

TIGA PEWARNAAN UNTUK MELIHAT GRANULA METAKROMATIK

Akhmad Sudibya
Bagian Mikrobiologi
Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya

Abstract

There are two stains in addition to Neisser's Stain to detect metachromatic granules. The two stains are Albert's Diphtheria Stain and Loeffler's Alkaline Methylene Blue Stain for Metachromatic Granules. They should be taught to medical students.

Keywords : Albert's Diphtheria Stain, Loeffler's Alkaline MethyleneBlue Stain for Metachromatic Granules, Neisser's Stain, should be taught to medical students

Pendahuluan

Ada tiga metoda pewarnaan untuk melihat granula metakromatik. Ketiga pewarnaan tersebut adalah Pewarnaan Loeffler, Pewarnaan Albert, dan Pewarnaan Neisser. Pewarnaan Neisser diajarkan pada *praktikum* mikrobiologi kedokteran. Pewarnaan Loeffler dan Pewarnaan Albert kurang populer karena tidak diajarkan pada praktikum mikrobiologi kedokteran. Pewarnaan Albert paling sering dibahas pada buku-buku terbitan WHO.

Granula Metakromatik

Granula metakromatik disebut juga granula volutin. Granula metakromatik tidak hanya ditemukan pada *Corynebacterium diphtheriae* tetapi juga di beberapa bakteri selain *Corynebacterium diphtheriae*, fungi, algae, dan protozoa. Granula metakromatik mengandung polifosfat, asam ribonukleat, dan protein. Granula metakromatik sangat mungkin mempunyai fungsi sebagai sumber cadangan energi (Beishir, 1991). Literatur yang menyebutkan keberadaan granula metakromatik sampai tingkat spesies pada

sejumlah bakteri selain *Corynebacterium diphtheriae*, fungi, algae, dan protozoa belum ditemukan.

Nama Lain Pewarnaan Albert (Beishir, 1991 ; WHO, 2003)

Nama lain untuk Pewarnaan Albert adalah *Albert's Diphtheria Stain*, *Albert's Differential Stain*, dan *Albert Stain* (Beishir, 1991 ; WHO, 2003).

Cara Pewarnaan Albert Versi Beishir (Beishir, 1991)

Pertama, buatlah sediaan. Kedua, tetesilah sediaan dengan Zat Warna Albert dan biarkanlah selama 5 menit. Ketiga, bersihkan sediaan dari sisa-sisa zat warna (Jangan dicuci dengan air!). Keempat, tetesilah dengan Larutan Lugol dan biarkanlah selama 1 menit. Kelima, miringkan sediaan supaya bersih dari sisa-sisa zat warna. Keenam, cucilah dengan air yang mengalir. Ketujuh, keringkan sediaan (Beishir, 1991).

Cara Pewarnaan Albert Versi WHO (WHO, 2003)

Pertama, buatlah sediaan. Kedua, tetesilah sediaan dengan Zat Warna Albert dan biarkanlah selama 3-5 menit. Ketiga, cucilah sediaan dengan air mengalir, letakkanlah sediaan dalam posisi vertikal, dan biarkanlah sampai menjadi kering (WHO, 2003). Yang perlu diperhatikan adalah Cara Pewarnaan Albert Versi WHO tidak menggunakan Larutan Lugol seperti Cara Pewarnaan Albert Versi Beishir.

Formula Zat Warna Albert Versi Beishir (Beishir, 1991)

Zat Warna Albert mengandung *toluidine blue* 0,15 g, *methyl green* 0,2 g, *glacial acetic acid* 1,0 ml, etanol 95%, 2,0 ml, dan *distilled water* 100,0 ml (Beishir, 1991).

Formula Zat Warna Albert Versi WHO (WHO, 2003)

Zat Warna Albert mengandung *toluidine blue* 0,15 g, *malachite green* 0,20 g, *glacial acetic acid* (CH₃COOH) 1 ml, etanol (CH₃CH₂OH) 96%, 2 ml, dan *distilled water q.s.* 100 ml (WHO, 2003). Ada perbedaan sedikit dengan formula Zat

Warna Albert Versi Beishir. Beishir memakai *methyl green*. WHO mempergunakan *malachite green*. Literatur yang membahas mengapa WHO lebih memilih *malachite green* daripada *methyl green* belum diperoleh.

Formula Larutan Lugol (*Lugol's Iodine Solution*) Versi Beishir (Beishir, 1991)

Larutan Lugol mengandung *C.P. iodine* 5,0 g, kalium iodida C.P. 10,0 g, dan *distilled water* 100,0 ml (Beishir, 1991).

Hasil Pengamatan Dengan Mikroskop Pewarnaan Albert Versi Beishir (Beishir, 1991)

Granula metakromatik tampak sebagai bintik sangat ungu (*intense purple dots*). Sitoplasma kelihatan berwarna hijau pucat (*very pale green*). Sitoplasma sangat sering kelihatan pucat sehingga sulit untuk diidentifikasi (Beishir, 1991). Minyak imersi harus digunakan pada waktu memakai mikroskop. Perbesaran yang digunakan adalah 1000 kali.

Hasil Pengamatan Dengan Mikroskop Pewarnaan Albert Versi WHO (WHO, 2003)

Corynebacterium diphtheriae kelihatan berbentuk batang ramping dan berwarna hijau. Granula metakromatik tampak berwarna hijau-hitam. Susunannya tampak seperti jajaran, formasi V, ataupun huruf Cina (WHO, 2003).

Cara Pewarnaan Biru Metilen Alkalin Loeffler Versi Beishir (Beishir, 1991)

Pertama, buatlah sediaan. Kedua, tetesilah sediaan dengan Zat Warna Biru Metilen Alkalin Loeffler dan biarkanlah selama 5 menit. Ketiga, cucilah dengan air yang mengalir. Keempat, keringkanlah sediaan (Beishir, 1991).

Nama Lain Cara Pewarnaan Biru Metilen Alkalin Loeffler Versi Beishir (Anonim1, 1985 ; Beishir, 1991)

Nama lain untuk Pewarnaan Biru Metilen Alkalin Loeffler adalah Pengecatan Metilen Biru Alkalis dan *Loeffler's Alkaline Methylene Blue for Metachromatic Granules* (Anonim1, 1985 ; Beishir, 1991).

Formula Zat Warna Biru Metilen Alkalin Loeffler Versi Beishir (Beishir, 1991)

Zat Warna Biru Metilen Alkalin Loeffler mengandung *methylene blue chloride* 0,3 g, etanol 95%, 30,0 ml, dan larutan KOH 0,01 % 100,0 ml (Beishir, 1991).

Hasil Pengamatan Dengan Mikroskop Pewarnaan Biru Metilen Alkalin Loeffler Versi Beishir (Beishir, 1991)

Granula metakromatik tampak sebagai bintik sangat biru (*intense blue*). Sitoplasma kelihatan berwarna biru pucat (*a much paler blue*) (Beishir, 1991). Minyak imersi harus digunakan pada waktu memakai mikroskop. Perbesaran yang digunakan adalah 1000 kali.

Cara Pewarnaan Neisser (Anonim2, 1991)

Pertama, buatlah sediaan kuman pada gelas obyek, fiksasilah, dan tunggu sampai dingin. Kedua, tuangkan Neisser AB pada sediaan kuman dan biarkan selama 1 menit. Ketiga, buang sisa Neisser AB dari gelas obyek. Keempat, tuangkan Neisser C pada sediaan dan biarkan selama 1,5 menit. Kelima, buang sisa Neisser C dari gelas obyek. Keenam, keringkan dengan kertas pengering. Ketujuh, teteskan satu tetes minyak imersi pada sediaan lalu lihatlah di bawah mikroskop dengan lensa obyektif pembesaran 100x (Anonim2, 1991).

Formula Zat Warna Neisser (Anonim2, 1991)

Zat Warna Neisser A mengandung biru metilen 0,1 g, alkohol 96% 2 ml, asam asetat pekat 5 ml, dan akuades 95 ml. Zat Warna Neisser B mengandung kristal violet 1 g, alkohol 96% 10 ml, dan akuades 300 ml. Zat Warna Neisser C mengandung *crysoidine* 2 g dan akuades (panas) 300 ml (Anonim2, 1991).

Hasil Pengamatan Dengan Mikroskop Pewarnaan Neisser (Anonim2, 1991)

Granula metakromatik tampak sebagai bentukan warna biru gelap atau biru hitam dalam sitoplasma kuman yang tampak berwarna kuning coklat (Anonim2, 1991).

Simpulan

Pewarnaan Albert dan Loeffler perlu diperkenalkan kepada para mahasiswa, sebaiknya melalui *kuliah* dan *poster* di ruang praktikum, sehingga mahasiswa bisa langsung mengetahui kegunaan kedua pewarnaan itu. Mahasiswa harus mengetahui bahwa ada paling tidak ada dua pewarnaan lain selain Pewarnaan Neisser yang selama ini diajarkan pada *praktikum* mikrobiologi kedokteran.

Daftar Pustaka

- Beishir B. *Microbiology in Practice : A Self-Instructional Laboratory Course*. Edisi V. New York: HarperCollins, 1991. h. 251–258.
- WHO. *Manual of Basic Techniques for A Health Laboratory*. Edisi II. Geneva: WHO, 2003. 201–202.
- Anonim1. *Dasar-Dasar Pemeriksaan Mikrobiologi*. Yogyakarta: Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, 1985. h. 85–86.
- Anonim2. *Penuntun Praktikum Mikrobiologi*. Edisi VII. Surabaya: Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, 1991. h. 5–22, 68–69.

Reviewer
Prof. Dr. dr. Prihatini, Sp. PK.(K)