



Perbandingan Pengecatan *Hematoxylin & Eosin* (H&E), Alcian Blue-PAS dan Gomori's Methenamine Silver (GMS) pada jamur *Cryptococcus*

Arthur Pohan. Kawilarang*

Departemen Mikrobiologi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Abstract

Cryptococcus can infect any organ in the human body. The most commonly infected are the lungs, because humans inhale the spores of *Cryptococcus* and enter the lungs. New infections can occur if the person has low immunity. The research used tissue specimens that had been formed into paraffin blocks and stained with Haematoxylin Eosin (H&E), Alcian Blue-PAS and Gomori's Methenamine Silver (GMS). The results of the three stains showed that Gomori's Methenamine Silver (GMS) stain gave better results than the other stains.

Keywords: *Cryptococcus*, Haematoxylin Eosin (H&E), Alcian Blue-PAS, Gomori Methenamine Silver (GMS)

Abstrak

Cryptococcus dapat menginfeksi organ apapun dalam tubuh manusia. Yang paling sering terinfeksi adalah paru-paru, dikarenakan manusia menghirup spora dari *Cryptococcus* dan masuk ke dalam paru-paru. Infeksi baru dapat terjadi apabila orang tersebut memiliki kekebalan tubuh yang rendah. Spesimen penelitian menggunakan *specimen* jaringan yang telah dibentuk menjadi blok parafin dan dilakukan pengecatan *Haematoxylin & Eosin* (H&E), *Alcian Blue-PAS* dan *Gomori's Methenamine Silver* (GMS). Hasil dari tiga pengecatan tersebut menunjukkan pengecatan *Gomori's Methenamine Silver* (GMS) memberikan hasil yang lebih baik dari pengecatan yang lain.

Kata kunci: *Cryptococcus*, Haematoxylin Eosin (H&E), Alcian Blue-PAS, Gomori's Methenamine Silver (GMS)

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

Diterima redaksi: 16 Oktober 2023 | Selesai revisi: 6 November 2023 | Diterbitkan online: 13 November 2023

1. Pendahuluan

Cryptococcus neoformans merupakan jamur yang dapat hidup di seluruh dunia.^{3,5,6,8} Jamur ini dapat ditemukan di tanah, di kayu yang membusuk dan pada kotoran burung.^{3,5,6,8} Jamur *Cryptococcus neoformans* dapat menyebabkan infeksi terhadap manusia, infeksi ini banyak terjadi di dalam paru-paru setelah manusia menghirup spora *Cryptococcus neoformans*.^{3,5,7,8} Namun tidak semua orang yang menghirup spora *Cryptococcus neoformans* akan terinfeksi olehnya, orang-orang yang sehat tidak akan dengan mudah

terinfeksi.^{6,7} Tetapi berbeda dengan orang-orang yang sistem kekebalan tubuhnya rendah, *Cryptococcus neoformans* akan bersembunyi di dalam tubuh hingga dikemudian hari saat sistem kekebalan tubuh terlalu lemah untuk melawan mereka akan terinfeksi *Cryptococcosis*.⁷

Infeksi *Cryptococcosis* dimulai di paru-paru kemudian menyebar melalui darah menuju bagian tubuh yang lain. Infeksi *Cryptococcosis* dapat berakibat fatal apabila tidak diobati dengan segera. Infeksi *Cryptococcosis* merupakan infeksi yang banyak terjadi



Lisensi

Lisensi Internasional Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0.

pada penderita HIV, dikarenakan pada penderita HIV kekebalan tubuh mereka sangat lemah.^{1,4,5,7,8} Infeksi ini juga menjadi penyebab kematian pada penderita HIV^{4,6,8} tingginya kematian karena infeksi *Cryptococcosis* ini disebabkan oleh terlambatnya diagnosa karena terbatasnya pemeriksaan untuk melakukan diagnosa. Semakin cepat diagnosa ditegakkan maka akan semakin memperbesar keberhasilan dalam pengobatan juga.

2. Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk membandingkan antara pengecatan *Haematoxylin & Eosin* (H&E), pengecatan *Alcian Blue-PAS* dan pengecatan *Gomori's Methenamine Silver* (GMS) pada jamur *Cryptococcus neoformans*.

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

Pengecatan *Haematoxylin & Eosin* (H&E) adalah teknik pengecatan yang paling umum digunakan dalam histologi². Sebagian besar diagnosis untuk keganasan menggunakan pengecatan ini.

Reagen yang digunakan untuk pengecatan H&E adalah:

- *Gill's Haematoxylin*
- Alkoholik Eosin
- *Ammonia water*
- Alkohol 70%

Berikut ini merupakan prosedur pengecatan H&E:

- Untuk menghilangkan paraffin yang melekat pada jaringan lakukan deparafinisasi.
- Warnai dengan *Gill's haematoxylin*.
- Kemudian birukan inti sel menggunakan *ammonia water*.
- Sebelum diberikan *counterstain* bilas dengan menggunakan alkohol 70%.
- Berikan *counterstain* alkoholik eosin.

2.2 Pengecatan *Alcian Blue-PAS*

Pengecatan ini merupakan pengecatan gabungan antara pengecatan PAS dan pengecatan *Alcian blue*. Disini *mucin* asam akan diwarnai lebih dulu dengan pewarna *Alcian blue* dan sisanya akan diwarnai dengan pewarna PAS.²

Reagen yang digunakan untuk pengecatan *Alcian Blue-PAS* adalah:

- 0.5% *Alcian blue*
- 1% *Periodic acid*
- *Schiff's reagent*
- *Gill's Haematoxylin*
- *Ammonia water*

Berikut ini merupakan prosedur pengecatan *Alcian Blue-PAS*:

- Untuk menghilangkan paraffin yang melekat pada jaringan lakukan deparafinisasi.
- Cat dengan *Alcian blue* 0.5%.
- Berikan *Periodic acid* 1%.
- Setelahnya cuci dengan air mengalir.
- Cat dengan reagen *Schiff's*.
- Cuci kembali dengan air mengalir.
- Beri *counterstain* dengan *Gill's Haematoxylin*.
- Lalu birukan inti sel dengan *Ammonia water*.

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

Pengecatan *Gomori's Methenamine Silver* (GMS) ini digunakan untuk mendeteksi jamur² terutama ditujukan untuk jamur-jamur yang tidak dapat terdeteksi dengan pengecatan *Haematoxylin & Eosin* (H&E) ataupun dengan pengecatan *Periodic Acid Schiff* (PAS). Reagen yang digunakan untuk pengecatan *Gomori's Methenamine Silver* (GMS) adalah:

- *Chromic acid* 5%
- Borax (*photographic grade*) 5%
- *Silver nitrate* 5%
- *Methenamine* 3%
- *Gold chloride* 0.1%
- *Sodium thiosulphate* 2%
- Larutan kerja *Methenamine silver*
- *Light green* 0.2%

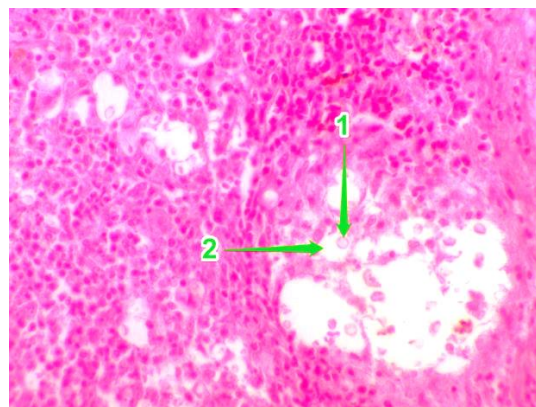
Prosedur pelaksanaan pengecatan *Gomori's Methenamine Silver* (GMS) adalah:

- Untuk menghilangkan paraffin yang melekat pada jaringan lakukan deparafinisasi.
- Oksidasikan dengan larutan 5% *chromic acid*.
- Sebelum waktu untuk *Chromic Acid* berakhir, panaskan larutan kerja ke dalam *waterbath* pada suhu 58°C.
- Bilas *slide* dengan *aquadest*.
- Bilas dengan larutan 1% *sodium bisulfite*.
- Sebelum masuk ke dalam larutan kerja bilas dengan 3 kali penggantian *Water for irrigation*.
- Masukkan *slide* ke dalam larutan kerja *methenamine silver nitrate* yang ada di dalam *waterbath*.
- Cek *slide* di bawah mikroskop.
- Bilas dengan 3 kali penggantian *Water for irrigation*.
- Beri dengan larutan 0,1% *gold chloride*.
- Bilas dengan *Water for irrigation* sebanyak satu kali.
- Beri larutan 2% *sodium thiosulphate*.
- Beri *counterstain* dengan larutan *light green*.

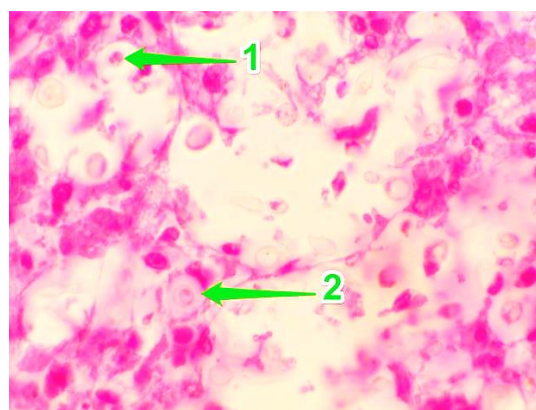
3. Hasil dan Pembahasan

Berikut ini adalah hasil yang didapatkan selama penelitian

Pengecatan *Haematoxylin & Eosin* (H&E)

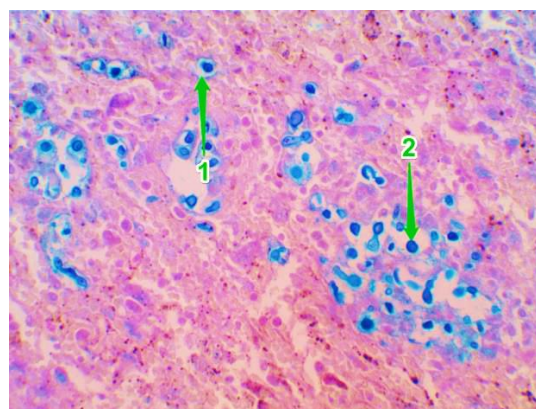


Gambar 1. *Cryptococcus* pada pembesaran 400x, pengecatan *Haematoxylin & Eosin* (H&E): 1. Sel Yeast, 2. Kapsul

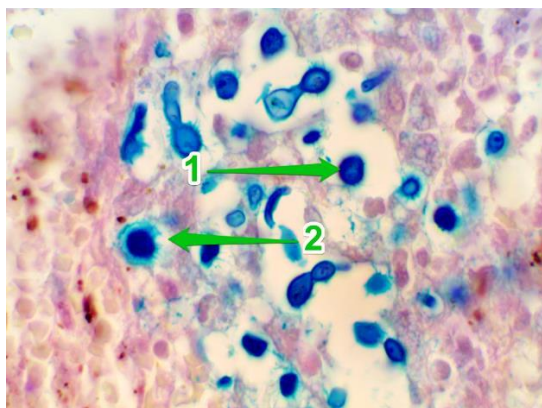


Gambar 2. *Cryptococcus* pada pembesaran 1000x, pengecatan *Haematoxylin & Eosin* (H&E): 1. Sel Yeast, 2. Kapsul

Pengecatan *Alcian Blue-PAS*

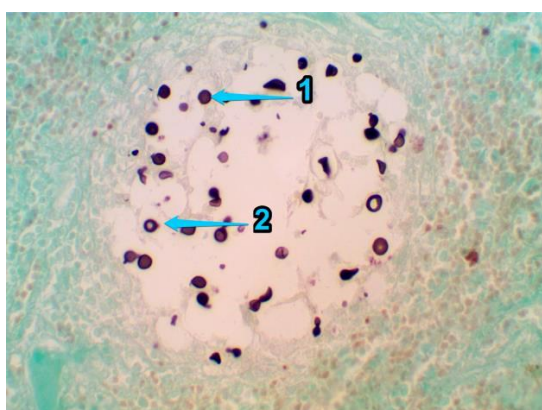


Gambar 3. *Cryptococcus* pada pembesaran 400x, pengecatan Alcian Blue-PAS: 1. Kapsul, 2. Sel Yeast

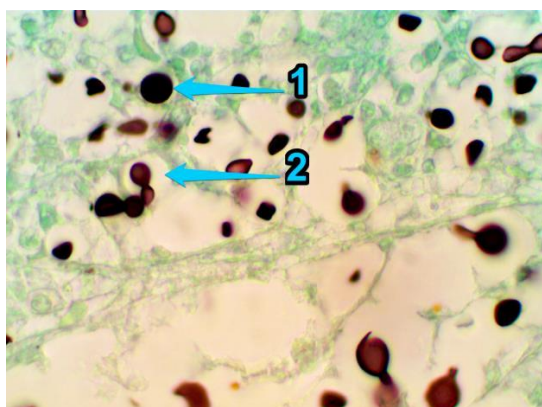


Gambar 4. *Cryptococcus* pada pembesaran 1000x, pengecatan Alcian Blue-PAS: 1. Sel Yeast, 2. Kapsul

Pengecatan Gomori's Methenamine Silver (GMS)



Gambar 5. *Cryptococcus* pada pembesaran 400x, pengecatan Gomori's Methenamine Silver (GMS): 1. Sel Yeast, 2. Kapsul



Gambar 6. *Cryptococcus* pada pembesaran 1000x, pengecatan Gomori's Methenamine Silver (GMS): 1. Sel Yeast, 2. Kapsul

Tabel 1. Tabel Hasil Penelitian

Nama Pengecatan	<i>Cryptococcus</i>
<i>Haematoxylin & Eosin (HE)</i>	+
<i>Alcian Blue-PAS</i>	++
<i>Gomori's Methenamine Silver (GMS)</i>	+++

Pengecatan *Haematoxylin & Eosin (H&E)* merupakan teknik pengecatan yang banyak digunakan untuk menegaskan diagnosa utama pada laboratorium histopathologi untuk melihat morfologi suatu jaringan dan telah menjadi standar pengecatan untuk pemeriksaan histologi.² Pewarnaan ini merupakan pewarnaan yang paling lama dan paling sering digunakan dalam menentukan area jaringan yang terinfeksi sehingga dapat melakukan diagnosa secara tepat pada keganasan.² Namun seringkali infeksi jamur tidak dapat terdeteksi secara jelas dengan pengecatan H&E ini. Seperti yang ditunjukkan pada hasil pengecatan H&E di atas tampak gambaran jamur *Cryptococcus* pada jaringan tidak terlalu jelas.

Pengecatan *Alcian Blue-PAS* ini merupakan kombinasi dari dua pengecatan yaitu pengecatan *Alcian Blue* dan pengecatan *Periodic Acid Schiff (PAS)*.² Pengecatan *Alcian blue* ini memberikan warna pada *mucin* asam sehingga berwarna biru, sedangkan *mucin* netral akan berwarna merah magenta.² Pada hasil pengecatan yang ditunjukkan pada foto di atas hasil pengecatan *Alcian Blue-PAS* menunjukkan *Cryptococcus* yang tercat dengan baik menggunakan warna biru dan jaringan sekitarnya dengan warna merah.

Pengecatan *Gomori's Methenamine Silver (GMS)* merupakan pengecatan yang umum digunakan untuk mendiagnosis infeksi jamur pada jaringan, pengecatan ini digunakan terutama pada jamur-jamur yang tidak tercat dengan pengecatan *Haematoxylin & Eosin (H&E)* ataupun dengan pengecatan *Periodic Acid Schiff (PAS)*.² Dengan pengecatan *Gomori's*

Methenamine Silver (GMS) akan mewarnai dinding jamur dengan warna hitam sehingga jamur akan mudah terlihat dengan warna hijau sebagai warna jaringan.² Pada hasil pengecatan *Gomori's Methenamine Silver* (GMS) menunjukkan hasil pengecatan yang sangat baik pada jamur *Cryptococcus* tampak dinding jamur berwarna hitam.

4. Kesimpulan

Setelah semua pengecatan dilakukan dan hasil pengecatan telah diamati, dapat diambil kesimpulan bahwa pengecatan *Gomori's Methenamine Silver* (GMS) memberikan hasil yang lebih baik dari pengecatan yang lain pada jamur *Cryptococcus*. Pada pengecatan GMS dinding jamur berwarna hitam dengan latar belakang yang berwarna hijau.

Daftar Rujukan

- [1] Aimee, K.Zaas. 2014. A Case of Cryptogenic Dyspnea: Disseminated Cryptococcosis. The American Journal of Medicine. Vol. 127, No. 8, Agustus 2014. doi: 10.1016/j.amjmed.2014.04.007.
- [2] Bancroft, John. D., Marilyn, Gamble. 2019. Theory and Practice of Histological Techniques. 8th ed. Oxford: Churchill Livingstone Elsevier.
- [3] Probst, Corina., Georg, Pongratz., Silvia, Capellino., Rolf, M. Szeimies, Jürgen, Schölmerich., Martin, Fleck., Bernd, Salzberger., Boris, Ehrenstein. 2010. Cryptococcosis mimicking cutaneous cellulitis in a patient suffering from rheumatoid arthritis: a case report. BMC Infectious Disease 2010, 10:239. doi: <https://doi.org/10.1186/1471-2334-10-239>.
- [4] Srikanta, Deepa., Felipe, H.Santiago-Tirado., Tamara, L.Doering. 2014. Cryptococcus neoformans: historical curiosity to modern pathogen. National Institutes of Health. 2014 Feb;31(2):47-60. doi: 10.1002/yea.2997.
- [5] Kyung, J.Kwon-Chung., James, A. Fraser., Tamara, L.Doering., Zhou, Wang., Guilhem, Janbon., Alexander, Idnurm., Yong-Sun, Bahn. 2014. Cryptococcus neoformans and Cryptococcus gattii, the etiologic agents of cryptococcosis. Cold Spring Harb Perspect Med. 2014 Jul 1;4(7). doi: 10.1101/cshperspect.a019760.
- [6] Lazzara, Matthew., Arjun, Joshi. 2013. Disseminated cryptococcosis involving the head and neck. BMJ Case Reports. doi: <http://dx.doi.org/10.1136/bcr-2013-202306>.
- [7] Mustafa, Murtaza., F.A, Mohammad Salih., M.T.H, Parash., C.H, Sadiya Shimmi., M.D, Shamsur Rahman. 2014. Cryptococcus Meningitis, in the Patients with Human Immunodeficiency Virus Infection. International Journal of Pharmaceutical Science Invention. Volume 3 Issue 9.
- [8] Li, Shu.Sun., Christopher, H.Mody. 2010. Cryptococcus. Proc Am Thorac Soc. 2010 May;7(3): 186-96. doi: 10.1513/pats.200907-063AL.