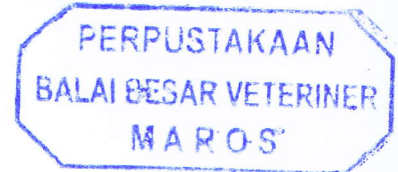


# Pengembangan Metode Pewarnaan Histologi Khusus Trichome Masson's untuk Diagnosa Penyakit pada Hewan

Wahyuni<sup>1</sup>, Enggar Kumorowati<sup>1</sup>, Pitriani<sup>2</sup>, Hasniah Achmad<sup>2</sup>

<sup>1</sup>) Medik Veteriner, Balai Besar Veteriner Maros  
<sup>2</sup>) Paramedik Veteriner, Balai Besar Veteriner Maros  
Email : [yunihadipurnama@gmail.com](mailto:yunihadipurnama@gmail.com)



## Intisari

Telah dilakukan pengembangan metode pewarnaan histologi khusus di balai besar veteriner maros tahun 2015 yaitu pewarnaan khusus untuk trichome masson's . Percobaan pewarnaan ini dilakukan sebanyak lima kali untuk mendapatkan hasil pewarnaan yang sesuai dengan teori yaitu positif berwarna biru untuk kolagen. Tujuan dari pengembangan metode pewarnaan ini adalah dapat digunakan untuk membantu medik veteriner yang berkecimpung dalam dunia histologi dalam mendiagnosa penyakit hewan yang berhubungan dengan peningkatan atau kerusakan pada jaringan kolagen atau jaringan ikat seperti penyakit yang disebabkan agent seperti virus, parasit, jamur ,bakteri maupun tumor.

---

*Kata kunci : pengembangan metode pewarnaan khusus trichome masson's.*

## Pendahuluan

Masson's trichome adalah pewarnaan tiga warna yang digunakan dalam histology. Diciptakan oleh Claude L. Pierre Masson's (1880-1959) yang aplikasinya untuk membedakan secara khusus tetapi sangat cocok membedakan antara sel dari jaringan pengikatnya. Tujuan utama dari pewarnaan trichome ini adalah untuk memperlihatkan jaringan kolagen dan otot secara normal dan membedakannya dalam kondisi tumor. Juga dapat memperlihatkan perubahan jaringan ikat atau fibrosis pada kondisi cirrhosis hati atau pyelonephritis. Untuk keratin dan fiber otot akan terlihat berwarna merah, kolagen dan tulang berwarna biru, sitoplasma berwarna merah atau merah muda dan inti sel akan berwarna coklat ataupun hitam.

Serabut kolagen merupakan jenis serabut protein yang paling banyak terdapat dalam tubuh. Diameternya antara  $1\mu - 12\mu$  rata-rata sebesar eritrosit ( $7,7\mu$ ). Serabut kolagen yang terdiri dari gabungan serabut-serabut halus disebut fibril yang berdiameter  $0,3-0,5\mu$ . Dalam keadaan segar serabut kolagen berwarna putih sehingga disebut serabut putih. Serabut kolagen tahan terhadap tekanan dan tarikan tetapi tidak bersifat lentur. Dengan pewarnaan H&E akan terlihat berwarna merah muda atau merah.

Tujuan dari pengembangan metode ini adalah untuk membantu medik veteriner yang berkecimpung dalam dunia histologi untuk mendiagnosa pasti penyakit hewan, yang berhubungan dengan peningkatan atau kerusakan pada jaringan kolagen dan jaringan ikat seperti penyakit yang disebabkan agent seperti virus, parasit, jamur ,bakteri maupun tumor setelah melakukan pemeriksaan dengan pewarnaan rutin yaitu haematoxylin dan eosin.

## Materi dan Metode

Materi yang digunakan adalah kulit dari marmut yang dipotong menjadi 10 bagian kemudian difixasi dengan BNF 10% selama 2 hari. Dilakukan proses pembuatan histopat selama tiga hari. Percobaan pewarnaan dilakukan sebanyak lima kali sampai

mendapatkan warna dan waktu yang sesuai sehingga hasil yang diharapkan dapat tercapai.

Metode yang digunakan adalah :

1. Proses pembuatan histopatologi

1. Fiksasi

Sampel jaringan difiksasi dengan Buffered Neutral Formalin (BNF), volume Buffered Neutral Formalin (BNF) minimal 10 kali volume jaringan. Pada umumnya waktu yang diperlukan untuk fiksasi sempurna adalah 48 jam.

2. Pemotongan Spesimen

- a. Spesimen yang dipilih untuk pemeriksaan, dipotong setebal 0,5-1 cm.
- b. Potongan spesimen dimasukkan dalam keranjang pemrosesan dengan disertai dengan label nomor spesimen yang ditulis dengan pensil.

3. Prossesing dan Embedding

*Embedding cassette* yang telah diisi spesimen jaringan dimasukkan kedalam *tissue processor* dengan pengaturan waktu selama 20 jam.

4. Pemotongan

- a. Ambil blok jaringan kemudian difiksir pada microtome. Blok jaringan dipotong dengan microtome kasar sehingga didapatkan permukaan yang rata.
- b. Gunakan pisau mikrotom yang masih tajam, ketebalan potongan 5-6 mikron. Pilih potongan jaringan terbaik dari pita yang terbentuk.
- c. Potongan yang terpilih direntangkan pada floating out yang bersuhu sekitar 40°C yang terlebih. Suhu yang ideal akan mengakibatkan potongan jaringan merentang sempurna, tidak berkerut.
- d. Slide yang berisi tempelan potongan jaringan ditempatkan diatas pelat pemanas slide, minimal dua jam.

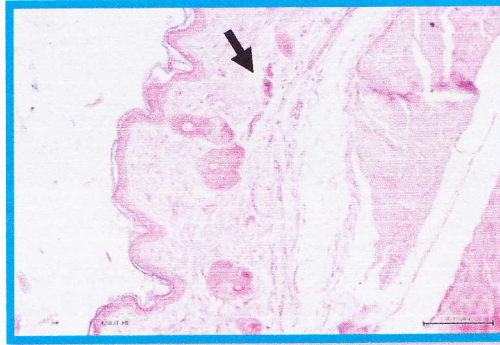
2. Pewarnaan trichome masson's

Metode :

1. Deparafine, cuci air
2. Hilangkan pigmen mercury dengan lugol's iodine 15 menit
3. Cuci dengan air
4. Masukkan dalam larutan sodium tiosulfat 5% 3 menit
5. Cuci dengan air selama 10 menit atau lebih lama
6. Haematoxylin 3 menit
7. 1% acid alkohol cepat 3x
8. Cuci di air
9. Solution acid fuchsin 5 menit (sol A)
10. Cuci aquadest
11. Solution phosmolybdic acid 5 menit (sol B)
12. Keringkan
13. Solution methyl blue 5 menit (sol C)
14. Cuci dengan aquadest
15. 1% acetic acid 2 menit
16. Dehidrasi alkohol
17. Xylol
18. Mounting

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Kolagen pada pewarnaan H&E sebagai berikut :



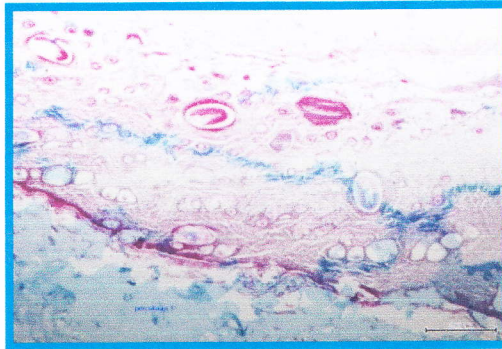
Gambar 1. Jaringan kolagen berwarna merah muda

Percobaan dilakukan sebanyak lima kali yaitu;

1. Percobaan pertama tanggal 23 september 2015

Dengan hasil : warna tidak masuk ke sel, kemungkinan ada tahab yang terlewat

Saran : ulangi sesuai tahab pewarnaan

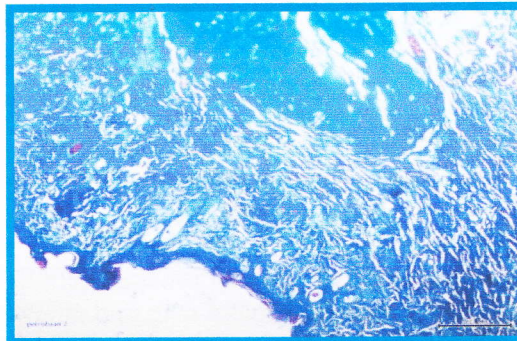


Gambar 2

2. Percobaan kedua tanggal 24 september 2015

Dengan hasil : warna terlalu biru

Saran : tahap acid alkohol kurang lama

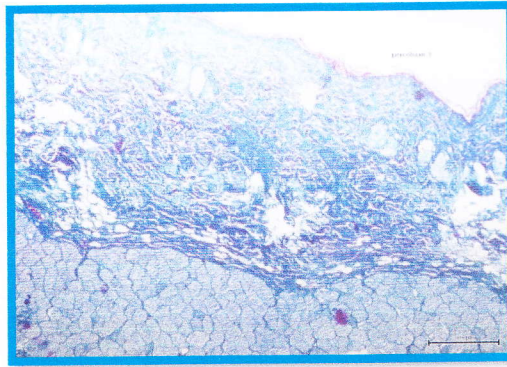


Gambar 3

3. Percobaan ketiga tanggal 25 september 2015

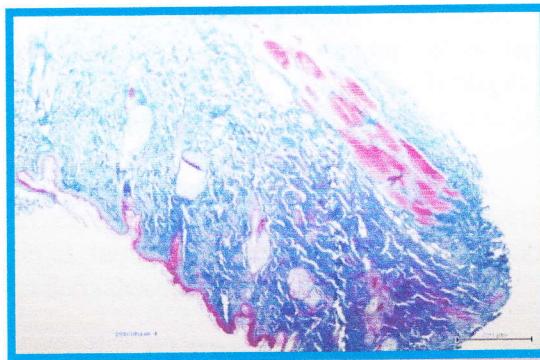
Dengan hasil : warna masih biru, tetapi ada bagian yang terwarnai merah

Saran : sol B dan C dikurangi waktunya jadi 3 menit



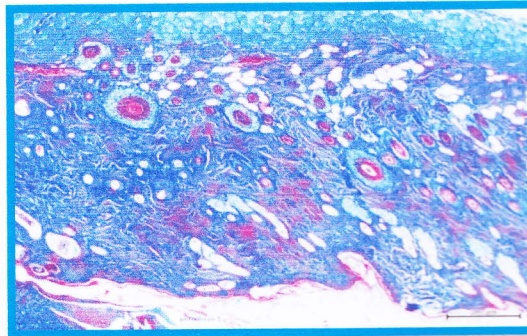
Gambar 4.

4. Percobaan keempat tanggal 2 oktober 2015  
Dengan hasil : warna sudah baik, tetapi warna musculus kurang merah begitu juga bagian epidermis  
Saran : sol B dan C dikurangi waktunya jadi 2 menit



Gambar 5.

5. Percobaan kelima tanggal 4 oktober 2015  
Dengan hasil : warna biru dan merah seimbang, warna kolagen biru, musculus berwarna merah



Gambar 6

Menurut brancroft (2008) hasil warna yang dihasilkan dari pewarnaan masson's trichome adalah inti sel berwarna biru atau hitam, sitoplasma, otot dan eritrosit berwarna merah dan kolagen berwarna biru.

Pada percobaan pertama warna kolagen tidak berwarna biru hanya warna merah pada sitoplasma dan eritrosit. Kemungkinan hal ini disebabkan warna dari solution b dan c yang menyebabkan warna biru tidak masuk ke sel karena slide tidak melalui tahap ke 2 yaitu menghilangkan pigmen mercury dengan iodine dan sodium thiosulfat. Fungsi sodium thiosulfat sebagai pengatur dan memperbaiki warna.

Pada percobaan kedua dan ketiga hasil warna tampak biru secara keseluruhan, hal ini kemungkinan solution B dan C waktunya terlalu lama yaitu 5 menit dan pencelupan acid alkohol untuk peluntur warna biru kurang lama, sehingga menutupi warna dari solution A yang menghasilkan warna merah. Pada percobaan keempat dikurangi waktunya jadi 3 menit dan hasilnya lebih baik yaitu warna kolagen biru tetapi warna musculus (otot) masih tercampur warna merah dan biru. Pada percobaan kelima waktu solution B dan C menjadi 2 menit dan waktu solution A tetap 5 menit dan hasilnya sangat baik antara warna biru dan merah seimbang dan sesuai dengan teori dari pewarnaan trichome masson's.

Pewarnaan trichome massons dapat digunakan sebagai diagnosa penyakit hewan seperti peningkatan jaringan ikat pada kasus distomatosis, pyelonepritis pada kasus leptospirosis, fibroblast tumor dan kasus penyakit pada kulit (dermatitis) . Dengan pewarnaan khusus ini dapat mempermudah medik veteriner untuk diagnosa pasti ke arah agent penyebab penyakit (diagnosa etiologi)

### **KESIMPULAN**

Setelah dilakukan percobaan sebanyak lima kali barulah di dapat hasil pewarnaan pewarnaan khusus dengan metode trichome masson's. Terdapat perbedaan waktu perlakuan yaitu pada solution B ( phosmolybdc acid) dan solutin C (methylin blue ) dari 5 menit (teori) menjadi 2 menit.

### **SARAN**

Perlu dilakukan percobaan pada kasus penyakit hewan seperti distomatosis pada hati, pyelonephritis pada ginjal, tumor pada kulit dan infeksi kulit akibat infeksi parasit seperti sarcoptes sp. maupun demodex sp.

### **DAFTAR PUSTAKA**

- Anonimus (2013). Massons Trichome Stain. Wikipedia Foundation Inc.
- Bancroft, J. Gambler, M. (2008). Theory and Practice Of Histological Techniques, 6<sup>th</sup> Edition. Chusrchil-Livingston London.
- Bricegirdle, B (1997). A History of Microtechnique. 2<sup>nd</sup>. Science Heritage Ltd. Chicago.
- Jasrin, T.A (2006). Histology Jaringan Pengikat.
- Jones, M.L (2010). Special Stain and H&E chapter 10 Mastering The Trichome Stain. DAKO North Amerika. Carpinteria. California.
- Luna LG (1968). Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology 3<sup>rd</sup> Edition. American Registry of Pathology. McGraw-Hill Book Company. New York.