

## Gambaran Kualitas Preparat Awetan *Amoeba* Berdasarkan Variasi Waktu Perendaman Trichrome

*Description of the Quality of Amoeba Preservation Preparations Based on Variations in Trichrome Staining Time*

**Andi Putri Cahyani, Tulus Ariyadi<sup>2</sup>, Aditya Rahman Ernanto<sup>3</sup>**

<sup>1,2,3</sup> Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang

Corresponding author : [putrichyni17@gmail.com](mailto:putrichyni17@gmail.com)

### Abstrak

*Amoeba* pada saluran pencernaan manusia umumnya tidak patogen tetapi beberapa diantaranya patogen dan berkontribusi pada peningkatan jumlah penyakit pencernaan di negara miskin dan berkembang. Pemeriksaan mikroskopik menjadi salah satu pemeriksaan penunjang penyebab infeksi *Amoeba*. Pembuatan Preparat awetan *amoeba* salah satunya menggunakan pewarnaan trichrome dan menghasilkan kualitas preparat yang baik, dengan pengecatan trichrome sitoplasma akan berwarna hijau biru sedangkan nukleus, badan kromatin akan berwarna merah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gambaran kualitas preparat awetan *amoeba* berdasarkan variasi waktu (10, 15, dan 20 menit) perendaman trichrome. Jenis penelitian ini adalah eksperimen. Sampel pada penelitian ini adalah feses positif *Amoeba*. Hasil penelitian menggunakan pewarnaan trichrome dengan variasi waktu 10,15 dan 20 menit didapatkan hasil preparat awetan *Amoeba* dilihat dari stadium kista *E.histolytica* yang terlihat jelas dan kejernihan dari nukleus *Amoeba* walaupun warna merah dari *Amoeba* tersebut terlalu pekat sehingga badan kromatin dll tidak terlihat dan warna hijau biru yang mewarnai sitoplasma dari *Amoeba* juga tidak terlihat.

**Kata Kunci :** *Amoeba*, Kualitas preparat, Variasi waktu, Pewarnaan trichrome.

### Abstract

*Human gastrointestinal amoeba are generally not pathogenic but some are pathogenic and contribute to the increasing number of digestive diseases in poor and developing countries. Microscopic examination is one of the supporting examinations for the cause of amoeba infection. One way of making preserved amoeba preparations is using trichrome staining and produces good quality preparations, with trichrome painting the cytoplasm will be blue green while the nucleus and chromatin bodies will be red. This research aims to determine the quality of amoeba preservation preparations based on variations in time 10, 15, and 20 minutes showed that the preserved amoeba preparations were seen from the E. Histolytica cyst stage which was clearly visible and the clarity of the amoeba nucleus although the red color of the amoeba was too thick so that the chromatin bodies etc. Were not visible and the color the blue green that colors the cytoplasm of amoeba is also not visible.*

**Keywords :** *amoeba, quality of preparations, time variations, trichrome staining.*

## PENDAHULUAN

Infeksi Protozoa berkisar antara 10-18%, dengan prevalensi sekitar 6,8% diare di Indonesia, paling sering ditemukan pada kelompok usia 0 hingga 4 tahun sebanyak 20,5%. (Riskesdas 2013). Menurut McHardy dan Izza. (2014) *Amoeba* pada saluran pencernaan manusia biasanya tidak patogen tetapi beberapa ada yang patogen dan berkontribusi pada peningkatan jumlah penyakit pencernaan di seluruh dunia, terutama di negara miskin dan berkembang. *Amoeba* patogen diantaranya *Entamoeba bangladeshi* (Petri. 2012) *Entamoeba histolytica* (Nowak. 2015), *Dientamoeba fragilis* (Van Gestel. 2019), dan *Blastocystis* sp. (Kok. 2019) dapat menyebabkan diare, disentri, dan kolitis pada orang dengan tingkat keparahan ringan hingga parah pada manusia. Sekitar 12% orang di seluruh dunia terinfeksi agen penyebab penyakit amoebiasis ini dan salah satu dari tiga penyakit yang menyebabkan kematian tertinggi setelah malaria dan scistosomiasis (Medina-Rosales. 2021; Shahi. 2019. Vaerewijck. (2008) menyatakan bahwa *Amoeba* patogen dan tidak patogen menimbulkan masalah khusus dalam kesehatan masyarakat maupun kesehatan klinik.

Pemeriksaan mikroskopis sediaan preparat *Amoeba* tidak dapat diwarnai dengan pewarnaan biasa karena parasit *Amoeba* yang terlalu kecil dan tidak bisa dilihat tanpa mikroskop, sehingga diperlukan pewarnaan khusus. Tan. 2010 dan Saidin. 2019 menyatakan bahwa dalam pemeriksaan parasitologi, beberapa pewarnaan umum digunakan, termasuk trichrome, Giemsa, Wright's, Iron hematoxylin, Chorazole black E, dan Methylene blue. Tetapi pewarnaan khusus yang sering digunakan adalah pewarnaan trichrome. Metode pewarnaan ini memungkinkan preparat untuk memberikan kontras yang baik dan dapat membedakan parasit dari serpihan atau artefak tinja (Garcia. 2009).

Menurut Depertemen Kesehatan RI 2007 hasil penglihatan atau survei di laboratorium menggunakan pewarnaan trichrome tidak sesuai dengan waktu yang ditetapkan. Karena banyaknya pasien dan mempercepat proses perendaman trichrome. Perendaman terlalu cepat, apusan tidak terwarnai dengan sempurna, dan perendaman terlalu lama, dapat mempengaruhi bentuk dari parasit *Amoeba*. Akibatnya, sulit untuk menentukan hasil pembacaan apusan untuk mengidentifikasi parasit *Amoeba* (Rahmad. 2011). Pewarnaan preparat *Amoeba* harus dilakukan dengan waktu yang maksimal sehingga pewarna trichrome yang digunakan dapat diserap dengan baik. (Agnes mega, 2019).

Kualitas preparat yang baik dengan pengecatan trichrome sitoplasma parasite akan berwarna hijau biru, sedangkan nuklues, badan kromatin dan lain-lain akan berwarna merah keunguan sehingga hasil pewarnaan preparat dengan waktu yang tidak sesuai perendaman trichrome akan memberikan hasil yang buruk antara lain, secara makroskopik gambaran bentuk preparat tidak terlihat jelas dan bentuk dari parasite *Amoeba* tidak terlihat. Ketika preparat dilihat dibawah mikroskop, latar belakang preparat terlihat kotor atau tidak jelas, serta sitoplasma, inti sel, kromatin dan kariosom tidak terwarnai dengan baik dan tidak terlihat dengan jelas. (Irianto, 2013; Setya, 2014).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan mengidentifikasi "Gambaran kualitas preparat awetan *Amoeba* berdasarkan variasi waktu perendaman trichrome".

---

## METODE

Jenis penelitian ini adalah eksperimental yang dilakukan di Laboratorium Parasitologi TLM Unimus. Subjek yang digunakan pada penelitian ini adalah *Amoeba* dari pasien penderita diare di Rs Panti Wiloso Dr. Cipto. Objek yang digunakan pada penelitian ini adalah feses yang positif *Amoeba*. Untuk memperkecil kesalahan maka penelitian dilakukan pengulangan dengan menghitung banyaknya pengulangan berdasarkan rumus Federer (1963), didapatkan pengulangan sebanyak 6 kali.

Persiapan sampel dilakukan dengan mencampurkan sampel feses dengan pengawet PVA (polyvinyl-alcohol), kemudian dibuat preparat dengan cara dilebarkan dengan lidi diatas objek glass, kemudia biarkan kering angin.

Pengecatan Trichrome dilakukan dengan preparat dimasukkan dalam larutan Iodin alkohol selama 10-20 menit. Dilanjutkan dengan perendaman ke dalam alkohol 70% (I) dan alkohol 70% (II) selama 3-5 menit. Kemudian masukan preparat ke dalam pewarna trichrome dengan waktu 10, 15, dan 20 menit. Selanjutnya perendaman alkohol asam selama 5-10 detik. Kemudian dengan perendaman ke dalam alkohol 95% (I) dibilas singkat dilanjutkan dengan perendaman alkohol 95% (II) selama 5 menit. Selanjutnya perendaman karbol xilena selama 5 sampai 10 menit dan dilanjutkan perendaman xylene 10 menit. Tahap terakhir memberikan entelan dan ditutup dengan deck glass. Setelah itu lakukan pengamatan mikroskopis dengan perbesaran 40x dan 1000x. Dalam setiap langkah pada pewarnaan dengan trichrome, slide dan spesimen harus dikeringkan dengan jalan menyerap cairan yang ada dengan kertas pengisap selama 2-4 detik sebelum dimasukkan pada larutan berikutnya agar larutan yang satu tidak terkontaminasi dengan larutan yang lain (Sanjaya, 2007).

Dalam penelitian ini, data dikumpulkan dengan analisis laboratorium yang menggunakan sampel feses. Analisis data akan disajikan secara deskriptif dengan memberikan gambaran morfologi kualitas preparat awetan *Amoeba* berdasarkan variasi waktu perendaman trichrome.

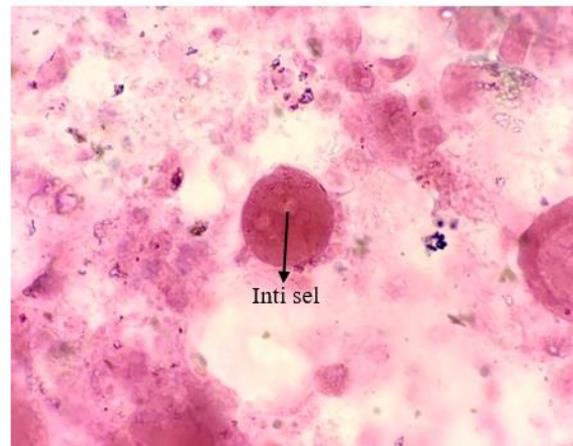
## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil penelitian morfologi *Amoeba* pada mikroskop

#### 1. Morfologi *Amoeba* dengan perendaman Trichrome selama 10 menit

Gambar 1 :

Morfologi *Amoeba* dengan perendaman Trichrome selama 10 menit



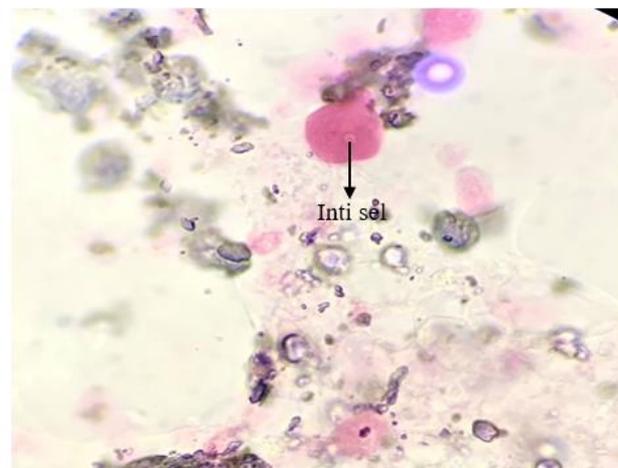
Sumber : Dokumentasi Pribadi

Berdasarkan pengamatan mikroskop preparat awetan perendaman trichrome dengan waktu 10 menit pada gambar 1, morfologi *Amoeba* masuk dalam kategori baik yaitu dilihat dari stadium kista *E.histolytica* yang terlihat jelas dan kejernihan dari nukleus *Amoeba* walaupun warna merah dari *Amoeba* tersebut terlalu pekat sehingga badan kromatin dll tidak terlihat dan warna hijau biru yang mewarnai sitoplasma dari *Amoeba* juga tidak terlihat.

#### 2. Morfologi *Amoeba* dengan perendaman Trichrome selama 15 menit.

Gambar 2 :

Morfologi *Amoeba* dengan perendaman Trichrome selama 15 menit

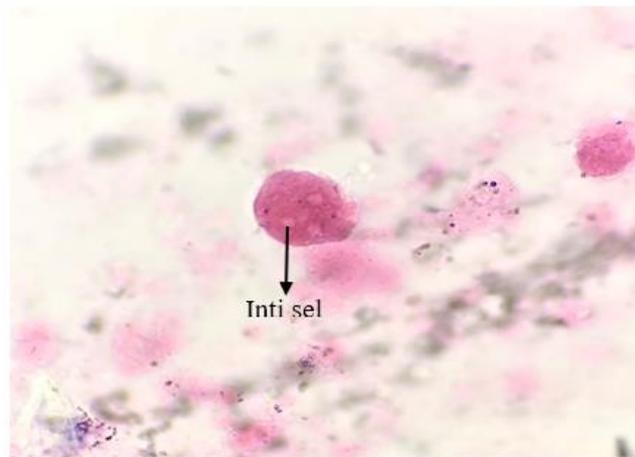


Sumber : Dokumentasi Pribadi

Berdasarkan pengamatan mikroskop preparat awetan perendaman trichrome dengan waktu 15 menit pada gambar 2, morfologi *Amoeba* masuk dalam kategori baik yaitu dilihat dari stadium kista *E.histolytica* yang terlihat jelas dan kejernihan dari nukleus *Amoeba* walaupun warna merah dari *Amoeba* tersebut terlalu pekat sehingga badan kromatin dll tidak terlihat dan warna hijau biru yang mewarnai sitoplasma dari *Amoeba* juga tidak terlihat.

### 3. Morfologi *Amoeba* dengan perendaman Trichrome selama 20 menit.

Gambar 3 :



Sumber : Dokumentasi Pribadi

Berdasarkan pengamatan mikroskop preparat awetan perendaman trichrome dengan waktu 20 menit pada gambar 3, morfologi *Amoeba* masuk dalam kategori baik yaitu dilihat dari stadium kista *E.histolytica* yang terlihat jelas dan kejernihan dari nukleus *Amoeba* walaupun warna dari *Amoeba* tersebut terlalu pekat sehingga badan kromatin dll tidak terlihat dan warna hijau biru yang mewarnai sitoplasma dari *Amoeba* juga tidak terlihat.

### Pembahasan

Berdasarkan hasil gambaran mikroskopis morfologi *Amoeba* dengan variasi waktu perendaman trichrome 10,15 dan 20 menit yang diamati pada mikroskop dengan perbesaran 40x dan 1000x masuk dalam kategori baik yaitu dilihat dari stadium *Amoeba* yang terlihat jelas dan kejernihan dari nucleus *Amoeba*, tetapi warna merah pada *Amoeba* tersebut terlalu pekat, sehingga badan kromatin tidak terlihat dan warna hijau biru yang mewarnai sitoplasma dari *Amoeba* juga tidak terlihat, peneliti sudah melakukan 3 kali percobaan tetapi hasil dari preparat awetan *Amoeba* tetap sama hal ini kemungkinan dikarenakan komposisi dari pewarnaan trichrome terdapat kekurangan dikarenakan warna hijau biru tidak mewarnai sitoplasma dari *Amoeba* tersebut dan warna merah yang terlalu pekat sehingga badan kromatin dll tidak terlihat.

Penelitian ini memerlukan ketelitian yang sangat baik dari peneliti dikarenakan pewarna trichrome yang kurang maksimal dalam mewarnai *Amoeba* sehingga pada saat

pembacaan preparat awetan *Amoeba* menggunakan mikroskop mendapatkan hasil yang baik, untuk meminimalkan kesalahan pada penelitian ini seharusnya melakukan perlakuan sebanyak 6 kali tetapi pada proses penelitian ini hanya dilakukan sebanyak 3 kali mengingat sampel dan volume dari pewarna trichrome terbatas dikarenakan stok dari pewarna trichrome sulit untuk didapatkan. Sampel penelitian dari feses yang positif *Amoeba* dibuat preparat awetan yang dilakukan sebanyak 3 kali perlakuan banyak ditemukan *Amoeba* dengan stadium kista dengan spesies *Entamoeba histolytica*.

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi kualitas preparat awetan *Amoeba* adalah pada saat pembuatan preparat awetan terlalu tebal atau tipis yang akan menyulitkan dalam pembacaan kualitas preparat, keterampilan dan ketelitian peneliti dalam pembuatan dan pembacaan preparat, kualitas dari pewarna trichrom menggunakan mutu cat yang kurang baik dan kualitas dari pengawet PVA yang kurang baik, perendaman preparat terlalu lama pada larutan alkohol asam.

Berdasarkan hasil mikroskopis perendaman trichrome dengan masing-masing waktu 10 menit, 15 menit, dan 20 menit didapatkan hasil sama tidak ada perbedaan terlihat dari stadium *Amoeba* yang terlihat jelas dan kejernihan dari nucleus *Amoeba* sehingga kualitas preparat awetan *Amoeba* berdasarkan variasi waktu perendaman trichrome dapat menggunakan variasi waktu perendaman trichrome selama 10 menit, selain lebih efisien waktu pada variasi ini juga menghasilkan preparat yang baik apabila menggunakan pewarna trichrome dengan mutu cat yang baik.

McHardy. 2014 menyatakan bahwa mengidentifikasi *Amoeba* secara mikroskopis juga sangat penting untuk mediagnosis dan membedakan spesies *Amoeba* menyesuaikan morfologinya dengan menggunakan pewarna trichrome.

## KESIMPULAN

Hasil penelitian mengenai kualitas preparat awetan *Amoeba* berdasarkan variasi waktu perendaman Trichrome diperoleh hasil yaitu kualitas preparat awetan *Amoeba* dengan perendaman waktu 10, 15 dan 20 menit terlihat baik dari stadium kista *E.histolytica* yang terlihat jelas dan kejernihan dari nukleus amoeba. Akan tetapi, warna merah dari *Amoeba* tersebut terlalu pekat sehingga badan kromatin tidak terlihat dan warna hijau biru yang mewarnai sitoplasma dari *Amoeba* juga tidak terlihat.

Untuk penelitian selanjutnya, diperlukan kualitas cat trichrome yang lebih baik dengan memperhatikan komposisi yang terkandung didalamnya, dan untuk efisiensi waktu perendaman trichrome selama 10 menit dapat digunakan karena cukup menghasilkan preparat yang terlihat jelas dan jernih pada bagian nukleus dari *Amoeba*.

## DAFTAR PUSTAKA

Anisah, Ayu Arum. 2019. “Variasi Waktu perendaman Alkohol Pada Preparat Awetan *Ctenocephalides canis*”. Karya Tulis Ilmiah. Universitas Muhammadiyah Semarang.

- Dhevy, Artika Sari. 2023. “*Identifikasi Protozoa Usus pada Masyarakat yang Mengonsumsi Air Galon di Wilayah Pesisir Desa Toronipa*”. Karya Tulis Ilmiah thesis, Poltekkes Kemenkes Kendari.
- Herbowo, Herbowo, dan Agus Firmansyah. 2016. “Diare Akibat Infeksi Parasit” dalam *Sari Pediatri* 4.4:198-203.
- Issa R. 2014. “*Non-Pathogenic Protozoa (Review Article)*” dalam *Int J Pharm Pharm Sci*. 6(3):30-40.
- Junaidi, Junaidi. 2021. “*Penyebaran dan Resiko Penularan Amoeba Usus pada Manusia dan Monyet Ekor Panjang Liar di Kota Sabang Provinsi Aceh*”. Diss. IPB (Bogor Agricultural University).
- Khoirunisa, sept yana.2022.”*Pengaruh Variasi Konsentrasi Ph Terhadap Morfologi Telur Ascaris lumbricoides*”. *Karya Tulis Ilmiah*, Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Marí, Rubén Bueno. 2015. “*Animal Health and Zoonoses in The Context of” One World, One Health” Concept*” dalam *J Etiol Anim Health* 1.001.
- Mokobi,Imam.2022.*Pewarnaan Trikom Wheatley*.Sagar aryal.Catatan Mikroba.
- Ompusunggu, Sahat Mangapul. 2017. *Pedoman Pemeriksaan Parasit: Feses, Darah, Cairan Tubuh, dan Jaringan*. Jakarta: EGC.
- Putri, Agnes Mega. 2019. “*Pengaruh Variasi Waktu Pewarnaan Menggunakan Giemsa 10% Terhadap Hasil Sedih Darah Malaria*”. Diploma thesis, Poltekkes Kemenkes Kupang.
- Paniker, CK Jayaram, and Sougata Ghosh. 2017. *Panikes’s Textbook of Medical Parasitology*. JP Medical Ltd.
- Setya, Adhi Kumoro, S.Pd. 2014. *Parasitologi: Praktikum Analisis Kesehatan*.Jakarta:EGC.
- Suriani, Ikhfa Irma. 2023. “*Gambaran Histologi Tumor Ginjal Berdasarkan Variasi Waktu Penundaan Pewarnaan Haematoxylin Eosin (HE)*.” Karya Tulis Ilmiah thesis, Poltekkes Kemenkes Kendari.
- Siniaga, Eka Margareth, dan Maniur Arianto Siahaan. 2016. “*Analisa Kista Entamoeba Histolytica Pada Feace Anak Sd Inpres 064151 Parapat Kabupaten Simalungun*” dalam *Junral Analisis Laboratorium Medik* 1.2
- Sucipto.2019.*Parasitologi Kesehatan*. Yogyakarta: Gosyen Publishing.
- Soedarto, D. T. 2016. *Buku Ajar Parasitologi Kedokteran Edisi Kedua*. Jakarta: Sagung Sejo
- Yunus, Reni, et al.2022.*Parasitologi Medik Dasar*.