



Perbandingan Pengecatan *GMS-Phloxine Tartrazine* pada *Pneumocystis carinii* dengan Pengecatan *Gomori Methenamine Silver* (GMS) dan Pengecatan *Haematoxylin & Eosin* (H&E)

Arthur Pohan. Kawilarang*

Departemen Mikrobiologi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Abstract

As an opportunistic infection that causes many lung infections in immunocompromised patients to the point of causing death, it is appropriate to look for ways to diagnose *Pneumocystis carinii* effectively so that sufferers can be quickly helped. This research was conducted on three different stains on tissue that had been positive for *Pneumocystis carinii*, the three stains were Haematoxylin & Eosin (H&E) staining, Gomori's Methenamine Silver (GMS) staining and *GMS-Phloxine Tartrazine* staining. Of the three stains, different results were obtained for each staining, Haematoxylin & Eosin staining only obtained Honey comb form, while Gomori's Methenamine Silver (GMS) staining showed cysts from *Pneumocystis carinii*, and with *GMS-Phloxine Tartrazine* staining, apart from cysts from *Pneumocystis carinii*, *GMS-Phloxine Tartrazine* staining can also detect Cytomegalovirus (CMV).

Keywords: *Pneumocystis carinii*, H&E staining, *GMS* staining, *GMS-Phloxine Tartrazine* staining.

Abstrak

Sebagai infeksi oportunistik yang banyak menyebabkan infeksi paru pada pasien *immunocompromised* hingga menyebabkan kematian, sudah selayaknya dicari cara untuk mendiagnosis *Pneumocystis carinii* secara efektif sehingga penderita dapat dengan cepat ditolong. Penelitian ini dilakukan pada tiga pengecatan berbeda pada jaringan yang telah positif *Pneumocystis carinii*, tiga pengecatan tersebut adalah pengecatan *Haematoxylin & Eosin* (H&E), pengecatan *Gomori's Methenamine Silver* (GMS) dan pengecatan *GMS-Phloxine Tartrazine*. Dari tiga pengecatan tersebut didapatkan hasil yang berbeda-beda pada tiap pengecatannya, pada pengecatan *Haematoxylin & Eosin* hanya didapatkan bentuk *Honey comb*, sedangkan pada pengecatan *Gomori's Methenamine Silver* (GMS) terlihat kista dari *Pneumocystis carinii*, dan dengan pengecatan *GMS-Phloxine Tartrazine* selain didapatkan kista dari *Pneumocystis carinii*, pengecatan *GMS-Phloxine Tartrazine* juga bisa mendeteksi *Cytomegalovirus* (CMV).

Kata kunci: *Pneumocystis carinii*, Pengecatan H&E, Pengecatan *GMS*, Pengecatan *GMS-Phloxine Tartrazine*

*Correspondence: Arthur Pohan Kawilarang. Departemen Mikrobiologi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia. arthurkawilarang@gmail.com.

Diterima redaksi : 10 Februari 2023 | Selesai revisi : 03 April 2023 | Diterbitkan online : 13 November 2023

1. Pendahuluan

Pneumocystis carinii merupakan salah satu penyebab utama pneumonia pada bayi dan pasien *immunocompromised*.² Infeksi *Pneumocystis carinii* tidak dapat didiagnosis secara spesifik dari gejala klinisnya saja. Gejala klinis yang tampak hanya

menunjukkan adanya kerusakan pada paru-paru.⁵

Infeksi *Pneumocystis carinii* terjadi apabila angka CD4 penderita dibawah 200 sel/mm³.⁷ Pada saat ini *Pneumocystis carinii* mengalami peningkatan serangan pada penderita dengan *Immunocompromised* terutama pada penderita AIDS.⁵ Jika tidak segera



Lisensi

Lisensi Internasional Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0.

diobati *Pneumocystis carinii* dapat menyebabkan kematian pada penderitanya.⁶

Pada dasarnya *Pneumocystis carinii* ini tidak dapat diidentifikasi dengan kultur dan diperlukan pengecatan khusus untuk mengidentifikasi, karenanya diperlukan adanya kerjasama yang baik antara bagian Patologi anatomi dengan bagian Mikrobiologi.³ Dengan adanya kerjasama yang baik antar kedua bagian tersebut maka diagnosis dapat ditegakkan dengan cepat dan tepat sehingga penderita *Pneumocystis carinii* dapat disembuhkan.⁶

2. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan jaringan pada blok parafin yang telah diketahui positif *Pneumocystis carinii*, setelah melalui proses deparafinisasi untuk menghilangkan parafin maka *slide* yang berisi irisan jaringan siap untuk dilakukan pengecatan *Haematoxylin & Eosin* (H&E), *Gomori's Methenamine Silver* (GMS), dan Pengecatan *GMS-Phloxine Tartrazine*.

2.1 Pengecatan *Haematoxylin & Eosin* (H&E)

Urutan pengerjaan pengecatan H&E dimulai dengan pemberian *Gill's haematoxylin* lalu dilanjutkan dengan pemberian *ammonia water* untuk memberikan warna biru pada inti sel. Langkah terakhir pengecatan adalah dengan pemberian *Counterstain* 1% alkoholik Eosin untuk memberikan warna merah pada latar belakang. Setelah dilakukan pengecatan, kemudian jaringan di dehidrasikan dengan Alkohol 70%, Alkohol 95% (I) dan Alkohol 95% (II). Blot dengan kertas saring dan keringkan *slide*. Kemudian masukkan *slide* ke dalam Xylene (I) dan Xylene (II). Setelah dari Xylene potongan jaringan pada *slide* ditutup dengan *cover slide* yang telah diberi entellan.

2.2 Pengecatan *Gomori's Methenamine Silver* (GMS)

Setelah dari proses deparafinisasi, tetesi *slide* dengan larutan 5% *chromic acid* selama 1 jam kemudian bilas *slide* dengan *aquadest*. Untuk benar-benar menghilangkan sisa *chromic acid* dari jaringan bilas dengan larutan 1% *sodium bisulfite*. Kemudian masukkan *slide* ke dalam larutan kerja *methenamine silver nitrate* yang telah dipanaskan terlebih dahulu di dalam *waterbath* pada suhu 58°C selama 10-60 menit. Jangan lupa untuk memeriksa warna jamur dengan menggunakan mikroskop hingga jamur berwarna coklat tua. Bilas *slide* dengan menggunakan *Water for Irrigation*. Setelah dari larutan kerja, kemudian beri larutan 0,1% *gold chloride* untuk membuat warna *Methenamine Silver Nitrate* pada jaringan bertahan lama sedangkan untuk menghentikan semua reaksi yang terjadi pada jaringan, tetesi dengan larutan 2% *sodium thiosulphate*. Terakhir beri larutan *light green* untuk memberikan warna hijau pada latar belakang. Setelah proses pengecatan selesai, dilakukan proses dehidrasi dan kemudian tutup preparat dengan *cover slide*.

2.3 Pengecatan *GMS-Phloxine Tartrazine*

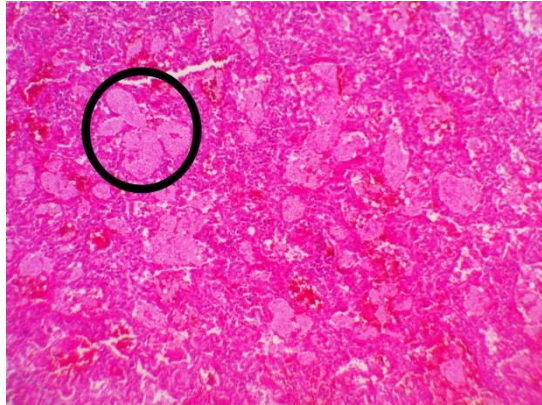
Untuk pengecatan *GMS-Phloxine Tartrazine* pertama-tama dilakukan pengecatan dengan *GMS* sampai pada langkah pemberian larutan 2% *sodium thiosulphate* yang kemudian dilanjutkan dengan pengecatan *Phloxine Tartrazine*. Lanjutkan pengecatan dengan memberikan *Gill's haematoxylin*, dan dilanjutkan dengan pemberian *ammonia water*. Setelah dari *ammonia water* jaringan diberi larutan 0.5% *phloxine*. Setelah dicat dengan larutan 0.5% *phloxine* bilas *slide* dengan *aquadest* lalu blot dengan kertas saring dan angin-anginkan hingga kering. Setelah *slide* kering beri larutan jenuh *tartrazine*. Pada proses ini *Tartrazine* akan mengangkat warna merah dan menggantikannya dengan warna kuning, proses ini membutuhkan kontrol dengan mikroskop. Blot dengan kertas saring, lalu angin-anginkan hingga kering. Lalu

masukkan *slide* ke dalam pergantian xylene sebanyak dua kali.

3. Hasil dan Pembahasan

Berikut ini adalah hasil yang didapatkan selama penelitian:

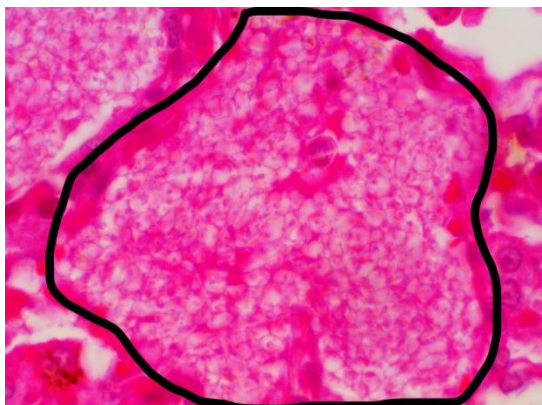
Pengecatan *Haematoxylin & Eosin* (H&E)



Gambar 1. *Pneumocystis carinii* pada pembesaran 100x. Hanya tampak bentukan *Honey comb* (area dalam lingkaran hitam).

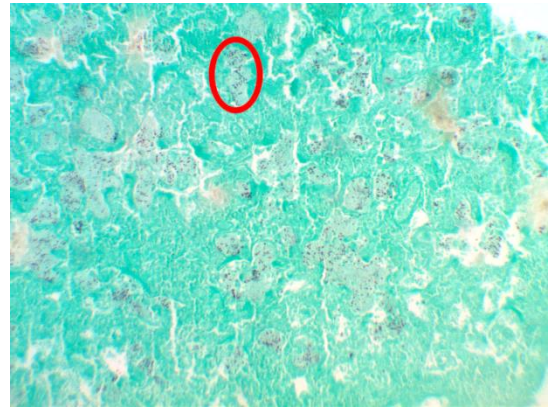


Gambar 2. *Pneumocystis carinii* pada pembesaran 400x. Hanya tampak bentukan *Honey comb* (area dalam lingkaran hitam).

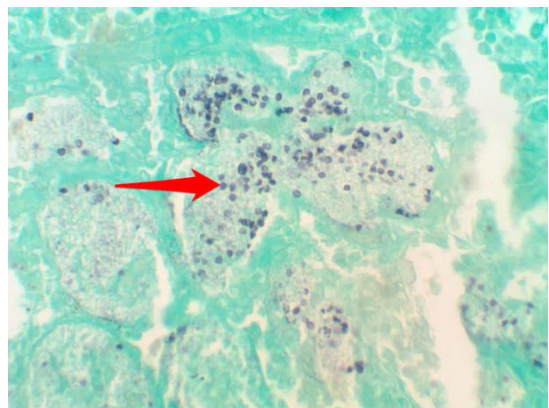


Gambar 3. *Pneumocystis carinii* pada pembesaran 1000x. Hanya tampak bentukan *Honey comb* (area dalam lingkaran hitam).

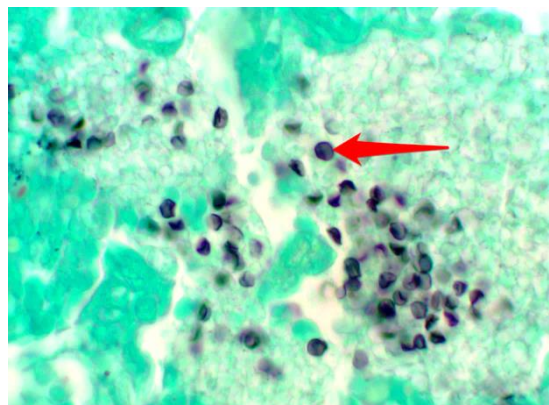
Pengecatan *Gomori's Methenamine Silver* (GMS)



Gambar 4. *Pneumocystis carinii* pada pembesaran 100x. Kista (area dalam lingkaran merah).

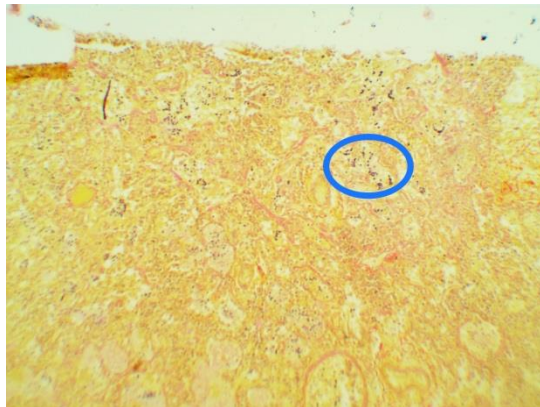


Gambar 5. *Pneumocystis carinii* pada pembesaran 400x. Kista (panah merah).

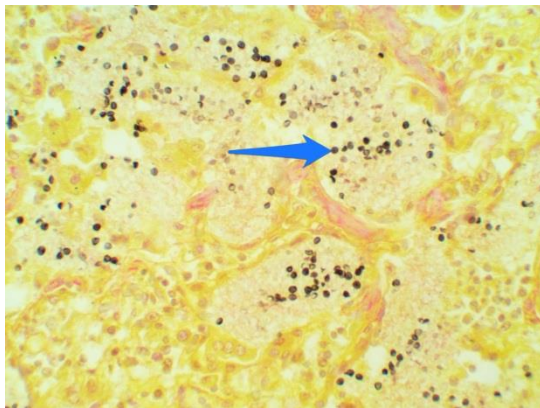


Gambar 6. *Pneumocystis carinii* pada pembesaran 1000x. Kista (panah merah).

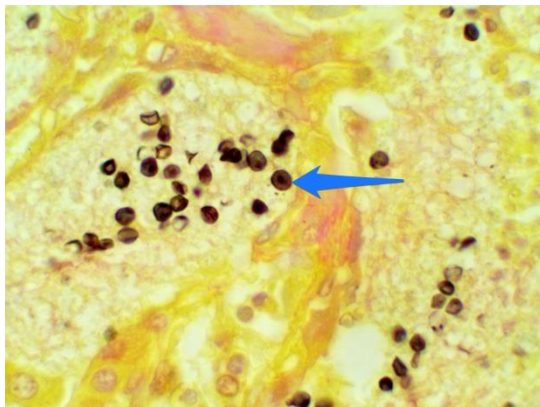
Pengecatan GMS-Phloxine Tartrazine



Gambar 7. *Pneumocystis carinii* pada pembesaran 100x (area dalam lingkaran biru).

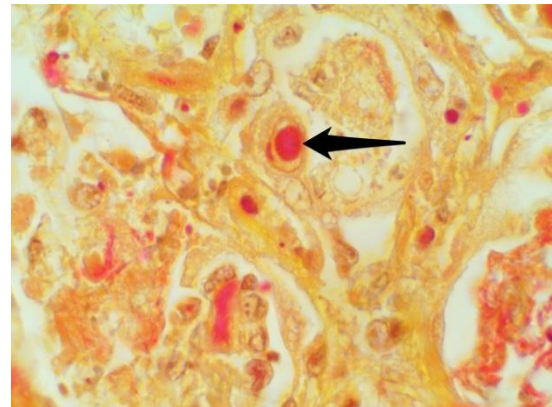


Gambar 8. *Pneumocystis carinii* pada pembesaran 400x. Kista (panah biru).

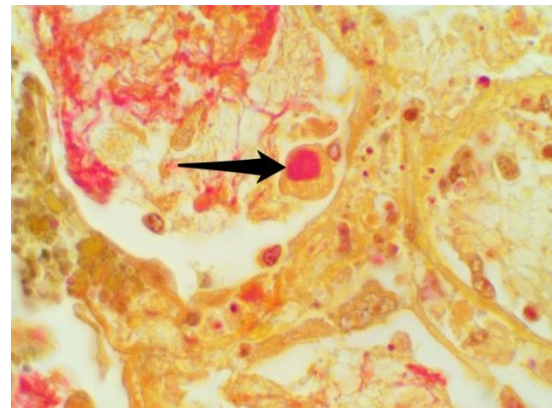


Gambar 9. *Pneumocystis carinii* pada pembesaran 1000x. Kista (panah biru).

Cytomegalovirus (CMV)



Gambar 10. *Cytomegalovirus* (panah hitam) dengan pengecatan *Phloxine Tartrazine* pada pembesaran 1000x



Gambar 10. *Cytomegalovirus* (panah hitam) dengan pengecatan *Phloxine Tartrazine* pada pembesaran 1000x

Tabel 1. Tabel Hasil Penelitian

Nama Pengecatan	Kurang Jelas	Cukup Jelas	Amat Jelas
<i>Haematoxylin & Eosin</i> (HE)	√		
<i>Gomori Methenamine Silver</i> (GMS)			√
GMS-Phloxine Tartrazine			√

Catatan:

Pada pengecatan *GMS-Phloxine Tartrazine*, selain dapat mendeteksi jamur dalam jaringan juga dapat digunakan untuk mendeteksi adanya *Cytomegalovirus* (CMV) pada jaringan.

Proses pemberian *chromic acid* pada pengecatan GMS berfungsi untuk menghilangkan polisakarida pada jaringan, proses oksidasi pada pewarnaan GMS akan dihentikan menggunakan larutan Bisulfit untuk menghilangkan sisa *Chromic acid* di jaringan. Pada proses pemberian larutan kerja *Methenamine silver nitrate*, aldehida yang terjadi pada saat proses oksidasi dengan *chromic acid* akan mereduksi *Silver* dan mengendapkannya pada jaringan terutama pada dinding sel jamur. Pemberian *Gold chloride* berfungsi untuk membuat warna hitam pada jaringan bertahan lama, warna hitam pada jaringan ini akibat dimasukkannya *slide* pada larutan kerja. Apabila tahapan *Gold chloride* ini terlewatkan, maka dapat menyebabkan warna hitam pada jaringan menghilang setelah beberapa lama. Larutan Thiosulfat pada pewarnaan GMS berfungsi untuk menghentikan semua reaksi yang terjadi pada jaringan. Langkah terakhir pada pengecatan GMS adalah dengan memberikan *light green*, larutan ini berfungsi untuk mewarnai latar belakang pada jaringan dengan warna hijau sehingga pada pengecatan GMS didapatkan hasil pada jamur berwarna hitam dengan warna latar belakang hijau.^{1,3} Pada pengecatan GMS harus dilakukan dengan hati-hati karena diperlukan ketelitian pada saat pelaksanaan tahapan larutan kerja. Apabila tidak dilakukan secara hati-hati dapat mengakibatkan pewarnaan yang berlebihan sehingga dapat mengakibatkan sel darah merah tercat hitam yang dapat disalah artikan seperti sel *yeast*.⁸

Pengecatan GMS-*Phloxine Tartrazine* memberikan warna hitam pada jamur dan merah kuning pada jaringan. Warna hitam pada jamur didapatkan pada pengecatan GMS, dimana pada pengecatan GMS-*Phloxine Tartrazine* proses pengecatan GMS berhenti setelah pemberian larutan *Thiosulfat* dan dilanjutkan dengan pengecatan *Phloxine Tartrazine*. Pewarna *Phloxine* yang bersifat asam memberikan warna merah pada jaringan sedangkan pewarna *Tartrazine* juga bersifat asam dan memberikan warna kuning. Jaringan

yang semula berwarna merah karena pewarna *Phloxine* maka akan didiferensiasikan dengan perlahan-lahan dengan pewarna *Tartrazine*. Pertama-tama warna merah akan hilang dari jaringan ikat dan kemudian warna merah akan menghilang pula dari otot dan hanya meninggalkan warna merah pada *Inclusion body* (CMV).^{1,4} *Inclusion body/Owl's eye* adalah gambaran yang terdapat pada *Cytomegalovirus* (CMV).^{2,3} Pengecatan GMS-*Phloxine Tartrazine* ini dapat memberikan keuntungan ganda yaitu disamping dapat mendeteksi infeksi karena jamur dapat juga digunakan untuk mendeteksi adanya infeksi karena *Cytomegalovirus* (CMV).

Pengecatan *Haematoxylin & Eosin* (H&E) pada jamur *Pneumocystis carinii* hanya memberikan gambaran sarang lebah (*Honey Comb*) sedangkan kista *Pneumocystis carinii* tidak akan tercat dengan Pengecatan H&E. Hal ini dapat menjadikan diagnosis *Pneumocystis carinii* dengan pengecatan H&E menjadi tidak berguna karena *Streptococcus pneumonia* juga memberikan gambaran *Honey comb* pada alveoli paru.

4. Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pada pengecatan GMS-*Phloxine Tartrazine* bisa memberikan hasil yang lebih baik karena dapat mendeteksi adanya infeksi ganda. Selain dapat mendeteksi adanya infeksi jamur juga dapat mendeteksi adanya infeksi yang diakibatkan oleh infeksi *Cytomegalovirus* (CMV).

Dari hasil perbandingan antara pengecatan GMS dengan GMS-*Phloxine Tartrazine* didapatkan hasil warna yang lebih kontras pada pengecatan GMS-*Phloxine Tartrazine* yang memberi warna latar belakang merah dan kuning bila dibandingkan dengan pengecatan GMS yang berwarna hijau.

Daftar Rujukan

- [1] Bancroft, John.D., Gamble, Marilyn. 2002. Theory and Practice of Histological Techniques. Fifth Edition. Churchill Livingstone: Harcourt Publishers Limited.
- [2] Powers, Celeste.N.1998.Diagnosis of Infectious Disease: a Cytopathologist's Perspective. Clinical Microbiology Reviews. Vol.11, No.2, 341-365.
- [3] Woods, G.L., David, H.W. 1996. Detection of Infection or Infectious Agents by Use of Cytologic and Histologic Stains. Clinical Microbiology Reviews. Vol.9, No.3, 382-404.
- [4] Horobin, Richard.W., Bancroft, John.D. 2000. Troubleshooting Histology Stain. Churchill Livingstone. Harcourt Publishers Limited.
- [5] Bartlett, M.S., J, W. Smith. 1991. Pneumocystis carinii an Opportunist in Immunocompromised Patients. Clinical Microbiology Reviews. Vol.4, No.2, 137-149.
- [6] Dahiya, Sonika., Sandeep, R. Mathur., Venkateswaran, K. Iyer., Kusum, Kapila., and Kusum, Verma. 2005. Diagnosis of Pneumocystis Pneumonia by Bronchoalveolar Lavage Cytology: Experience at a Tertiary Care Centre in India. The Indian Journal of Chest Diseases & Allied Sciences vol.47.
- [7] Turner, D., Y, Schwarz., I, Yust. 2003. Induced sputum for diagnosing Pneumocystis carinii pneumonia in HIV patients; new data, new issue. European Respiratory Journal: 21:2014-208.
- [8] Lindley, R.P., P, Mooney. 1987. A rapid stain for Pneumocystis. Journal of Clinical Pathology. J Clin Pathol; 40(7):811-2