



Jamur *Pneumocystis carinii* dengan Macam-Macam Pewarnaan

Arthur Pohan. Kawilarang*

Departemen Mikrobiologi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Abstract

Pneumocystis carinii is an opportunistic fungus that causes Pneumocystis pneumonia (PCP). This infection causes inflammation of the lungs. PCP is particularly deadly in people with weakened immune systems. The examination specimen material used for diagnosis comes from the lower respiratory tract either from BAL, induced sputum or lung tissue biopsy. This research method uses 5 (five) types of staining on lung tissue biopsies that are positive for PCP infection. The results obtained from each staining depend on the use of each staining. However, it appears that GMS-MT staining provides clearer results regarding the cyst shape and tissue reaction.

Keywords: *Pneumocystis carinii*, Haematoxylin & Eosin, Periodic Acid Schiff, Gomori Methenamine Silver, GMS-Masson Trichrome, GMS-Phloxine Tartrazine

Abstrak

Jamur *Pneumocystis carinii* merupakan jamur oportunistik yang menyebabkan Pneumocystis pneumonia (PCP). Infeksi ini menyebabkan peradangan pada paru-paru. PCP sangat mematikan pada orang dengan sistem kekebalan tubuh yang lemah. Bahan spesimen pemeriksaan yang digunakan untuk diagnosa berasal dari saluran pernafasan bagian bawah baik dari BAL, induksi sputum ataupun biopsi jaringan paru. Metode penelitian ini menggunakan 5 (lima) macam pewarnaan pada biopsi jaringan paru yang positif terinfeksi PCP. Hasil yang diperoleh dari tiap-tiap pewarnaan bergantung dari kegunaan masing-masing pewarnaan Namun dapat dilihat pewarnaan GMS-MT memberikan hasil yang lebih jelas pada bentuk kista dan reaksi jaringannya.

Kata kunci: *Pneumocystis carinii*, Haematoxylin & Eosin, Periodic Acid Schiff, Gomori Methenamine Silver, GMS-Masson Trichrome, GMS-Phloxine Tartrazine

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

Diterima redaksi: 26 April 2024 | Selesai revisi: 14 Mei 2024 | Diterbitkan online: 20 Mei 2024

1. Pendahuluan

Pneumocystis carinii pneumonia (PCP) adalah infeksi yang terjadi pada pernafasan yang mengakibatkan peradangan dan menimbulkan penumpukan cairan di paru-paru.⁷ Infeksi ini disebabkan oleh jamur *Pneumocystis carinii*.^{4,6,7} Pada orang dengan kekebalan tubuh yang normal tidak akan mengakibatkan infeksi namun berbeda pada orang dengan sistem kekebalan tubuh yang lemah dapat berlanjut pada infeksi yang mengakibatkan

pneumonia.^{3,6,7} Infeksi akan timbul apabila *T helper cell* (CD4) berjumlah kurang dari 200 sel/mm³.^{2,7} Gejala klinis yang menyertai infeksi PCP tidak spesifik, biasanya meliputi sesak napas, batuk kering dan demam.^{2,6,7} Pada penderita PCP yang tidak diobati dengan baik akan berakibat pada kematian. Identifikasi *Pneumocystis carinii* atas infeksi PCP tidak dapat dilakukan dengan metode kultur karena *Pneumocystis carinii* tidak dapat dikultur.^{2,5} Bahan spesimen yang digunakan untuk pemeriksaan biasanya



Lisensi

Lisensi Internasional Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0.

berasal dari saluran pernafasan bagian bawah, karena PCP menginfeksi saluran pernafasan bagian bawah yaitu pada alveoli. Spesimen pemeriksaan yang banyak digunakan yaitu induksi dahak dan BAL, karena berasal dari saluran pernafasan bawah. Bila diperlukan akan dilakukan biopsi jaringan paru.^{2,3,4,6,7}

2. Metode Penelitian

Banyak metode pewarnaan yang dapat digunakan untuk mediagnosa infeksi *Pneumocystis carinii*. Pada penelitian ini akan digunakan lima macam metode pewarnaan untuk melihat jamur *Pneumocystis carinii* didalam jaringan. Pewarnaan yang digunakan adalah Pewarnaan Haematoxylin & Eosin (H&E), Periodic Acid Schiff (PAS), Gomori's methenamine silver (GMS), GMS-Masson Trichrome (GMS-MT) dan GMS-Phloxine Tartrazine (GMS-PT).

2.1 Pewarnaan Haematoxylin & Eosin (H&E)

Pewarnaan Haematoxylin & Eosin merupakan salah satu pewarnaan utama pada histologi. Pewarnaan Haematoxylin dapat dianggap sebagai pewarna dasar.^{1,9} Pewarnaan ini merupakan pewarnaan yang paling sederhana untuk menunjukkan sel dan jaringan normal serta abnormal.

2.2 Pewarnaan Periodic Acid Schiff's (PAS)

Pewarnaan Periodic Acid Schiff digunakan untuk melihat adanya glikogen pada jaringan. Reagen yang digunakan untuk mengoksidasi adalah periodic acid. Sedangkan reagen yang digunakan untuk memberikan warna pada dinding jamur adalah reagen Schiff. Reagen Schiff ini merupakan senyawa turunan Basic fuchsin sehingga penggunaannya akan menghasilkan warna magenta pada jamur.^{1,9}

2.3 Pewarnaan Gomori methenamine silver (GMS)

Pewarnaan Gomori Methenamine Silver juga mengalami proses oksidasi jaringan yang banyak mengandung polisakarida. Proses oksidasi

menggunakan senyawa yang bersifat asam. Setelah polisakarida teroksidasi maka tahap berikutnya mereduksi ion perak pada larutan silver methenamine, proses ini memberikan warna coklat tua pada jamur. Pemberian larutan gold chloride berguna untuk membuat intensitas warna meningkat. Untuk mempertahankan warna coklat pada jamur digunakan larutan sodium thiosulphate.^{1,8,9}

2.4 Pewarnaan GMS-Masson Trichrome (GMS-MT)

Setelah dilakukan pewarnaan GMS berikutnya dilanjutkan dengan menambahkan pewarnaan Masson Trichrome. Masson Trichrome merupakan pewarnaan yang bersifat asam dan basa.^{1,9}

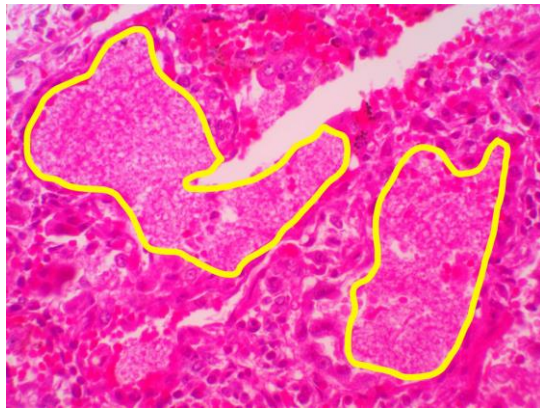
2.5 Pewarnaan GMS-Phloxine Tartrazine (GMS-PT)

Setelah dilakukan pewarnaan GMS berikutnya dilanjutkan dengan menambahkan pewarnaan Phloxine Tartrazine. Pewarnaan Phloxine Tartrazine telah banyak diketahui digunakan untuk mendeteksi dan mengidentifikasi virus. Pewarnaan ini menggunakan dua macam cat yaitu Phloxine yang berwarna merah dan Tartrazine yang berwarna kuning. Kedua cat ini bersifat anionik.^{1,9}

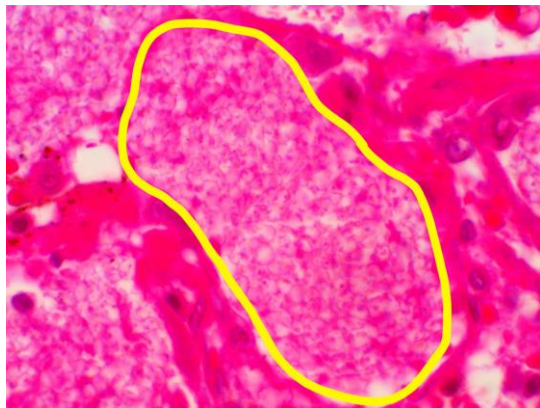
3. Hasil dan Pembahasan

Hasil yang didapatkan selama penelitian adalah sebagai berikut:

Pewarnaan Haematoxylin & Eosin(H&E)

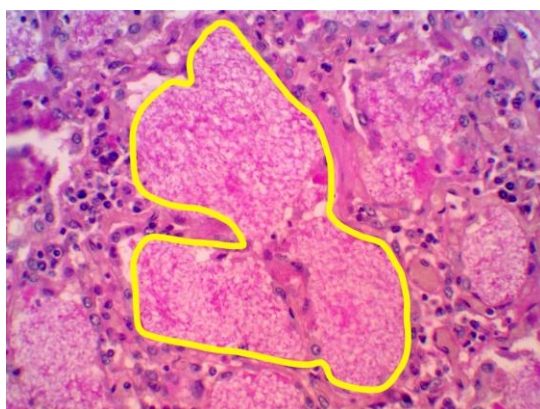


Gambar 1. *Pneumocystis carinii* dengan pembesaran 400x.
Bentukan sarang lebah (*Honey comb*) (area dalam warna kuning).

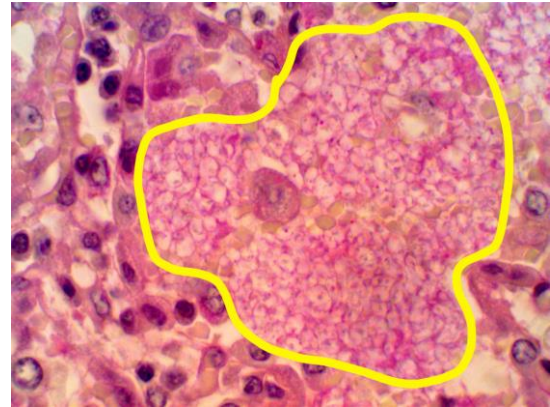


Gambar 2. *Pneumocystis carinii* dengan pembesaran 1000x.
Bentukan sarang lebah (*Honey comb*) (area dalam warna kuning).

Pewarnaan Periodic Acid Schiff (PAS)

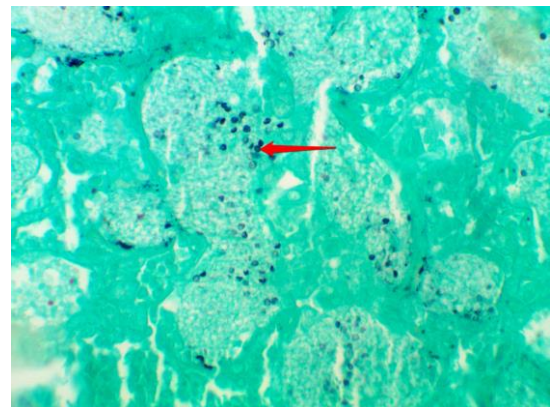


Gambar 3. *Pneumocystis carinii* dengan pembesaran 400x.
Bentukan sarang lebah (*Honey comb*) (area dalam warna kuning).

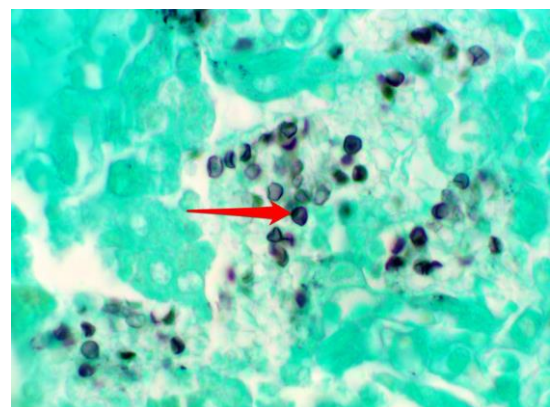


Gambar 4. *Pneumocystis carinii* dengan pembesaran 1000x.
Bentukan sarang lebah (*Honey comb*) (area dalam warna kuning).

Pewarnaan Gomori methenamine silver (GMS)

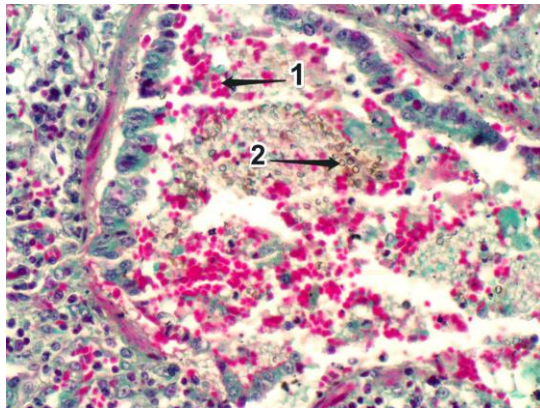


Gambar 5. *Pneumocystis carinii* dengan pembesaran 400x.
Kista *Pneumocystis carinii* (panah merah).



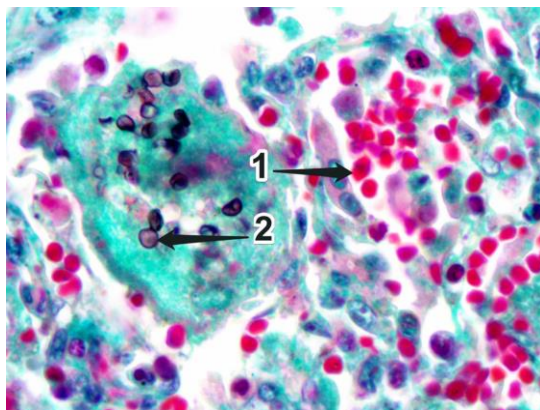
Gambar 6. *Pneumocystis carinii* dengan pembesaran 1000x.
Kista *Pneumocystis carinii* (panah merah).

Pewarnaan GMS-Masson's Trichrome



Gambar 7. *Pneumocystis carinii* dengan pembesaran 400x.

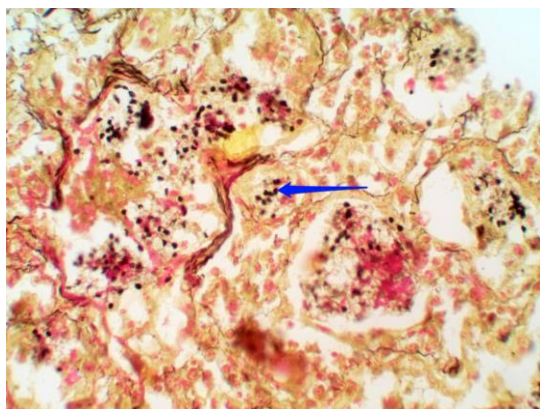
1. Sel darah merah, 2. Kista *Pneumocystis carinii*.



Gambar 8. *Pneumocystis carinii* dengan pembesaran 1000x.

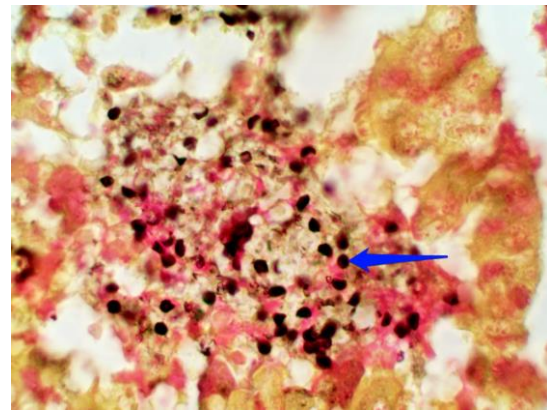
1. Sel darah merah, 2. Kista *Pneumocystis carinii*.

Pewarnaan GMS-Phloxine Tartrazine (GMS-PT)



Gambar 9. *Pneumocystis carinii* dengan pembesaran 400x.

Kista *Pneumocystis carinii* (panah biru).



Gambar 10. *Pneumocystis carinii* dengan pembesaran 1000x.

Kista *Pneumocystis carinii* (panah biru).

Dalam penelitian ini digunakan jamur *Pneumocystis* dengan pewarnaan yang berbeda. Dalam tiap-tiap pewarnaan akan dapat dilihat bagaimana bentuk jamur *Pneumocystis carinii* pada jaringan. Dengan pewarnaan yang berbeda dapat pula dilihat adanya perbedaan hasil yang didapat pada jaringan. Pada pewarnaan Haematoxylin & Eosin (H&E) pada jaringan hanya didapatkan eksudat yang menyerupai bentuk sarang tawon (*honey comb*). Latar belakang akan berwarna merah muda. Pada pewarnaan Periodic Acid Schiff (PAS) ini akan didapatkan eksudat yang menyerupai bentuk sarang tawon (*honey comb*). Latar belakang akan berwarna merah muda atau merah hingga keunguan. Pewarnaan Gomori Methenamine Silver (GMS) ini akan mewarnai secara selektif dinding kista *Pneumocystis*. Pewarnaan GMS juga dapat digunakan pada smear. Hasil yang didapat pada pewarnaan GMS menunjukkan adanya kista *Pneumocystis* pada jaringan. Dengan pewarnaan GMS-Masson Trichrome (GMS-MT) pada jaringan akan didapatkan kista *Pneumocystis* dan juga dapat dilihat adanya gambaran perdarahan pada jaringan yang ditunjukkan dengan banyaknya sel darah merah. Dengan pewarnaan ini muscle akan berwarna merah dan kolagen berwarna hijau. Pewarnaan GMS-Phloxine Tartrazine (GMS-PT) menunjukkan kista *Pneumocystis* dengan latar belakang berwarna kuning. Dengan pewarnaan ini

apabila ada *viral inclusion* pada jaringan maka akan tercatat merah.

Tabel 1. Tabel Hasil Penelitian

Nama Pewarnaan	Hasil
Haematoxylin & Eosin (H&E)	+
Periodic Acid Schiff (PAS)	+
Gomori methenamine silver (GMS)	++
GMS-Masson Trichrome	+++
GMS-Phloxine Tartrazine	++

Tabel 1 berisi data penelitian berupa penilaian berdasarkan kejelasan penampakan jamur *Pneumocystis carinii* yang diwarnai oleh berbagai macam pewarnaan dan diberi nilai +1, +2, dan +3 yang menunjukkan hasil tidak jelas, hasil kurang jelas, dan hasil jelas. Hasil dengan pewarnaan H&E menunjukkan hasil +1, pewarnaan PAS +1, pewarnaan GMS +2, dan pewarnaan GMS-Masson Trichrome serta pewarnaan GMS-Phloxine Tartrazine menunjukkan diberikan nilai masing-masing +3.

4. Kesimpulan

Sel yeast pada *Histoplasmosis capsulatum* tidak memiliki septa hal itulah yang membedakan dengan *Penicillium marneffeii*. Pada pewarnaan Haematoxylin & Eosin (H&E) perbedaan yang ada pada dua jamur ini sulit dilihat, namun dengan pewarnaan Gomori Methenamine Silver (GMS) perbedaan yang membedakan dua jamur ini dapat terlihat dengan jelas. Dengan pewarnaan ini perbedaan yang terdapat antara *Penicillium marneffeii* dan *Histoplasma capsulatum* dapat terlihat, karena kedua jamur ini hanya memiliki sel yeast dan dengan penambahan pewarna Phloxine Tartrazine selain dapat melihat infeksi akibat jamur juga dapat melihat adanya *viral inclusion*.

Ucapan Terima Kasih

Kami mengucapkan Terima Kasih kepada Laboratorium Medis Sudarma, Surabaya, Indonesia atas ketersediannya membantu proses penelitian.

Daftar Rujukan

- [1] Bancroft, John. D., Gamble, Marilyn. 2002. Theory and Practice of Histological Techniques, Fifth Edition. Churchill Livingstone; Harcourt Publishers Limited.
- [2] Thomas, C. F. Jr, Limper, A.H. 2004. Pneumocystis pneumonia. N Engl J Med. 10;350(24):2487-98. doi: 10.1056/NEJMra032588. PMID: 15190141.
- [3] Lautenschlager, I., Lyytikainen, O., Jokipii, L., Jokipii, A., Maiche, A., Ruutu, T., Tukiainen, P., Ruutu, P. 1996. Immunodetection of Pneumocystis carinii in bronchoalveolar lavage specimens compared with methenamine silver stain. J Clin Microbiol. 34(3):728-30. doi: 10.1128/jcm.34.3.728-730.1996. PMID: 8904447; PMCID: PMC228879.
- [4] Jeong, Hyeon. Lee., Ji, Young. Lee., Mi, Ran. Shin., Hyeong, Kee. Ahn., Chul, Whan. Kim., Insun, Kim. 2011 Immunohistochemical Identification of Pneumocystis jirovecii in Liquid-based Cytology of Bronchoalveolar Lavage - Nine Cases Report - The Korean Journal of Pathology; 45: 115-118.
- [5] D'Avigno, Laurie. C., Christina, M. Schofield., Duane, R. Hospenthal. 2008. Pneumocystis Pneumonia. Seminars In Respiratory and Critical Care Medicine; Volume 29, Number 2.
- [6] Centers for Disease Control and Prevention. 2021, October 13. *Pneumocystis pneumonia*. Diambil dari <https://www.cdc.gov/fungal/diseases/pneumocystis-pneumonia/>
- [7] WebMD Editorial Contributors. 2024. Pneumocystis Pneumonia (PCP). Diambil dari <https://www.webmd.com/hiv-aids/aids-hiv-opportunistic-infections-pneumocystis-pcp-pneumonia>.
- [8] Wall, Susan. L. Histology Procedure Manuals. Diambil dari <https://webpath.med.utah.edu/HISTHTML/MANUALS/MANUALS.html>
- [9] <http://www.conftecnic.eu/aitic/?q=node/32>