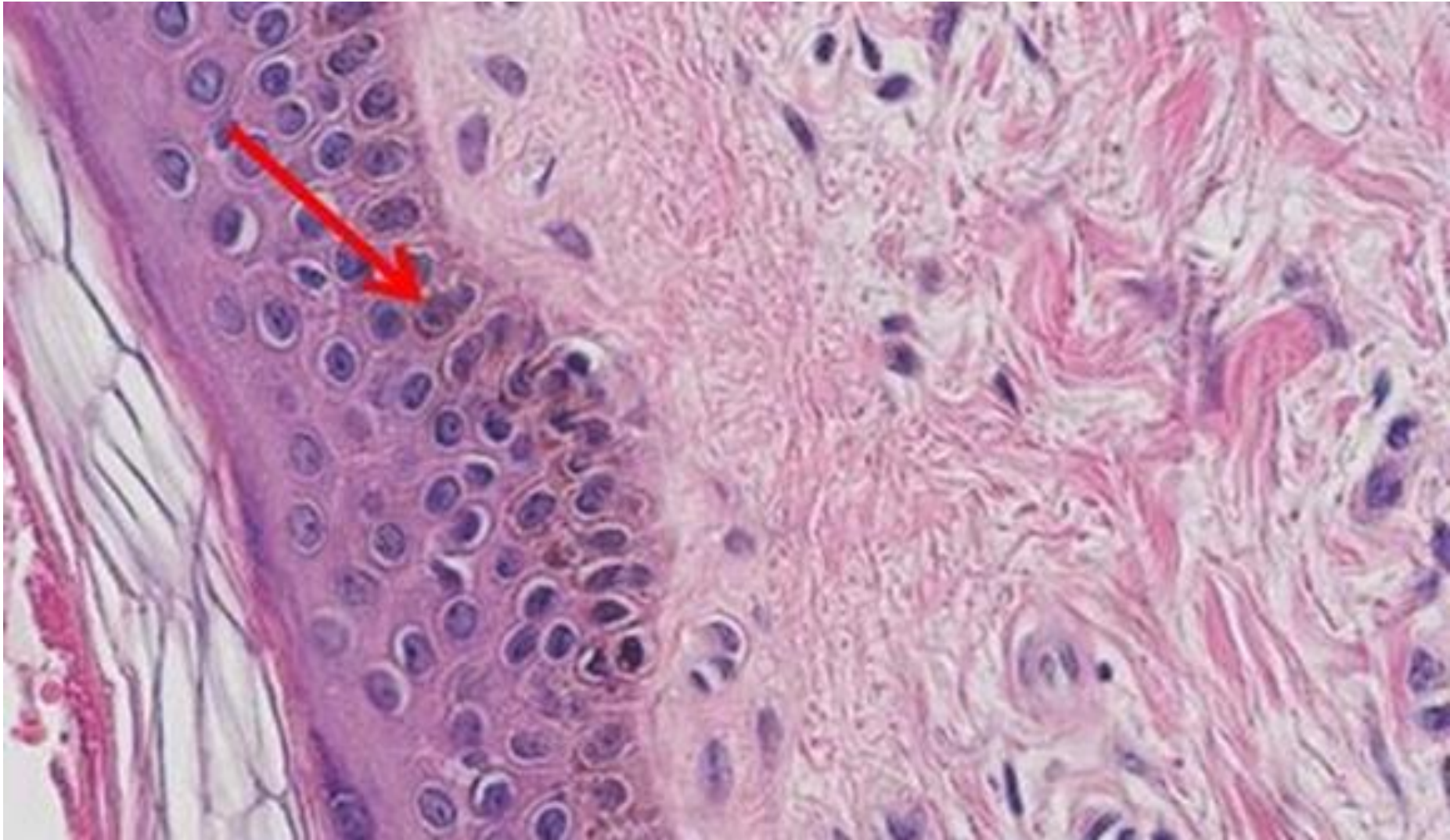
**Eosin** – mewarnai struktur **kationik atau basa** (atau asidofilik) menjadi merah atau merah muda, kadang disebut dengan 'eosinofilik'.

**Eosin Y** – paling sering dipakai – asam asetat (mempertajam) – phloxine (memerahkan)

Selain Eosin Y : EA50 dan EA65, sering digunakan untuk sitologi.



# Hasil Pewarnaan HE - Kulit



# Langkah Pewarnaan



## Dewaxing

Parafin yang bersifat hidrofobik dan tahan terhadap pereaksi air. Langkah pertama dalam melakukan pewarnaan H&E adalah melarutkan semua lilin dengan xylene (pelarut hidrokarbon).

## Rehydration

Kaca objek dilewatkan alkohol bertingkat – menghilangkan xylene, dibilas dengan air. Sehingga pereaksi air akan dengan mudah menembus sel dan elemen jaringan.



# Langkah Pewarnaan



## Hematoxylin

Mewarnai inti dan beberapa elemen lainnya dengan warna ungu kemerahan.

## Differentiation

Menghilangkan pewarna latar belakang berlebihan dan menghilangkan pewarnaan latar belakang yang tidak spesifik dan untuk meningkatkan kontras menggunakan Alkohol asam lemah. Setelah perawatan ini, diperlukan bluing.

# Langkah Pewarnaan



## Bluing

Setelah dibilas dengan air keran, menggunakan larutan alkali lemah sebagai bluing. Langkah ini mengubah hematoxylin menjadi warna biru tua.

## Eosin

Sekarang diwarnai dengan larutan eosin berair atau beralkohol (tergantung pada pemakaiannya). Mewarnai elemen selain inti sel menjadi warna merah – merah muda.

# Langkah Pewarnaan



## Dehydration

Setelah pewarna eosin, kaca objek dimasukkan dalam alkohol bertingkat menghilangkan air,

## Clearing

Kemudian dibilas dalam rendaman xylene membuatnya benar-benar transparan.

## Cover-slipping

Langkah selanjutnya kaca objek ditutup dengan lapisan tipis seperti entelan dan ditutup dengan deck glass, preparat akan stabil selama bertahun-tahun.

# Langkah Pewarnaan





# Pewarnaan HE Yang Baik dan Benar

---

*Lecture prepared by Sodikin Kurniawan, Muhammadiyah University of Semarang*

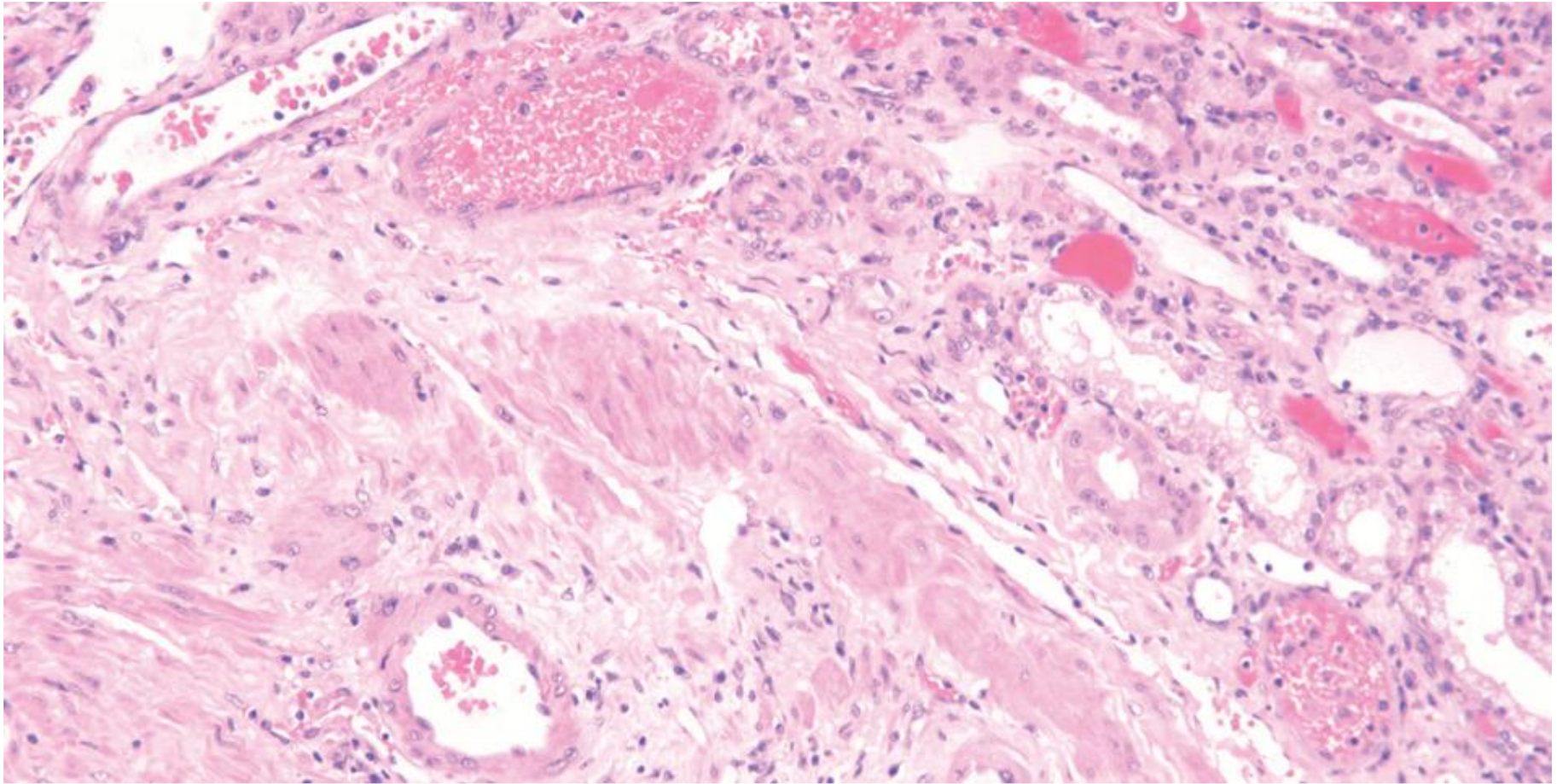
# Langkah 1 – Gunakan Pengaturan Waktu yang Akurat

Waktu pewarnaan diperkirakan dan terburu-buru.



## Langkah 2 – Pantau Kualitas Secara Teratur

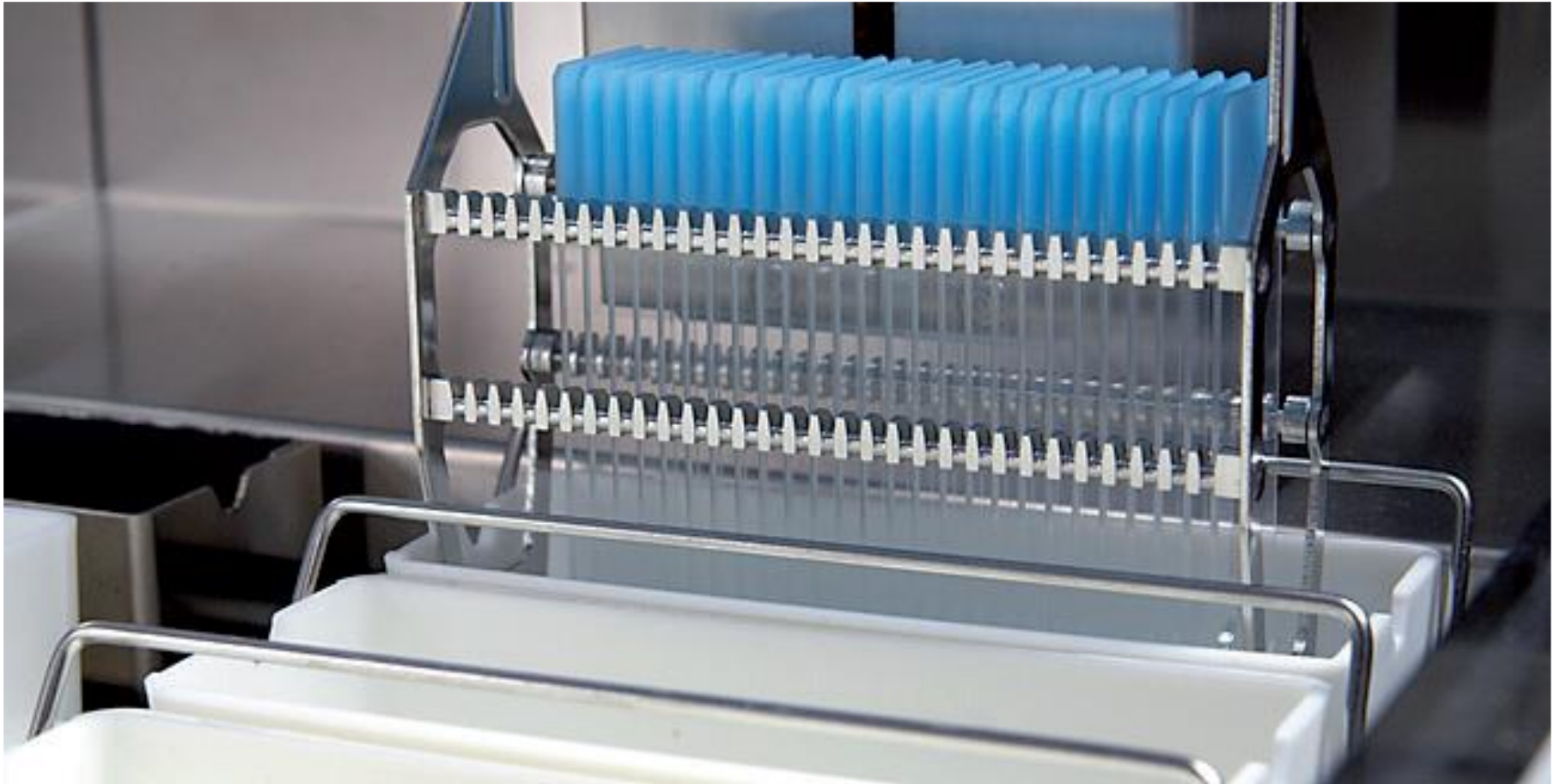
Gunakan slide kontrol untuk menentukan apakah ada masalah pewarnaan yang bisa disebabkan oleh reagen, protokol yang tidak sesuai, atau fiksasi.





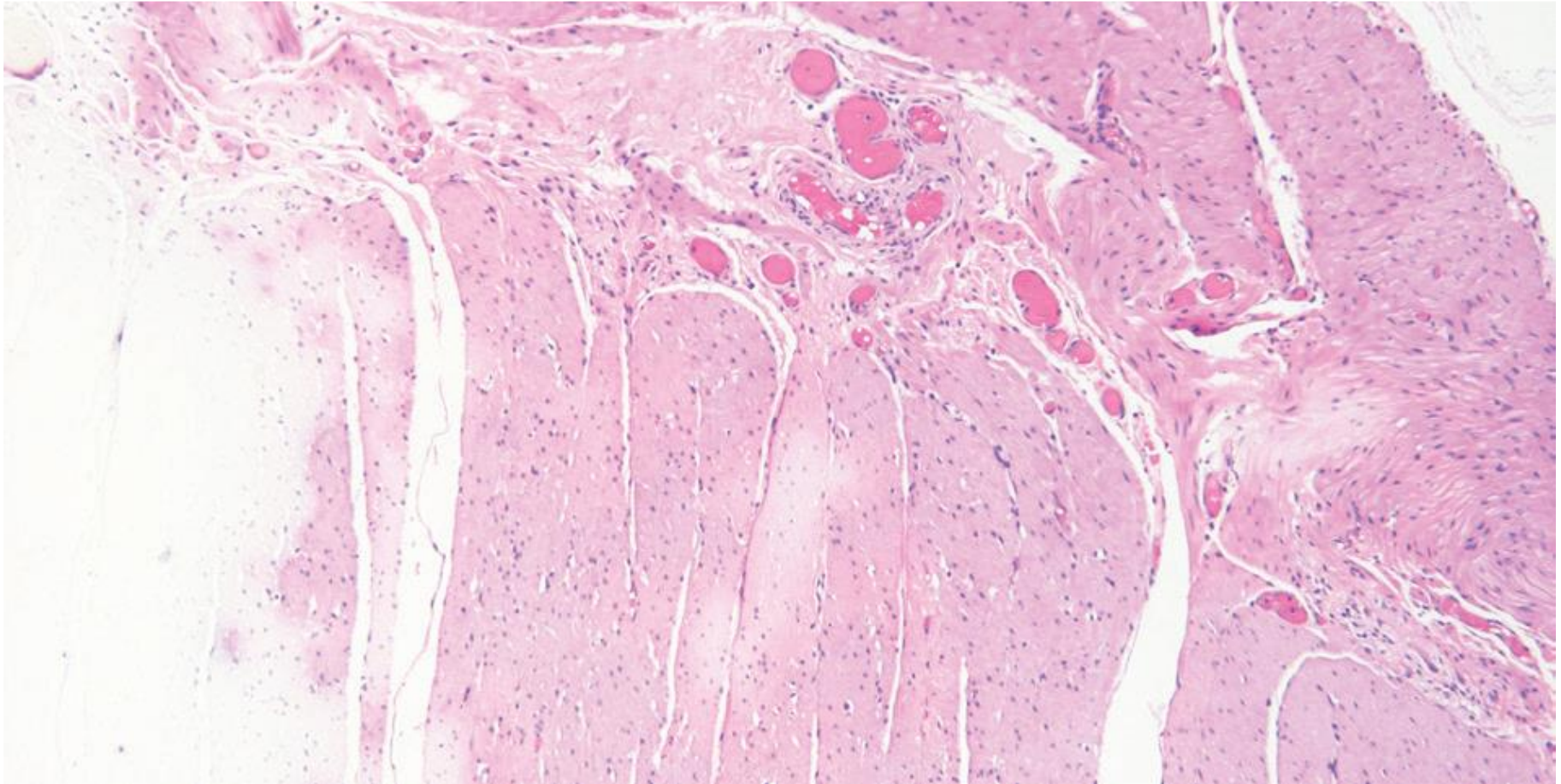
## Langkah 3 – Standarisasi Kondisi Pewarnaan

Waktu agitasi, pencucian dan tiriskan harus benar untuk semua langkah selama pewarnaan agar tidak terkontaminasi.



## Langkah 4 – Pastikan Dewaxing Lengkap

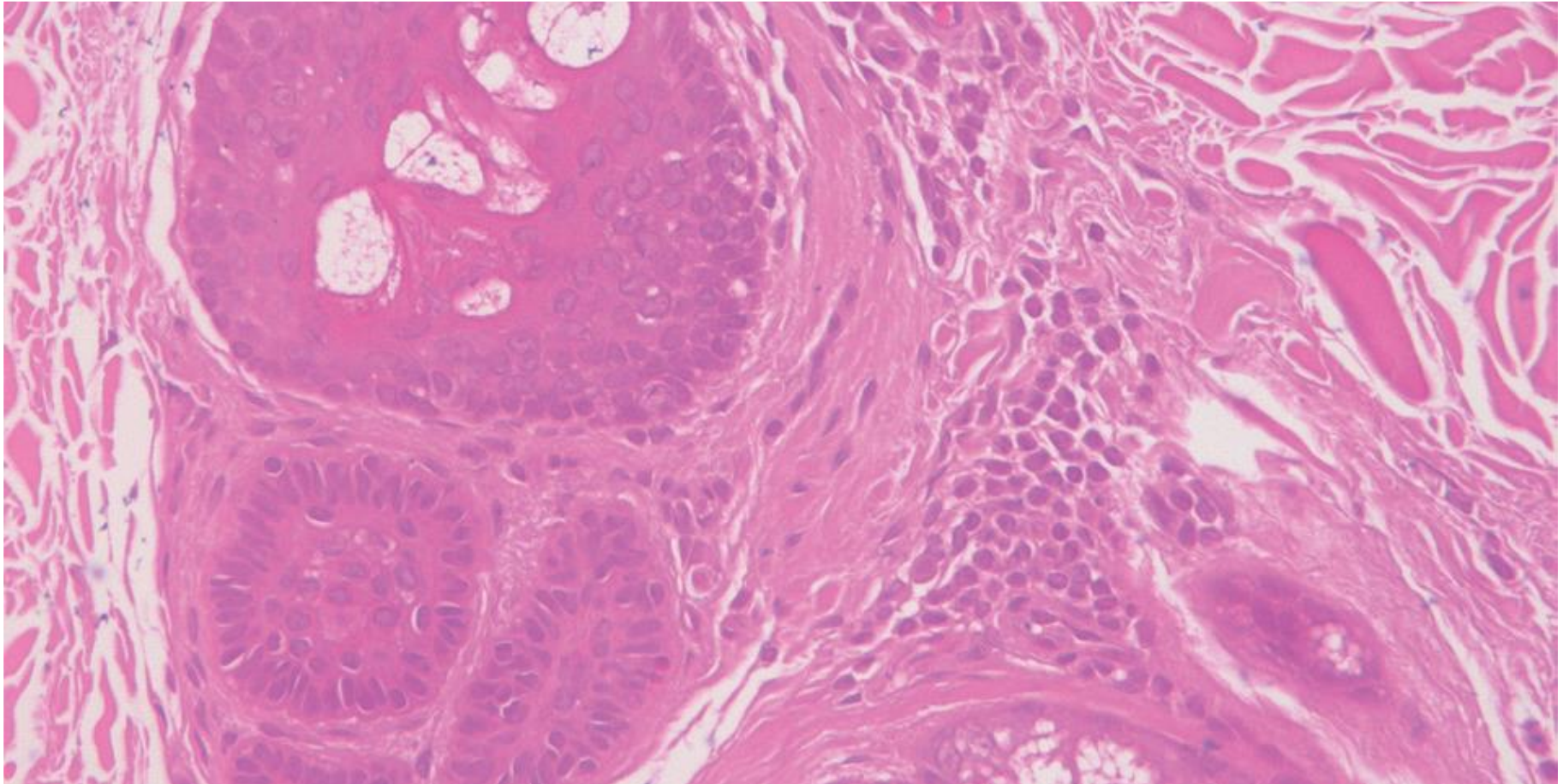
Waktu agitasi, pencucian dan tiriskan harus benar untuk semua langkah selama pewarnaan agar tidak terkontaminasi.





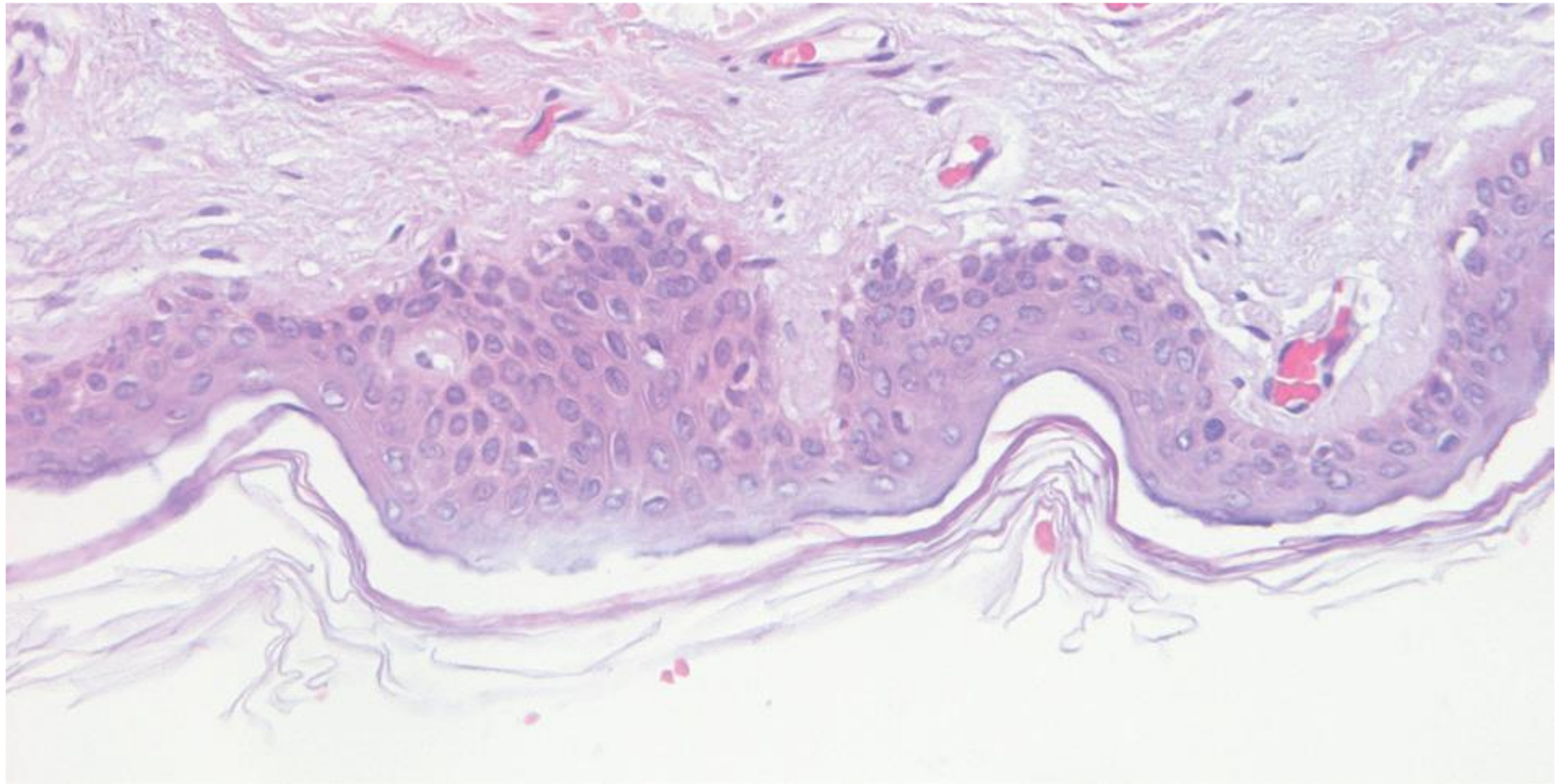
# Langkah 5 – Perbarui Reagen Secara Teratur

Pelarut dan reagen pewarnaan diganti secara teratur berdasarkan jumlah slide yang diwarnai atau rak yang diproses.



## Langkah 6 – Rehidrasi Secara Menyeluruh

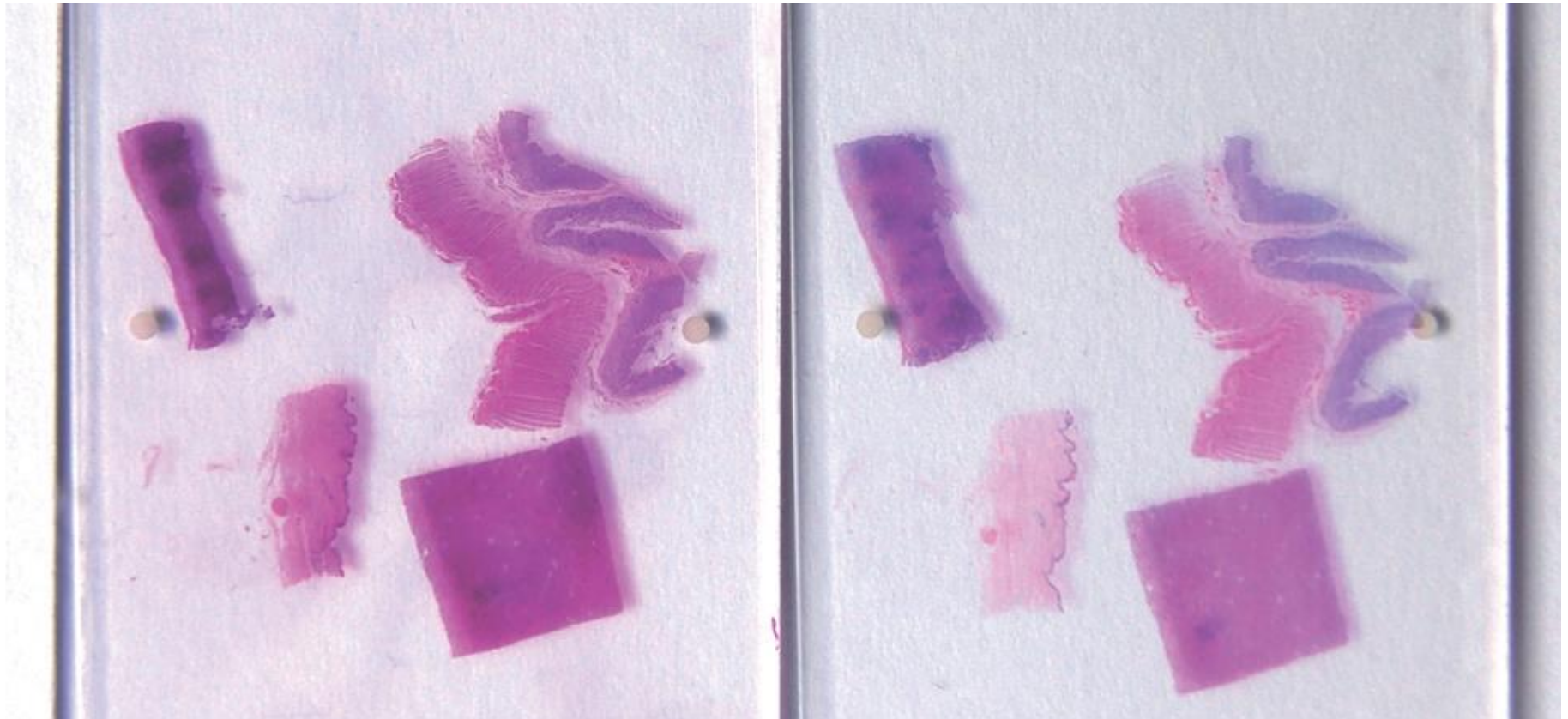
Larutan hematoxylin dengan cepat terkontaminasi alkohol dan xylene. Ini menyebabkan pewarnaan yang tidak merata.





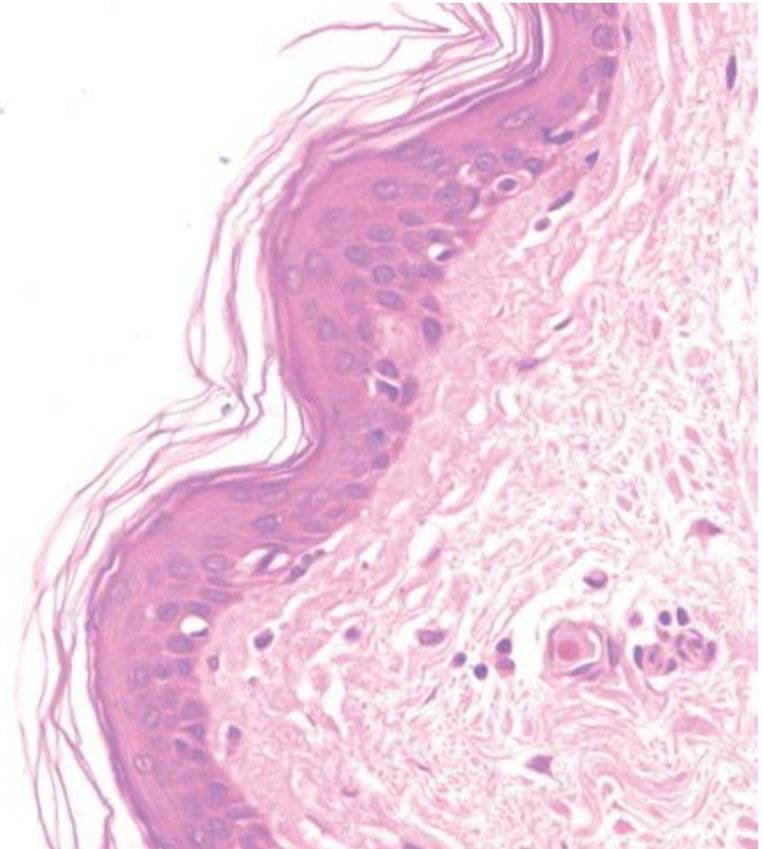
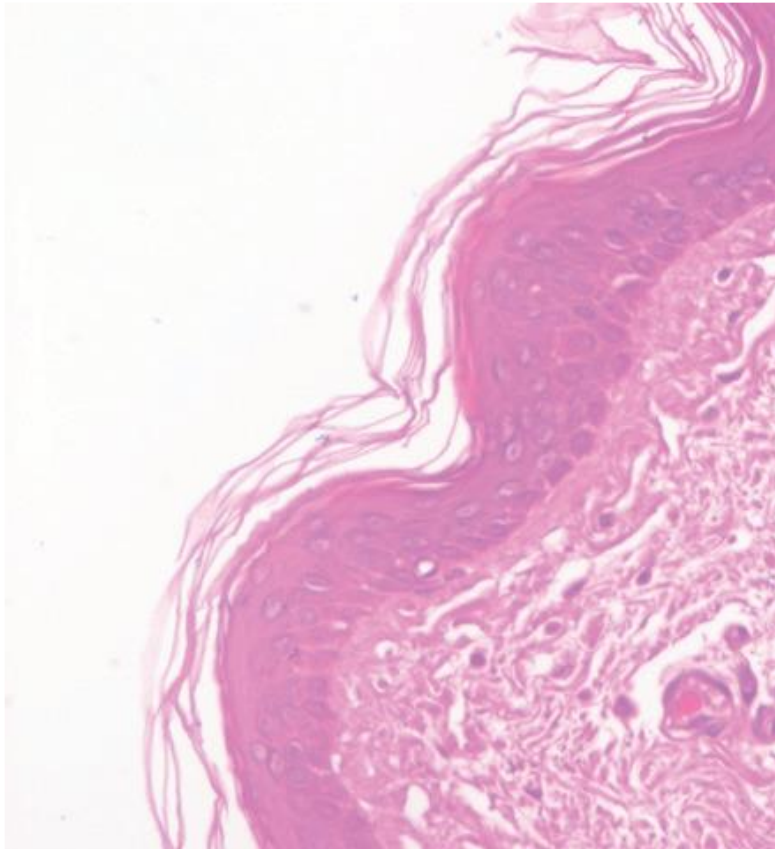
# Langkah 7 – Pantau Kualitas Hematoxylin

Larutan hematoxylin dipantau dengan cermat. Selama masa kerjanya, larutan hematoksin secara progresif diencerkan dengan terbawa dari slide dan rak dan juga dipengaruhi oleh oksidasi yang berkelanjutan.



## Langkah 8 – Pastikan "Blueing" Pada Inti

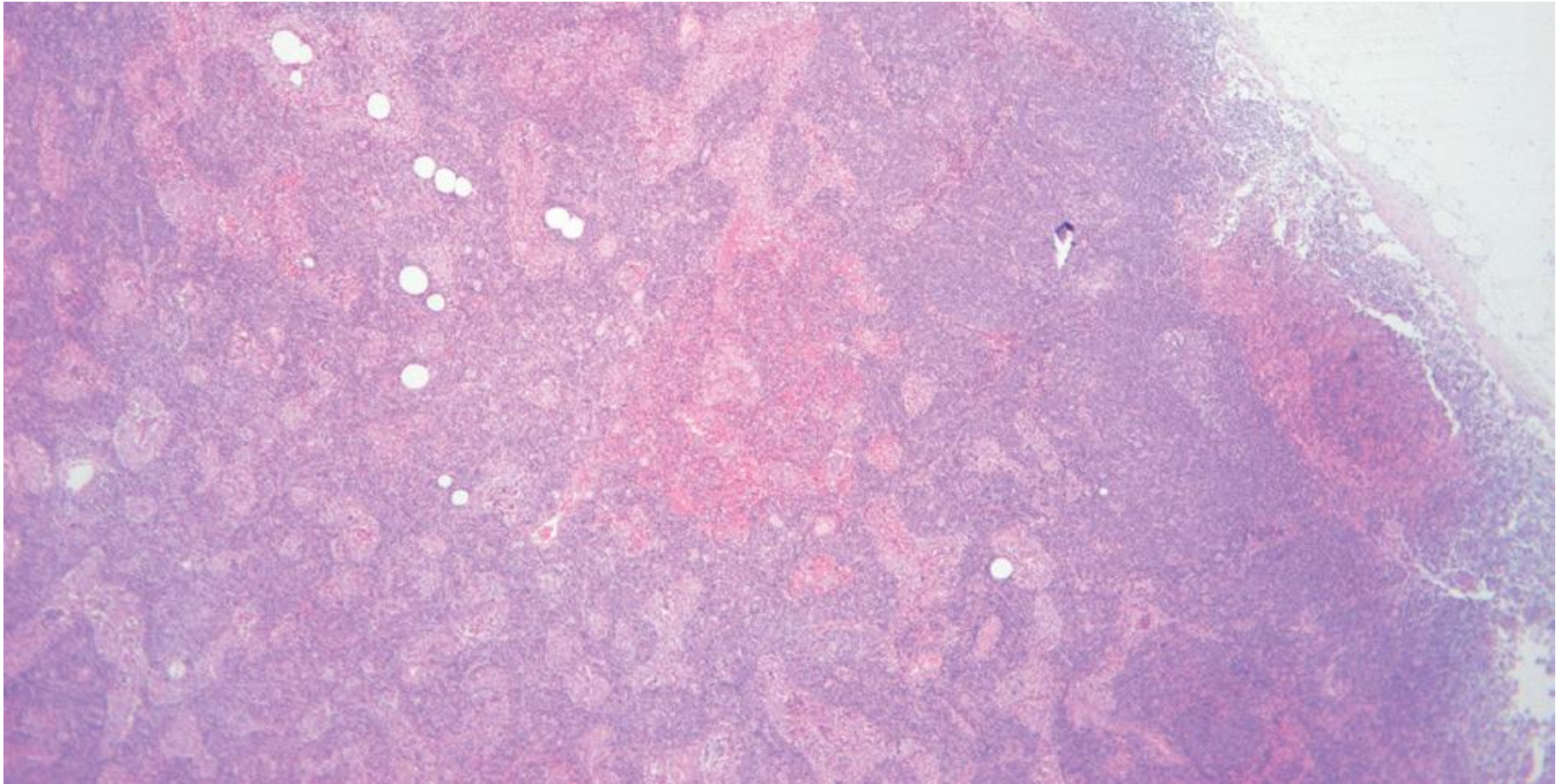
Bluing inti secara menyeluruh dengan air keran, *Scott's Alkaline Tap Water* atau air amonia dilakukan setelah pewarnaan hematoxylin, sangat dipengaruhi oleh pH air keran.





## Langkah 9 – Hindari Pewarnaan Eosin yang Tidak Merata

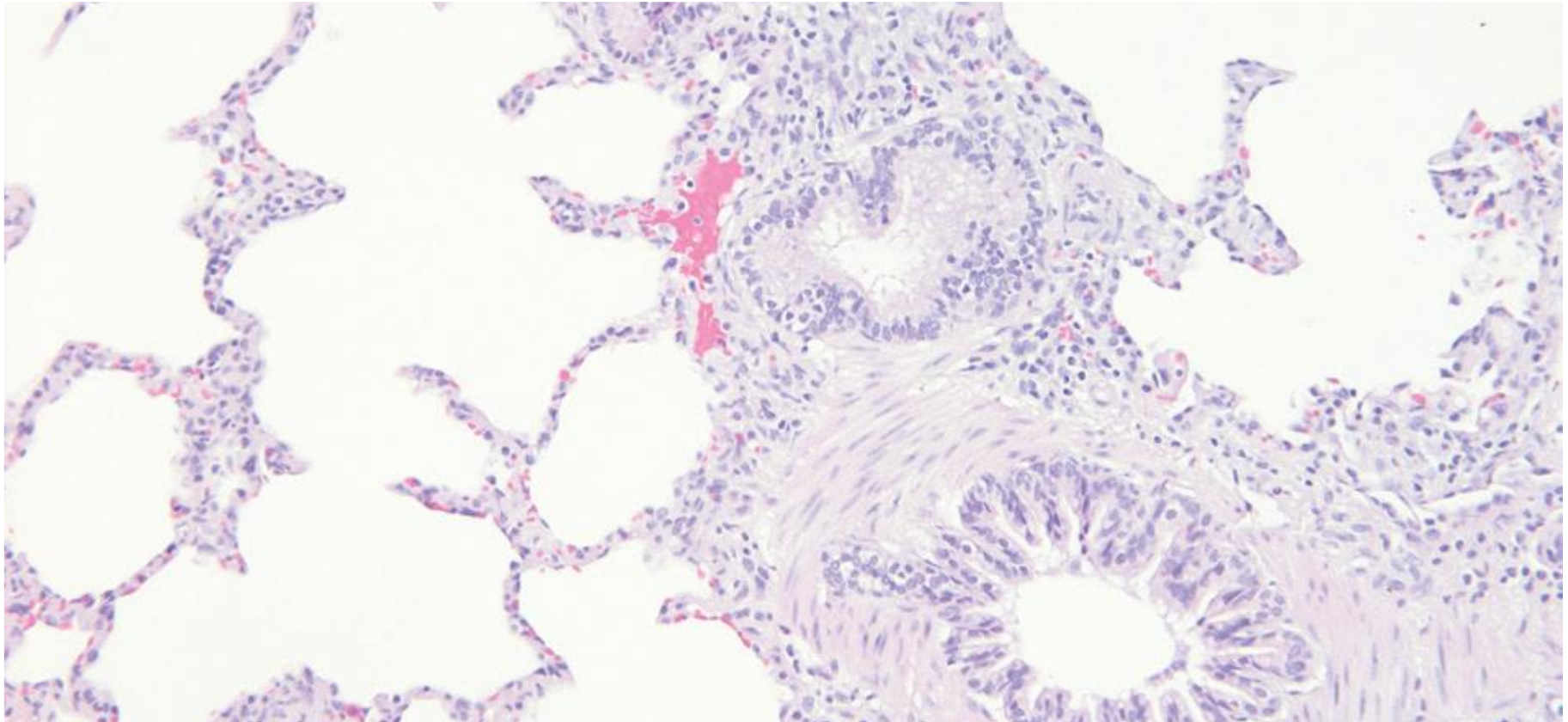
Pencucian yang tidak efisien setelah “blueing” (meninggalkan sisa alkali) menyebabkan pewarnaan eosin menjadi lemah dan tidak merata.





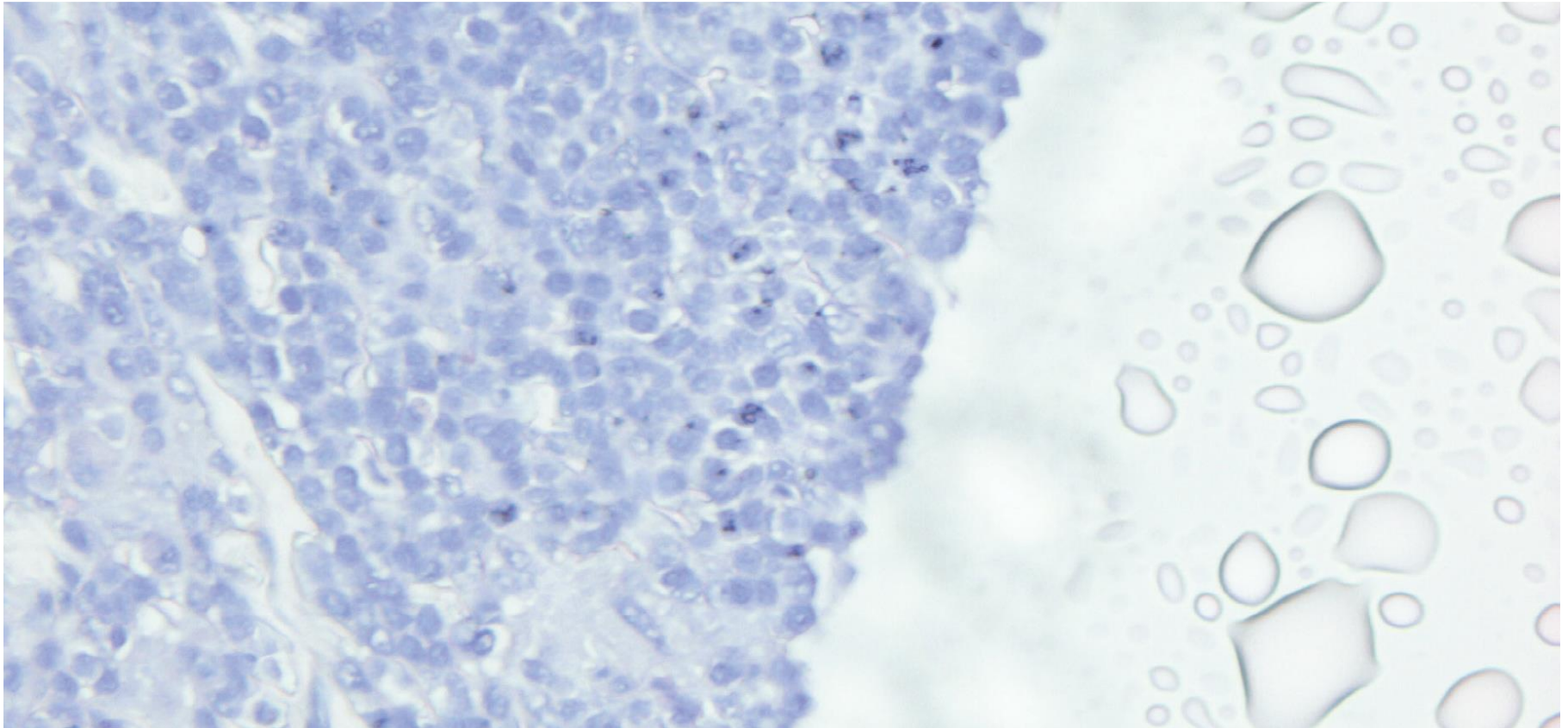
# Langkah 10 – Pantau pH Eosin

PH larutan eosin dijaga agar mendekati pH 5.0 untuk mempertahankan pewarnaan yang optimal. Penambahan beberapa tetes asam asetat dapat digunakan sebagai cara mudah untuk menurunkan pH.



# Langkah 11 – Dehidrasi Sepenuhnya

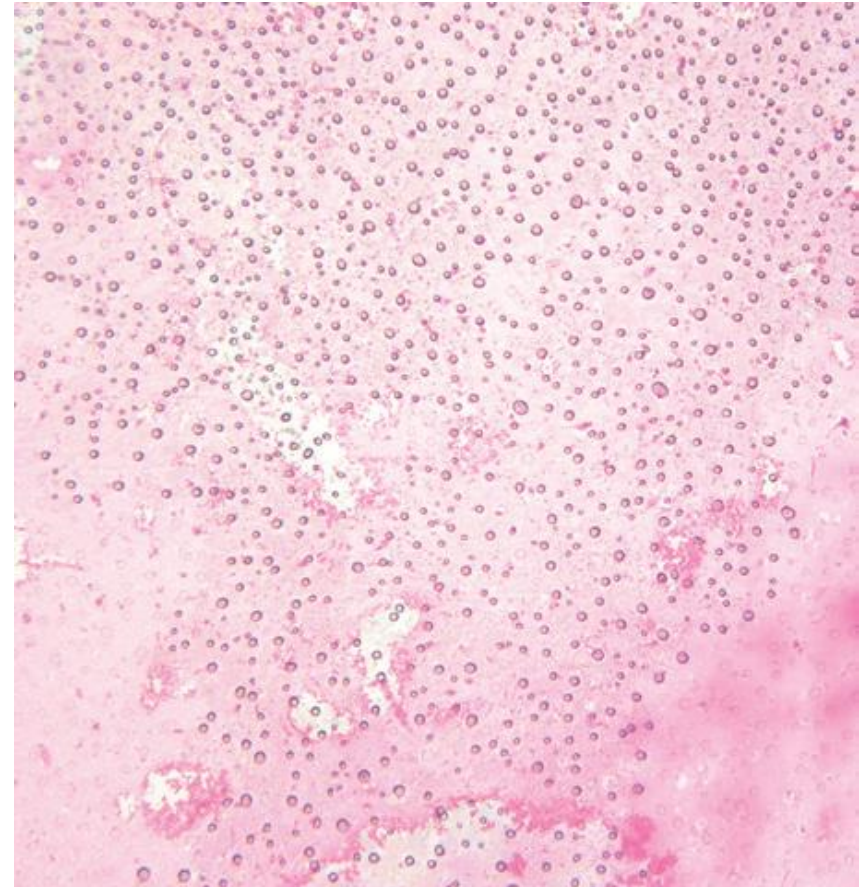
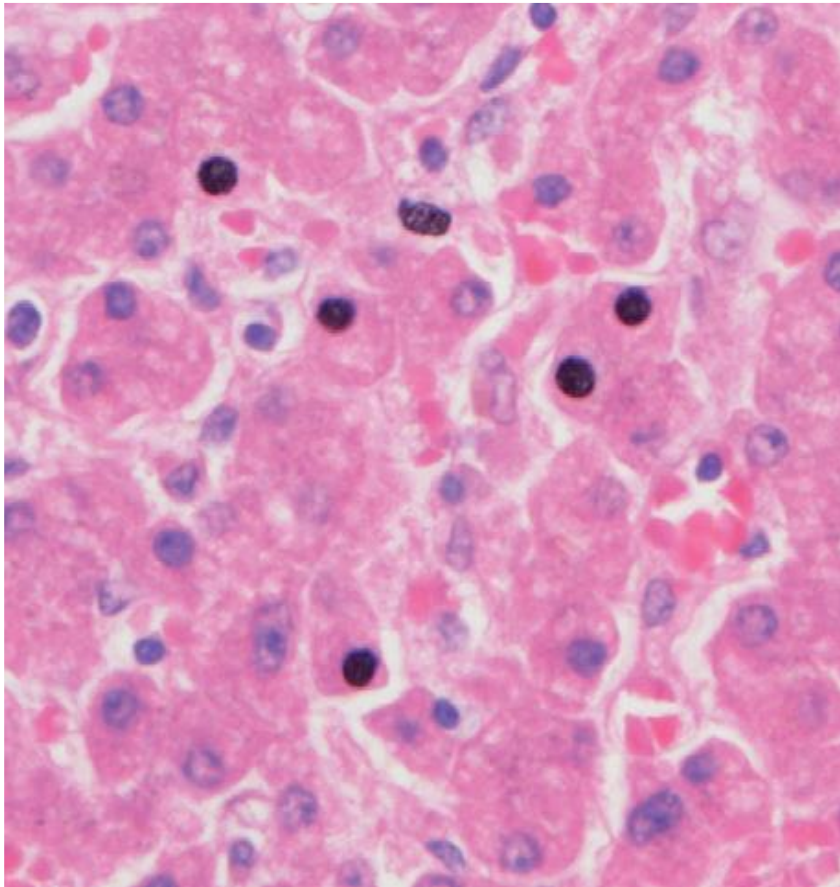
Dari alkohol ke xylene dapat terjadi terkontaminasi dengan air, ini menyebabkan adanya tetesan air kecil di jaringan yang terlihat secara mikroskopis sebagai area buram dan kurang detail.





## Langkah 12 – Hindari Pengeringan

Jika dibiarkan mengering sebelum ditutup menyebabkan inti tampak hitam. Mountant yang dipilih harus bagus jika kurang bagus akan menyebabkan kristal selama penyimpanan jangka panjang.





# TERIMA KASIH

Sodikin Kurniawan

[www.sodiy.com.id](http://www.sodiy.com.id)

**PERTEMUAN**

*Pewarnaan HE*

*Lecture prepared by Sodikin Kurniawan, Muhammadiyah University of Semarang*