

Perbedaan Cara Pembuatan Pewarnaan Mayer's *Haematoxyline* pada Tiga Jenis Sediaan Bahan *Haematoxyline*

The difference Methods to Making Mayer's Haematoxyline Dying In Three Kinds Haematoxyline Stockes

Wahyuni¹, Wirawan H.P.², Ahmad H.³, Pitriani¹

¹Laboratorium Patologi, Balai Besar Veteriner Maros

²Laboratorium Parasitologi, Balai Besar Veteriner Maros

³Instalasi Sterilisasi dan Media, Balai Besar Veteriner Maros

Email: yunihadipurnama@gmail.com

Intisari

Terdapat tiga sediaan bahan *haematoxyline* di Balai Besar Veteriner Maros laboratorium patologi. Sediaan bahan tersebut digunakan sebagai bahan pembuat pewarnaan Mayer's *haematoxyline* yang digunakan sebagai pewarnaan rutin histopatologi. Sediaan *haematoxyline* memiliki rumus kimia berbeda-beda pada setiap bentuk sediaannya sehingga dibutuhkan cara yang berbeda pula dalam pembuatan pewarnaannya. Tujuan dari eksperimen ini untuk mengetahui cara yang terbaik bagi tiga sediaan *haematoxyline* tersebut serta hasilnya (hasil warna dalam sel) setelah digunakan dalam proses pewarnaan jaringan dengan metode Mayer's *haematoxyline*.

Kata kunci : mayer's *haematoxyline*, histopatologi.

Abstract

The three kinds of haematoxylin stockes in patology laboratory of Disease Investigation Centre Maros. The-Mayer's haematoxylin dying stockes were used for routine histopathology methods. The haematoxylin has different chemical formula, so it is need different methods to make Mayer's haematoxylin staining. The purpose of this experiment is to knowing the best methods from three kinds haematoxylin stockes and the results when it is used tissue prossesing with Mayers haematoxylin staining method.

Key words : mayer's, *haematoxyline*, histopathology.

PENDAHULUAN

Pengecatan *haematoxyline* dan *eosin* telah digunakan setidaknya selama satu abad dan masih penting untuk mengenali berbagai jenis jaringan dan perubahan morfologi yang membentuk dasar diagnosis kanker kontemporer. *Stain* telah berubah selama bertahun-tahun karena bekerja dengan baik dengan berbagai *fixatives* dan menampilkan berbagai sitoplasma, fitur matriks nuklear dan ekstraseluler.

Haematoxyline memiliki warna biru-ungu tua dan warna asam nukleat oleh reaksi kompleks tidak sempurna dipahami. *Eosin* merah muda dan warna protein nonspesifik. Inti di dalam jaringan khas berwarna biru, sedangkan sitoplasma dan matriks ekstraseluler memiliki berbagai tingkat pewarnaan merah muda. *Haematoxyline*, umumnya tanpa eosin, berguna sebagai *counterstain* untuk prosedur imunohistokimia atau hibridisasi yang menggunakan substrat kolorimetri (seperti alkali *peroxidase*)

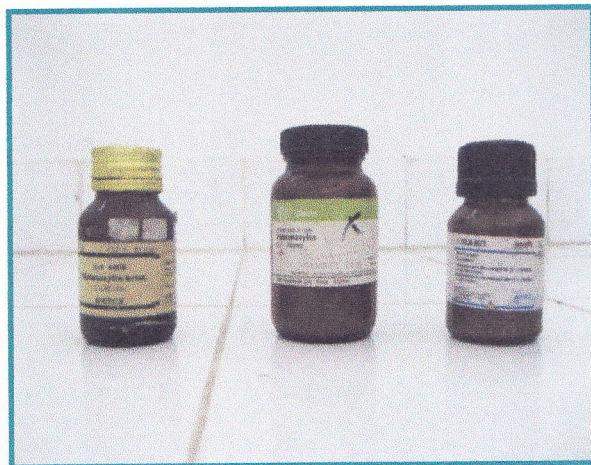
Mayer's *Haematoxyline* merupakan salah satu metode pewarnaan *haematoxyline* dan *eosin*. Bahan utama yang digunakan adalah *haematoxyline* bisa sediaan kristal *haematoxyline* biasa atau monohidrat. Adanya perbedaan sediaan *haematoxyline* tersebut sehingga cara dalam pembuatan pewarnaan pasti ada perbedaannya.

TUJUAN

Tujuan dari eksperimen ini adalah untuk mengetahui cara yang terbaik bagi dari sediaan *haematoxyline* tersebut serta hasilnya (hasil warna dalam sel) setelah digunakan dalam proses pewarnaan jaringan sebagai pewarnaan Mayer's *haematoxyline*.

MATERI DAN METODE

Materi yang dibutuhkan dari eksperimen ini adalah tiga sediaan *haematoxyline* yaitu *haematoxyline crystal*, *haematoxyline* CI 75290, *haematoxyline monohidrat*. Sediaan organ dalam slide sebanyak 6 buah slide. Bahan-bahan lain yang dibutuhkan *sodium iodate*, *potassium alum*, *citric acid* dan *chloral hydrate*.



Gambar 1. Sediaan *haematoxyline*

Metode yang digunakan adalah :

1. Pewarnaan Mayer's *haematoxyline* menurut Luna (1968)

Bahan yang dibutuhkan :

- <i>Haematoxyline crystals</i>	1 gr
- <i>Distilled water</i>	1000 ml
- <i>Sodium iodate</i>	0,2 gr
- <i>Potassium alum</i>	50 gr
- <i>Citric acid</i>	1 gr
- <i>Chloral hydrate</i>	50 gr

Cara pembuatan : *Potassium alum* dicampur air tanpa pemanasan, campurkan *haematoxyline* di larutan ini tambahkan *sodium iodate*, *acid*, *chloral hydrate*. Semua bahan dicampur sampai semua komponen tercampur. Hasil yang didapat warna merah keunguan.

2. Pewarnaan Mayer's *Haematoxyline* menurut Bancroft (2008)

Bahan yang dibutuhkan :

- <i>Haematoxyline</i> CI 75290/ <i>monohidrat</i>	1 gr
- <i>Distilled water</i>	1000 ml
- <i>Sodium iodate</i>	0,2 gr
- <i>Potassium alum</i>	50 gr
- <i>Citric acid</i>	1 gr
- <i>Chloral hydrate</i>	50 gr

Cara pembuatan : *haematoxylinen*, *potassium alum* dan *sodium iodate* dicampur dengan air dalam keadaan hangat kemudian dikocok. *Chloral hydrate* dan *citric acid* ditambahkan dan dicampur kemudian dipanaskan sampai mendidih selama 5 menit. Dinginkan kemudian disaring.

Tabel 1. Tahap Pewarnaan Mayer's Haematoxyline Eosin

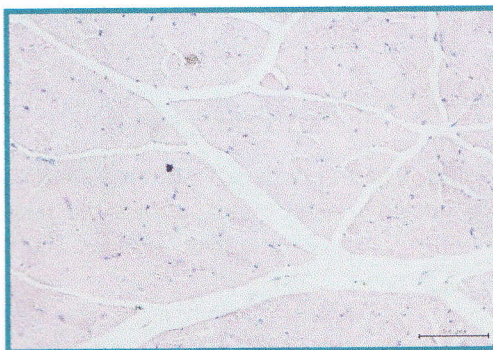
No	Reagensia	Waktu
1	Xylo I	2 menit
2	Xylo II	2 menit
3	Alkohol 100% I	1 menit
4	Alkohol 100% II	1 menit
5	Alkohol 95% I	1 menit
6	Alkohol 95% II	1 menit
7	Mayer's Haematoxylin	15 menit
8	Rendam dalam Tap Water	20 menit
9	Masukkan dalam Eosin	15 detik -2 menit
10	Alkohol 95 % III	2 menit
11	Alkohol 95 % IV	2 menit
12	Alkohol 100% III	2 menit
13	Alkohol 100% IV	2 menit
14	Alkohol 100% V	2 menit
15	Xylo III	2 menit
16	Xylo IV	2 menit
17	Xylo V	2 menit

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rumus kimia *haematoxyline* adalah $C_{16}H_{14}O_6$ tetapi di Balai Besar Veteriner Maros sediaan yang tersedia adalah *haematoxyline crystal*, *haematoxyline* CI 75290 dan *haematoxyline monohydrat* ($C_{16}H_{14}O_6 \cdot H_2O$). Karena sediaan berbeda sehingga dibutuhkan cara yang berbeda pula.

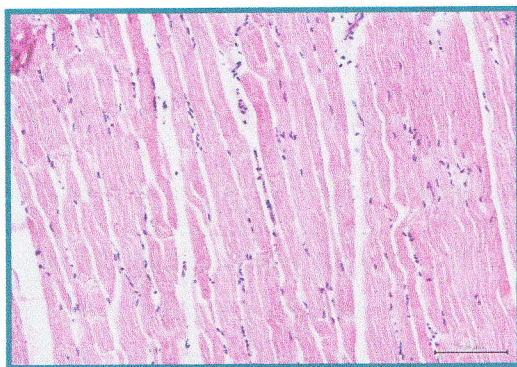
Eksperimen ini dilakukan selama dua hari dari tanggal 23-24 oktober 2013 yaitu :

1. Eksperimen pertama tanggal 23 oktober 2013 dengan metode Luna dan hasil pewarnaan yang dihasilkan dalam sel (gambar 3)



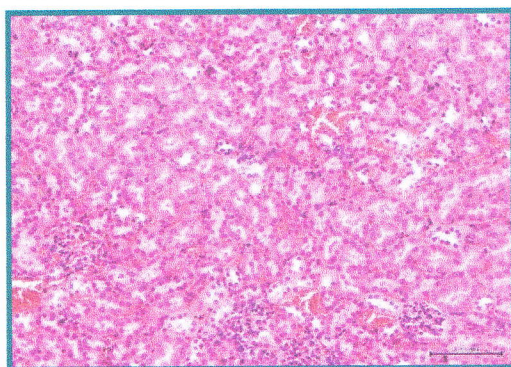
Gambar 3. Pewarnaan dengan *Haematoxylin Crystal*. Hasil pewarnaan tampak pucat (merah dan biru kurang terang).

2. Eksperimen kedua tanggal 24 oktober 2013 dengan metode Bancroft (2008) hasil pewarnaan yang dihasilkan dalam sel (gambar 4)



Gambar 4. Pewarnaan dengan *Haematoxyline* CI 75290. Hasil pewarnaan sangat baik (antara warna merah dan biru seimbang)

3. Eksperimen ketiga tanggal 29 oktober 2013 (gambar 5)



Gambar 5. Pewarnaan dengan *haematoxyline monohydrat*. Hasil pewarnaan lebih baik dan terang

Eksperimen pertama dengan sediaan *haematoxyline crystal* cara untuk pemakaiannya menurut (Lama 1968) tanpa pemanasan, tetapi hasil pewarnaannya kurang terang. Kemungkinan hal itu disebabkan karena sediaan *haematoxyline crystal* sudah terlalu lama dan tidak diketahui masa kadaluarsanya, sedangkan sediaan yang baru sangat sulit didapat di pasaran. Kelebihan memakai cara ini adalah lebih mudah karena tanpa pemanasan hanya harus didiamkan semalam sebelum dipakai sebagai bahan pewarnaan rutin.

Eksperimen kedua dan ketiga memakai cara yang sama yaitu dengan pemanasan. Hasil yang didapat pada gambaran sel sangat jelas warna merah dan biru. Sediaan *monohydrat* waktu untuk metode Mayer's dikurangi menjadi 10 menit karena bila 15 menit hasilnya terlalu biru. Kekurangan dari cara ini adalah melalui pemanasan dan terlalu lama karena memakai penyaringan. Tetapi tidak didiamkan semalam dan dapat langsung digunakan sebagai bahan pewarnaan rutin.

KESIMPULAN

Bahwa ketiga sediaan *haematoxyline* dapat digunakan sebagai bahan pewarnaan Mayer's *haematoxyline* dengan metode pemanasan dan tidak. Hasil yang terbaik pada sediaan *haematoxyline* CI dan *monohydrat* adalah dengan metode pemanasan.

SARAN

Pemakaian sediaan *haematoxyline crystal* perlu diperhatikan masa kadaluarsanya atau di coba pada bahan yang masih baru sehingga dapat dilihat hasil yang terbaiknya.

DAFTAR PUSTAKA

- Bancroft, J., dan Gambler, M., 2008. Theory and Practice Of Histological Techniques, 6th Edition. Chusrchil-Livingston London.
- Kiernan, J., A 2008. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. 4th ed. Bloxham, UK: Scion.
- Lillie, R.D., Pizzolato, P., dan Donaldson, P.T., 1976. Nuclear stains with soluble metachrome mordant lake dyes. The effect of chemical endgroup blocking reactions and the artificial introduction of acid groups into tissues. Histochemistry 49: 23-35.
- Llewellyn, B.D., 2009. Nuclear staining with alum-haematoxyline. Biotech. Histochem. 84: 159-177.
- Luna, L.G., 1968. Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology 3rd Edition. American Registry of Pathology. McGraw-Hill Book Company. New York.
- Pachter, H., Meloan, S.N., dan Waldrop, F.S., 1986. Application of current chemical concepts to metal-haematein and -brazilein stains. Histochemistry 85: 353-364.