



Epitome of Nature

EON Inspirasi

Mohammad Nasrul

Breast Cancer

Are Men at Risk?

Men vs Women

A Genetic Perspective

Outdoor

Recreation

Trends among Youth

From Jogging

to Ka-Ching!



ISSN 2773-5869



9 772773 586005



Makalah Akademia

Histologi: Kaedah Melihat Sel Secara Mikroskopik

OLEH

¹NOOR AZLINA MOHD NAYAN, ²JURIAH
TOGEMAN, ²NURUL ILLIYA ZAFIRAH
ZULFIKRI, ²NURUL RAUDZAH ADIB RIDZUAN

¹Jabatan Biologi, Fakulti Sains Gunaan, UiTM
Cawangan Perlis,

Kampus Arau, 02600 Arau, Perlis

²Jabatan Anatomi, Fakulti Perubatan, UiTM
Cawangan Selangor, Kampus Sg Buloh, Sg
Buloh, 47000 Sg Buloh, Selangor

nraudzah@uitm.edu.my

EDITOR: NURSYAZNI ABDUL RAHIM



Kaedah histologi ini dilakukan di dalam makmal histologi dengan kelengkapan alat radas seperti mesin pemrosesan tisu dan *microtome*. Laporan histologi akan dikaji dan dicatat untuk tujuan pengajaran dan penyelidikan.

Teknik histologi

Kaedah histologi mempunyai teknik tersendiri bermula daripada proses untuk memperoleh tisu dari tumbuhan atau haiwan sehinggalah dapat dikaji di bawah mikroskop. Langkah yang pertama adalah *sample harvesting*. Organ tertentu daripada haiwan dikeluarkan dan direndamkan ke dalam bekas berisi *formalin* (proses *fixation*). Contohnya, organ hati, usus kecil dan paru-paru. *Formalin* atau *formaldehyde* adalah agen pengawet yang digunakan untuk pengawetan tisu. Selepas 24 jam, organ atau sampel tersebut akan dipotong kepada saiz yang lebih kecil untuk dimasukkan ke dalam kaset sebelum diproses untuk prosedur *grossing* (Gambarajah 1b). Seterusnya adalah langkah pemrosesan tisu dimana spesimen tersebut akan direndam di dalam beberapa jenis bahan kimia yang berbeza dengan menggunakan mesin pemrosesan tisu (Gambarajah 2). Bahan kimia yang digunakan adalah *formalin*, *alcohol*, *xylene* dan *paraffin*. Jadual 1 menunjukkan fungsi setiap bahan kimia yang digunakan.

Histologi merupakan kaedah yang dijalankan di makmal untuk melihat sel secara mikroskopik. Seni melihat sel secara halus ini dijalankan di makmal bagi tujuan pengajaran dan penyelidikan. Ianya juga merupakan salah satu parameter yang kebiasaannya dijalankan di dalam sesuatu penyelidikan kerana kaedahnya yang mudah dan ringkas. Setiap anatomi sel haiwan dan tumbuhan mempunyai kepelbagaian dan fungsi tertentu seperti ciri-ciri sel dan saiznya. Dengan mempelajari ilmu histologi, kita dapat mengkaji sel dan tisu di bawah mikroskop dengan lebih jelas dan mudah difahami (Gambarajah 1a). Terdapat beberapa prosedur histologi yang mudah dipelajari, antaranya proses *grossing*, *fixation*, pembedahan blok tisu *paraffin*, pembedahan dan pemanciran serta pewarnaan tisu. Setiap penyediaan spesimen histologi perlu mengikut prosedur histologi yang ditetapkan seperti ukuran saiz tisu dan bahan kimia tertentu yang digunakan.



(a)



(b)

Gambarajah 1. a) Kajian anatomi sel dan tisu di bawah mikroskop b) dan kaset histologi untuk meletak sampel.

(Sumber: Makmal Histologi Fakulti Perubatan UiTM).

Jadual 1. Bahan kimia dan fungsinya.

Bahan kimia	Fungsi bahan kimia
10% Formalin	Pengawetan sampel tisu.
50% Alcohol	Pendehidratan (mengeluarkan air daripada tisu).
80% Alcohol	
90% Alcohol	
Absolute alcohol 1	
Absolute alcohol 2	
Absolute alcohol + Xylene	Pembuangan alkohol daripada tisu.
Xylene 1	
Xylene 2	
Paraffin 1	Infiltrasi tisu.
Paraffin 2	
Paraffin 3	
Paraffin 4	

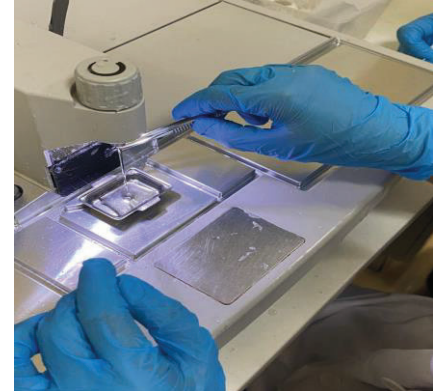
Setelah itu, proses pembenaman tisu dijalankan untuk dijadikan blok bagi memudahkan proses pemotongan tisu (Gambarajah 3). Tisu dikeluarkan daripada kaset dan diletakkan di dalam *moulder*. *Moulder* tersebut akan diisi dengan lilin *paraffin* (dalam bentuk cecair) sehingga memenuhi ruang *moulder* dan dibiarkan sejuk seketika. Langkah ini bertujuan untuk memastikan spesimen berada di dalam kedudukan yang betul. Kemudian, kaset akan diletakkan di atas *moulder* tersebut dan diisi sekali lagi, sehingga memenuhi bekas kaset. Pengerasan lilin *paraffin* menjadi pepejal dipercepatkan dengan meletakkan *moulder* di atas *cooling unit*.

Apabila blok tisu *paraffin* sudah menjadi pepejal, kaset dan blok tisu *paraffin* akan dipisahkan dari *moulder*. Blok tisu *paraffin* yang diperoleh akan melalui proses pemotongan. Blok yang terhasil akan dipotong menggunakan *microtome*. Blok tersebut perlu disejukkan di dalam peti sejuk selama 30 minit sebelum dipotong pada ukuran 3-5 mikrometer bagi menghasilkan riben yang sempurna (Gambarajah 4).

Langkah seterusnya adalah proses pemancingan (*fishing*) tisu di mana *waterbath* dipanaskan pada suhu 60°C. Riben tisu diletakkan secara perlahan-lahan di dalam *waterbath* dan dipancing ke atas slaid (Gambarajah 5). Selepas tisu diletakkan di atas slaid, slaid akan dikeringkan pada suhu bilik. Proses seterusnya adalah pewarnaan di mana slaid akan diletakkan di dalam oven selama 30 minit pada suhu 60°C untuk mencairkan lilin dan pelekatan tisu.



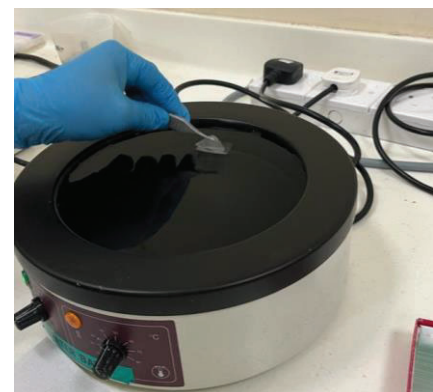
Gambarajah 2. Proses pemprosesan tisu mengambil masa selama 11 jam menggunakan SAKURA, VIP 6 Tissue Processor.



Gambarajah 3. Pembenaman blok tisu *paraffin*.



Gambarajah 4. Riben tisu terbentuk daripada pemotongan blok tisu *paraffin* dengan *microtome*.

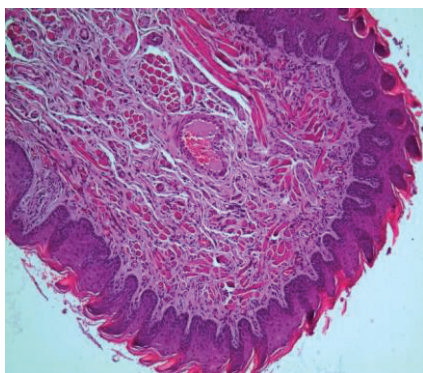


Gambarajah 5. Proses pemancingan tisu riben. (Sumber: Makmal Histologi Fakulti Perubatan UiTM)

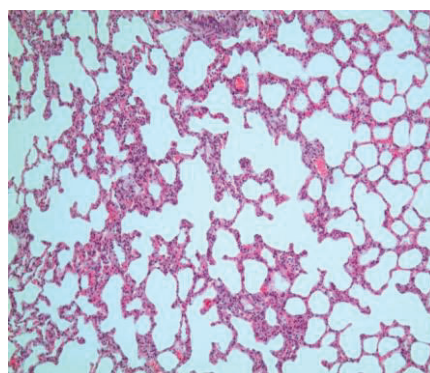
Setelah dipanaskan, tisu melalui proses pewarnaan (*staining*) (Gambarajah 6). Proses pewarnaan ini menggunakan beberapa bahan kimia berbeza dimulai dengan *xylene*, *alcohol* dan medium pewarnaan iaitu *haematoxylin* dan *eosin*. Tujuan proses pewarnaan adalah untuk memudahkan sel dilihat di bawah mikroskop. *Haematoxylin* dan *eosin* adalah pewarna universal yang digunakan secara rutin bagi tujuan histologi kerana fungsinya yang mewarnai seluruh struktur tisu. *Haematoxylin* digunakan untuk mewarnakan nukleus sel dengan warna ungu kebiruan dan *eosin* digunakan untuk mewarnakan sitoplasma dengan warna pink atau merah jambu.

Sebelum tisu dilihat di bawah mikroskop, slaid tisu akan melalui proses *mounting*/melekap. Proses ini akan menggunakan pelekatan DPX (Dibutylphthalate Polystyrene Xylene) iaitu sebatian kimia yang digunakan untuk melekatkan sisi kaca di atas slaid mikroskop (Gambarajah 7). Bagi tujuan pengajaran dan penyelidikan, DPX yang berfungsi sebagai medium pelekatan, akan bertindak untuk melindungi tisu semasa proses *viewing* slaid dan slaid dapat disimpan untuk jangka masa yang lama.

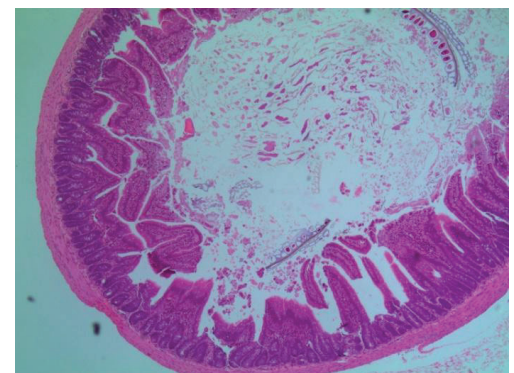
Proses yang terakhir adalah melihat dan mengkaji tisu di bawah mikroskop. Mikroskop cahaya digunakan untuk melihat struktur tisu dengan lebih terperinci. Sebagai contoh, beberapa slaid tisu seperti yang ditunjukkan di Gambarajah 8 dapat diperoleh dan dikaji dengan lebih jelas menggunakan *objective lens* 10x, 40x dan sebagainya.



(a)



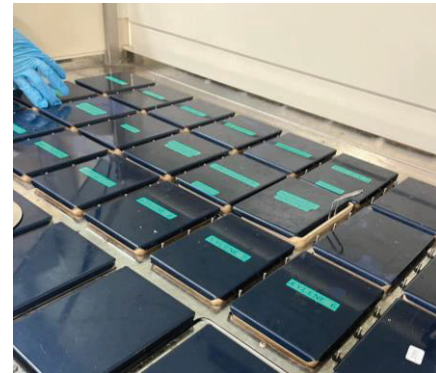
(b)



(c)

Gambarajah 8. Contoh tisu yang diproses seperti (a) keratan lidah, (b) paru paru dan (c) usus kecil yang dapat dilihat secara jelas setelah melalui proses histologi.

Secara rumusannya, pembelajaran histologi sangat penting untuk mengetahui fungsi setiap struktur tisu haiwan dan tumbuhan. Kita juga dapat memperoleh kemahiran teknik histologi yang betul seperti kemahiran dalam proses pemancingan tisu riben atau proses *mounting*. Malah, ilmu histologi juga sangat bermanfaat digunakan bagi projek penyelidikan.



Gambarajah 6. Proses pewarnaan tisu.



Gambarajah 7. DPX *mounting*. Sisi kaca perlu diletakkan secara berhati hati untuk mengelakkan udara terperangkap yang akan menyukarkan proses *viewing* slaid.

(Sumber: Makmal Histologi Fakulti Perubatan UiTM)