

Persiapan dan pengiriman sampel ikan untuk histologi

Perlengkapan Pelindung

Menyiapkan spesimen untuk histologi berkaitan dengan barang-barang kimia berbahaya. **Selalu gunakan sarung tangan dan kacamata pelindung** saat menangani fiksatif (dan komponen-komponen fiksatif) selama proses fiksasi.

Alat dan Bahan

- Sarung tangan sekali pakai
- Kacamata pelindung
- Tabung kimia dengan ukuran yang sesuai dengan spesimen yang akan diteliti
- Cairan fiksatif (*misalnya*, formalin 10%, ethanol, *dsb.*)
- Perlengkapan bedah (pisau bedah, gunting bedah, penjepit, *dsb.*)
- Label-label
- Pensil

Pengambilan Sampel

Ini merupakan salah satu tahap yang paling kritis dari keseluruhan proses. Apabila langkah pengambilan sampel dan penentuan sampel tidak dilaksanakan dengan benar, maka hasil akhir akan kurang baik atau tidak konsisten.

Dua jenis pengambilan sampel

1. *Random sampling*: pengambilan sampel untuk menyaring populasi;
2. *Non-random sampling*: pengambilan sampel untuk diagnosa penyakit.

Random sampling untuk menyaring populasi

Tentukan ukuran sampel yang dibutuhkan menggunakan tabel berikut (lihat **Tabel 1**). Pada tabel, terdapat ukuran sampel berdasarkan populasi, bergantung pada prevalensi penyakit (tingkat kepercayaan 95%).

Table 1. Ukuran sampel determinasi

Ukuran Populasi	Ukuran sampel yang dibutuhkan untuk mendeteksi prevalensi						
	2%	5%	10%	20%	30%	40%	50%
50	50	35	20	10	7	5	2
100	75	45	23	11	9	7	6
250	110	50	25	10	9	8	7
500	130	55	26	10	9	8	7
1,000	140	55	27	10	9	9	8
1,500	140	55	27	10	9	9	8
2,000	145	60	27	10	9	9	8
4,000	145	60	27	10	9	9	8
10,000	145	60	27	10	9	9	8
>=100,000	150	60	30	10	9	9	8

Non-random sampling - pengambilan sampel untuk diagnosa penyakit

Hanya menggunakan spesimen hidup atau spesimen yang hampir mati yang memiliki gejala terserang penyakit untuk pemeriksaan histologi. Jangan menggunakan sampel dari spesimen yang sudah mati!

Menetapkan sampel ikan untuk histologi

- Bius ikan **satu per satu** menggunakan zat anestetik yang pas (misalnya, minyak cengkeh dengan 95% campuran ethanol pada 40-100 mg/l) lalu proses sampel tersebut sebelum membius dan memproses ikan yang kedua. Gunakan pisau bedah baru untuk tiap kumpulan sampel ikan (atau tiap 10 spesimen). Semua spesimen harus direndam **segera** dalam formalin 10% dingin. Direkomendasikan, sekurang-kurangnya gunakan 10 takaran cairan fiksatif untuk tiap potongan sampel 24 jam sebelum diproses.
- **Benih Ikan**, semua yang berukuran kurang dari 3 cm dapat langsung ditaruh secara utuh ke dalam cairan fiksatif.
- Untuk **ikan yang panjang badannya lebih besar dari 3 cm**, irislah tubuh ikan tersebut sedemikian rupa sehingga dapat memungkinkan cairan fiksatif masuk ke lapisan jaringan tubuh yang lebih dalam. Misalnya, gunakan sepasang gunting untuk membuka perut ikan agar organ dalam dapat langsung dijangkau oleh cairan fiksatif.
- Untuk **ikan yang panjang badannya lebih besar dari 10 cm**, kirimlah satu sampel sirip, satu mata, satu blok otot ikan termasuk rusuk (blok ini tidak boleh lebih besar dari 7 mm panjang x 7 mm lebar x 5 mm kedalaman irisan), lengkung insang yang kedua, jantung, satu potong limpa, hati, ginjal beserta otot yang mengelilinginya, dan, potongan-potongan sistem usus (depan, tengah dan belakang). Semua sampel jaringan dari seekor ikan tersebut harus disimpan dalam sebuah tabung kimia (dengan penutup anti bocor).

- Beri label secara seksama ke masing-masing sampel (gunakan pensil, jangan gunakan tinta atau pena tinta), sertakan tanggal fiksasi, cairan fiksatif yang digunakan, spesies dan informasi terkait unit pemeliharannya.

Jaga agar formalin tetap dingin formalin untuk mendapatkan hasil yang lebih baik

Fiksasi organ dan jaringan yang lebih baik didapat saat formalin terjaga pada temperatur yang lebih dingin. Simpan semua cairan formalin dalam sebuah lemari/kotak pendingin sebelum digunakan. Saat bekerja di lapangan, simpan formalin didalam kotak gabus pendingin dengan es untuk menjaga temperatur tetap dingin. Jaringan sampel harus di-fiksasi pada rasio 1 jaringan dengan sekurang-kurangnya 9 formalin. Saat bekerja di lapangan, disarankan agar formalin dalam tiap pot diganti dengan formalin yang lebih segar dingin 6 – 12 jam setelah memulai fiksasi sampel jaringan dan organ.

Peringatan: Saat bekerja menggunakan formalin, gunakan sarung tangan karet sekali pakai dan kacamata pelindung. Kerjakan pada ~~tempat~~ ruang berventilasi baik dan hindari agar jangan menghirup uap formalin.

Kirim sampel lewat pos ke FVGAL

Untuk mengurangi berat sampel dan untuk mengurangi resiko mengirim material mengandung formalin melalui pos, segera buang cairan fiksatif formalin setelah sampel di-fiksasi minimum 24 jam setelah fiksasi, kemudian (pilih salah satu):

- 1) Kembalikan sampel ke tabung sampelnya dengan menambahkan sedikit cairan pada dasar tabung untuk menjaga agar sampel tidak kering selama pengiriman. Pastikan, tutupnya tertutup sempurna. Tempatkan sampel dalam sebuah tas plastik yang kuat, taruh tisu pada dasar tas plastik secukupnya untuk menyerap cairan apabila terjadi kebocoran tabung. Pastikan, tas tersebut tertutup sempurna, kemudian taruhlah semua sampel dalam kotak kardus yang kuat untuk menjaga agar tidak ada sampel yang hancur tertindih dan rusak selama pengiriman.
- 2) Tempatkan sampel dalam satu kantong plastik ber-penutup kedap dan terkunci baik, kemudian lapiasi dengan kantong plastik ber-penutup kedap kedua dan terkunci baik. Lalu, taruh semua sampel anda dalam kotak kardus yang kuat agar tidak ada sampel yang hancur tertindih dan rusak selama pengiriman.

Kami minta agar sampel-sampel tersebut dikirim ke kami sesegera mungkin (**alamat dan instruksi pelabelan pada halaman berikut**). Harap dipastikan nomor telepon anda dan nomor FVGAL tercantum secara jelas pada sisi luar paket.

Cairan Fiksatif

Jika anda membutuhkan cairan fiksatif, silahkan hubungi kantor Fish Vet Group.

Untuk membuat satu liter Formalin 10%

Sodium di-hydrogen orthophosphate (monobasic)	4.0 g
di-sodium hydrogen orthophosphate (dibasic)	6.5 g
Formaldehyde*	100 ml
Water	900 ml

*Harap diperhatikan bahwa formaldehyde dapat menyebabkan kanker, oleh karena itu, harus ditangani dengan sangat hati-hati. Simpan formalin dalam botol berwarna coklat, tertutup sempurna, dalam suhu kamar.

Alamat surat-menyurat Fish Vet Group Asia Limited

Fish Vet Group Asia Limited
99/386, Chaengwattana Building (Building C)
Chaengwattana Road
Kwaeng Toongsonghong
Khet Laksi
Bangkok
10210
Thailand

Kantor: +66 (0) 2 575 1680-2

Fax: +66 (0) 2 575 1683

Petunjuk Pelabelan

Harap labeli parsel atau paket yang hendak dikirim ke Fish Vet Group Asia Limited sebagai berikut:

"This package contains specimens for scientific analysis. The specimens are non-infectious, non-hazardous and of no-commercial value."

"Paket ini mengandung spesimen untuk penelitian ilmiah. Spesimen tidak bersifat menular, tidak berbahaya dan tidak memiliki nilai komersil."
