

## Laporan Praktikum Histoteknik

### TISSUE PROCESSING

**Herviani Sari**

**22 September 2012**

#### **Tujuan :**

1. Mahasiswa mampu memahami dan melakukan teknik – teknik histoteknik yang digunakan dalam pembuatan preparat jaringan.
2. Mahasiswa mampu memahami dan membuat preparat dari jaringan.
3. Mahasiswa mampu menganalisa dari preparat jaringan dengan menggunakan mikroskop.

#### **Pendahuluan**

Histoteknik adalah metoda membuat sajian histologi dari spesimen tertentu melalui suatu rangkaian proses hingga menjadi sajian yang siap untuk dianalisis. Spesimen tertentu dapat berupa jaringan dari manusia atau hewan. Sajian histoteknik yang baik dapat digunakan untuk :

1. Bahan pengajaran dan praktikum mahasiswa, guna mempelajari bentuk dan struktur jaringan tubuh tertentu yang normal.
2. Riset, guna mempelajari perubahan jaringan dan organ tubuh hewan percobaan yang mendapat perlakuan tertentu atau mempelajari pertumbuhan dan perkembangan jaringan atau organ tubuh tertentu.
3. Membantu menegakkan diagnosa penyakit yang diderita oleh seorang pasien.

Untuk mencapai ketiga tujuan tersebut sajian histologi yang dibuat harus dapat memberikan gambaran tentang bentuk dan besar serta susunan sel; inti sel dan sitoplasma; badan inklusi (glikogen, tetesan lemak, pigmen dsbnya); susunan serat jaringan ikat; otot dan lain sebagainya sesuai dengan gambaran jaringan tubuh tersebut dalam kondisi hidup.

Sajian yang baik dapat membantu mahasiswa memahami struktur histologi jaringan tubuh sesuai dengan kondisi yang sebenarnya pada waktu hidup. Sajian yang baik juga akan memberikan hasil yang benar-benar akurat yang sangat dibutuhkan oleh para peneliti untuk menjawab permasalahan yang timbul. Di samping itu sajian yang baik juga diperlukan oleh klinikus untuk menunjang diagnosa penyakit yang diderita oleh pasien.

#### **Alat dan Bahan**

Alat dan Bahan	Alat dan Bahan
<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Jaringan</li><li>➤ Larutan Formalin 10%</li><li>➤ Alkohol (70%, 80% ,90% dan absolut)</li><li>➤ Larutan xylol</li><li>➤ Parafin cair</li><li>➤ Inkubator</li><li>➤ Dua potongan besi berbentuk L(Leuckhart)</li><li>➤ Lembaran logam</li><li>➤ Mikrotom</li><li>➤ Waterbath 55°C</li><li>➤ Object glass</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Albumin</li><li>➤ Gliserin</li><li>➤ Sengkelit</li><li>➤ Pewarna Haematoxyllin Mayer</li><li>➤ Aquadest</li><li>➤ Pewarna Eosin</li><li>➤ Cover Glass</li><li>➤ Balsam Canada</li><li>➤ Label</li><li>➤ Mikroskop</li></ul>

### Cara Kerja :

1. Praktikan menyiapkan organ yang akan di jadikan sediaan, dalam praktikum ini yang di gunakan adalah kolon dari mencit.
2. Jaringan difiksasi dengan formalin 10% selama  $\pm 24$  jam. Usahakan semua jaringan hewan terendam di dalam larutan formalin.
3. Setelah di fiksasi, lakukan pemotongan jaringan maksimal 1x1cm.
4. Kemudian dilakukan proses dehidrasi :
  - a. Dengan alkohol 70% selama 1 jam.
  - b. Dengan alkohol 80% selama 1 jam.
  - c. Dengan alkohol 90% selama 1 jam.

Tujuan dari proses dehidrasi adalah untuk menghilangkan cairan dari jaringan.

5. Selanjutnya melakukan proses clearing (pembeningan) dengan menggunakan larutan xylol. Tujuan dari proses clearing adalah untuk menghilangkan alkohol dan mempersiapkan jaringan untuk proses berikutnya yaitu impregnation (pembenaman).
  - a. Xylol I selama  $\pm 30$  menit.
  - b. Xylol II selama  $\pm 30$  menit.
6. Proses impregnation (pembenaman) dilakukan dengan menggunakan paraffin oven dimana jaringan dibenamkan pada paraffin.
  - a. Paraffin I selama  $\pm 1$  jam.
  - b. Paraffin II selama  $\pm 1$  jam.
  - c. Paraffin III 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 1 malam.
8. Selanjutnya lakukan pengirisan jaringan atau sectioning dengan menggunakan microtome. Letakkan pisau pada mikrotom dengan sudut tertentu. Kemudian, 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  $\pm 5 - 10 \mu\text{m}$  (d disesuaikan dengan kebutuhan). Lakukan pengatur 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 sengkeliit 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  $\pm 12$  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  $\pm 5$  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  $\pm$  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 langsung dilihat di mikroskop.

Medan, 3 Oktober 2012

Praktikan

P e n i l a i

Herviani Sari

Dr. Esther R. D. Sitorus

NIM.127008008

NIP.197112082003122001