

Efektivitas Pewarnaan GMS Modifikasi (GMS-HE, GMS-Phloxine Tatrazine, GMS-Van Gieson dan GMS-Masson's Throchrome) untuk Mendeteksi Jamur *Candida* pada Jaringan Biopsi

Effectiveness Modified GMS Staining (GMS-HE, GMS-Phloxine Tatrazine, GMS-Van Gieson and GMS-Masson's Trichrome) for Detecting *Candida* Fungus in Biopsy Tissue

Bernasha Septianita¹⁾, Miftahul Mushlih¹⁾

¹⁾Program Studi Teknologi Laboratorium Medik, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

¹⁾Program Studi Teknologi Laboratorium Medik, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

*Email Penulis Korespondensi: mif.mushlih@umsida.ac.id

Abstract : Microscopic examination, histopathology, and fungal staining play an important role in the diagnosis of invasive Candidiasis and other mycoses. Tissue biopsy histology is more sensitive in detecting the presence of fungal causes and providing information about the type of infection, but requires special staining for fungi such as Gomori's Methenamine Silver (GMS) staining. The disadvantage of GMS staining is that it is unclear to see other structures in the tissue other than fungi so the histology result is less or unclear, therefore variations or modifications need to be made. The research design was in the form of experimental research with the research location at the Sudarma Medical Laboratory and was conducted in March - May 2024. The purpose of this study was to modify the counterstain on GMS staining, namely to see the effectiveness of which counterstain was most appropriate to increase the visibility of target tissue, namely fungi and other tissue structures. This research specimen used tissue that had been formed into paraffin blocks with a sample size of 50 and accompanied by positive and negative controls then stained with GMS, GMS-Haematoxyline & Eosin, GMS-Phloxine Tartrazine, GMS-Van Gieson, and GMS-Masson's Trichrome then observed under a microscope with a magnification of 400 times. Based on the analysis using the Kruskal Wallis test, there was a significant difference between GMS and GMS-VG staining with a p value <0.05 while between GMS, GMS-MT, GMS-HE and GMS-PT staining there was no prominent difference with p value > 0.05 . Based on the staining results assessment in this study, it showed that the use of modified GMS-Van Gieson staining had the most significant color contrast difference compared to conventional GMS staining in detecting *Candida* fungi in biopsy tissue.

Keywords: *Candida*, Gomori's Methenamine Silver (GMS), GMS-Haematoxylin & Eosin, GMS-Phloxine Tartrazine, GMS-Van Gieson

Abstrak : Pemeriksaan mikroskopis, histopatologi, dan pewarnaan jamur berperan penting dalam diagnosis Candidiasis invasif maupun mikosis lainnya. Histologi biopsi jaringan lebih sensitif dalam mendeteksi adanya penyebab jamur dan memberikan informasi tentang jenis infeksi, namun membutuhkan pewarnaan khusus untuk jamur seperti pewarnaan Gomori's Methenamine Silver (GMS). Kekurangan pewarnaan GMS kurang bisa melihat struktur lainnya di jaringan selain jamur sehingga histologi yang dihasilkan kurang atau tidak jelas, oleh karena itu perlu dilakukan variasi atau modifikasi. Desain penelitian berbentuk penelitian eksperimental, tempat penelitian bertempat di Laboratorium Medis Sudarma dan dilakukan pada bulan Maret – Mei 2024. Tujuan penelitian ini dilakukan pemodifikasian *counterstain* pada pewarnaan GMS yaitu untuk melihat efektivitas *counterstain* yang paling tepat untuk meningkatkan visibilitas jaringan target yaitu jamur dan struktur jaringan lainnya. Spesimen penelitian ini menggunakan jaringan yang telah dibentuk menjadi blok paraffin dengan besar sampel berjumlah 50 dan disertai kontrol positif dan negatif kemudian dilakukan pengecatan GMS, GMS-Haematoxyline & Eosin, GMS-Phloxine Tartrazine, GMS-Van Gieson, dan GMS-Masson's Trichrome kemudian dilakukan pengamatan di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Berdasarkan analisis menggunakan uji Kruskal Wallis terdapat perbedaan yang signifikan antara pewarnaan GMS dengan GMS-VG dengan nilai $p < 0,05$ sedangkan antara pewarnaan GMS, GMS-MT, GMS-HE dan GMS-PT mendapatkan perbedaan hasil yang tidak signifikan dengan nilai $p > 0,05$. Berdasarkan hasil penilaian pewarnaan pada penelitian ini menunjukkan bahwa penggunaan pewarnaan modifikasi *GMS-Van Gieson* memiliki perbedaan paling signifikan kontras warna dibandingkan dengan pewarnaan GMS konvensional dalam mendeteksi jamur

Candida pada jaringan biopsi.

Kata Kunci: *Candida*, *Gomori's Methenamine Silver* (GMS), GMS-Haematoxylin & Eosin, GMS-*Phloxine Tartrazine*, GMS-Van Gieson.

I. PENDAHULUAN

Candida Albicans atau lebih dikenal dengan jamur *Candida* merupakan jamur yang secara alami ada pada tubuh manusia dan tidak berbahaya apabila masih dalam jumlah yang normal [1]. Namun, pertumbuhan jamur ini bisa menjadi tidak terkendali terutama pada bagian tubuh yang lembab atau pada pasien yang *immunocompromised* dan berisiko menimbulkan berbagai masalah kesehatan bahkan kematian [2]. Candidiasis merupakan infeksi yang disebabkan oleh jamur *Candida albicans*. Candidiasis biasanya terjadi di kulit, mulut, dan kelamin [3]. Faktor yang memengaruhi meningkatnya resiko infeksi Candidiasis pada kulit diantaranya cuaca yang lembab, memakai pakaian yang tidak menyerap keringat, dan kurangnya kebersihan pakaian [4]. Gejala yang diderita oleh pasien yang terkena Candidiasis juga bervariasi tergantung pada lokasi terinfeksi, pada Candidiasis oral gejala umumnya terdapat bercak putih pada mulut dan lidah serta terdapat bercak sakit kemerahan pada rongga mulut dan sulit untuk menelan. Candidiasis di sekitar alat kelamin ditandai dengan rasa gatal pada bagian vagina untuk wanita sedangkan untuk pria terdapat ruam merah dan bau tidak sedap pada penis [5]. Kasus Candidiasis di jaringan adalah kasus yang sering muncul pada pasien, hal ini disebabkan karena jamur *Candida sp* adalah jamur oportunistik yang dapat menjadi pathogen ketika kondisi yang menguntungkan timbul, infeksi *Candida sp* yang tidak diobati berisiko menyebabkan infeksi sistemik dan dapat menyebabkan sepsis [6].

Infeksi *Candida* dalam jaringan dapat muncul dengan berbagai morfologi yaitu ragi tunas, hifa, dan pseudohifa. Deteksi cepat dan identifikasi akurat jamur patogen dalam jaringan manusia sangat penting untuk pengobatan yang efektif [7]. Beberapa metode telah digunakan untuk mendiagnosis penyakit yang disebabkan oleh jamur, termasuk kultur jaringan dan pewarnaan, namun, beberapa jamur hanya dapat dideteksi menggunakan pewarnaan jaringan [8]. Pemeriksaan mikroskopis, histopatologi dan pewarnaan jamur berperan penting dalam diagnosis Candidiasis invasif maupun mikosis lainnya [9]. Histologi biopsi jaringan lebih sensitif dalam mendeteksi adanya penyebab jamur dan memberikan informasi tentang jenis infeksi yang mendasarinya, namun membutuhkan pewarnaan khusus untuk jamur antara lain pewarnaan *Gomori's Methenamine Silver* (GMS) dan *Periodic Acid-Schiff* (PAS) [9]. GMS memberikan kontras warna yang lebih baik untuk mendeteksi jamur di jaringan dibandingkan dengan pewarnaan PAS, pewarnaan GMS bahkan mewarnai jamur mati yang kadang tidak terwarna oleh pewarnaan PAS [10]. Namun kekurangan dalam metode pewarnaan ini adalah kurang bisa melihat struktur lainnya di jaringan selain jamur itu sendiri sehingga histologi yang dihasilkan kurang atau tidak jelas, oleh karena itu perlu dilakukan variasi atau modifikasi [8]. Pada penelitian ini dilakukan pemodifikasian counterstain pada pewarnaan GMS untuk melihat efektivitas counterstain mana yang paling tepat untuk meningkatkan visibilitas jaringan target yaitu jamur dan struktur jaringan lainnya. Hal tersebut yang melatarbelakangi penulis memutuskan untuk melakukan penelitian yang berjudul "Efektivitas Pewarnaan GMS Modifikasi (GMS- HE, GMS-*Phloxine Tartrazine*, GMS- Van Gieson, dan GMS-Masson's Trichrome) untuk Mendeteksi Jamur *Candida* pada Jaringan Biopsi".

II. METODE

Desain penelitian yang digunakan adalah *Deskriptif Eksperimental* dimana penelitian ini dilakukan untuk membandingkan gambaran antara pewarnaan GMS dan GMS Modifikasi (*GMS-HE*, *GMS-Phloxine Tartrazine*, *GMS-Van Gieson*, dan *GMS-Masson's Trichrome*) untuk mendeteksi jamur *Candida* pada jaringan biopsi. Kontrol positif yang digunakan adalah jaringan yang sudah terinfeksi jamur, kontrol negatif yang digunakan adalah jaringan yang tidak terinfeksi jamur.

Populasi pada penelitian ini adalah blok parafin dari biopsi jaringan yang tersimpan dan telah teridentifikasi infeksi jamur di Laboratorium Medis Sudarma, Surabaya dengan durasi simpan maksimal enam bulan. Penelitian dilakukan pada bulan April-Juni 2024. Penelitian yang dilakukan telah lolos kaji etik oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Ngudia Husada Madura dengan No: 2321/KEPK/STIKES-NHM/EC/VII/2024.

Sampel penelitian yang digunakan pada penelitian sebanyak lima sampel blok paraffin yang terkonfirmasi terkena infeksi Candidiasis, sampel diambil dari biopsi jaringan yang terkonfirmasi positif jamur *Candida sp*, sampel kemudian dipotong dengan mikrotom dengan ukuran 3-5 μm sehingga menjadi slide histologi dan dipanaskan di atas *hotplate*. Lima blok paraffin dilakukan lima macam pewarnaan yaitu pewarnaan GMS, GMS-HE, GMS-Phloxine Tartrazine, GMS-Van Gieson, dan GMS-Masson's Trichrome dan dilakukan perlakuan duplo berupa perbedaan lapangan pandang sehingga didapatkan 50 sampel preparat histologi. Setelah dilakukan pewarnaan kemudian diamati di bawah mikroskop pada perbesaran 400x.

Pewarnaan GMS dilakukan dengan cara mengoksidasikan jaringan dengan pemberian larutan chromic acid dan dilanjutkan dengan pembilasan menggunakan larutan sodium bisulphite, setelah itu dimasukkan ke dalam larutan kerja methenamine silver nitrate yang berada di dalam *waterbath*. Pemberian larutan kerja ini dikontrol di bawah mikroskop untuk menghindari terjadinya *overstaining* pada jamur dan menggelapkan jaringan secara berlebihan. Setelah dari larutan kerja kemudian diberikan larutan gold chloride dan diberi larutan sodium thiosulphate, kemudian pada tahap akhir dilakukan penambahan *counterstain* berupa light green merek Merck.

Pewarnaan GMS-HE, GMS-Phloxine Tartrazine, GMS-Mason's Trichrome, dan GMS-Van Gieson dilakukan dengan melakukan pewarnaan GMS konvensional pada slide kemudian dilanjutkan dengan pengecatan HE, Phloxine Tartrazine, Mason's Trichrome, dan Van Gieson pada tahap *counterstain*. Saat memberikan larutan jenuh tartrazine harus dikontrol di bawah mikroskop untuk mencegah terjadinya pelunturan warna phloxine yang berlebihan sehingga akan menyebabkan slide menjadi *overstaining*. Untuk penilaian hasil pewarnaan dilakukan oleh tiga pembaca yakni dua orang Dokter Spesialis Mikrobiologi Klinik dan satu orang Analis senior di Laboratorium Medis Sudarma Surabaya. Data dari hasil pewarnaan GMS dan GMS Modifikasi (*GMS-HE*, *GMS-Phloxine Tartrazine*, *GMS-Van Gieson*, dan *GMS-Masson's Trichrome*) dilakukan penilaian dengan parameter sebagai berikut:

Tabel 1. Penilaian hasil pewarnaan jamur *Candida*

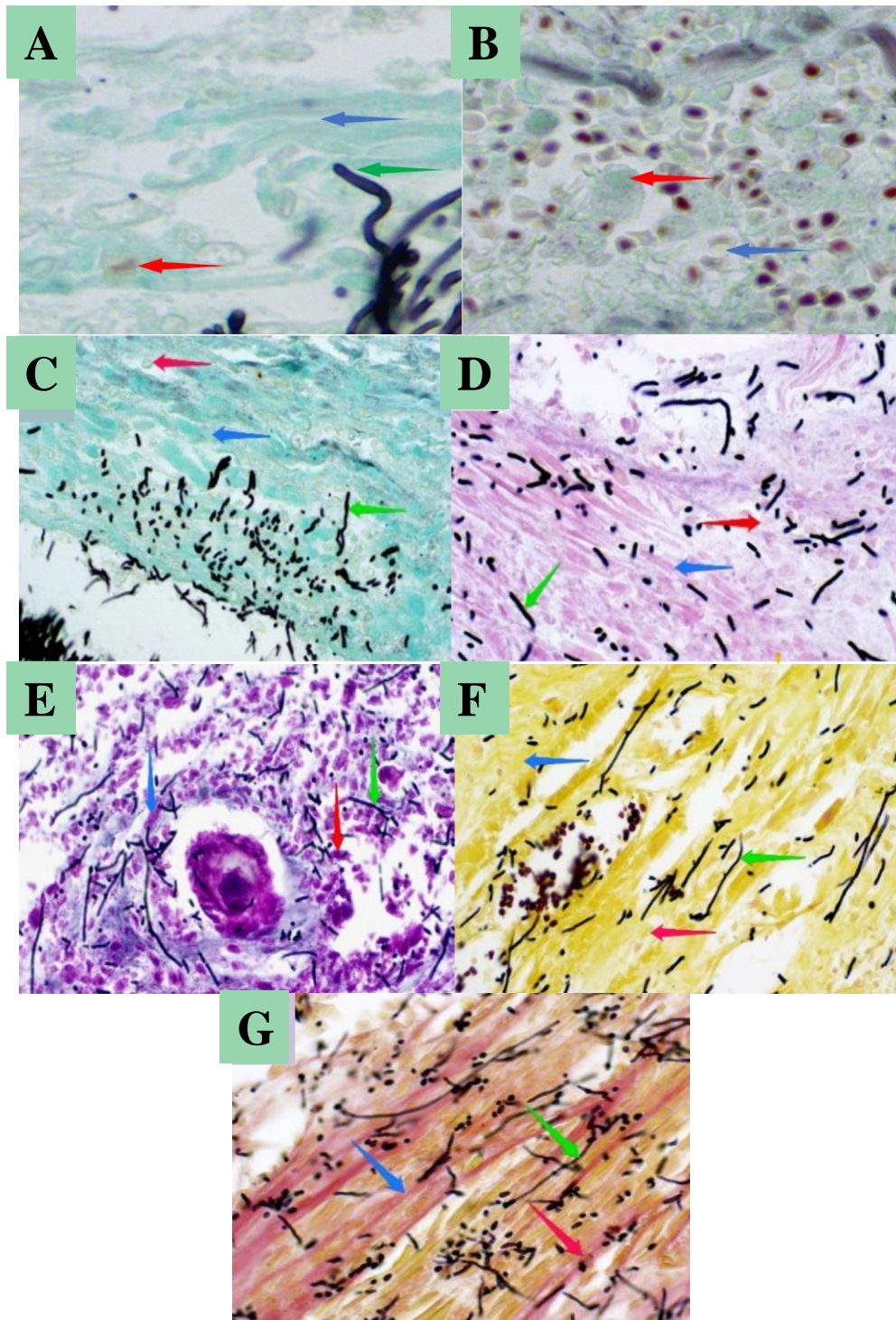
No	Struktur	Deskripsi	Skala Nominal
1	Jamur	Jamur tidak dapat diidentifikasi	1
		Jamur tidak jelas	2
		Jamur kurang jelas	3
		Jamur jelas	4
2	Inti sel	Inti tidak dapat diidentifikasi	1
		Inti sel tidak jelas	2
		Inti sel kurang jelas	3
		Inti sel jelas	4
3	Sitoplasma	Sitoplasma tidak dapat diidentifikasi	1
		Sitoplasma tidak jelas	2
		Sitoplasma kurang jelas	3
		Sitoplasma sel jelas	4

Data dari hasil penilaian pewarnaan yang telah didapatkan kemudian dianalisis secara non parametrik berupa uji statistik *Kruskal Wallis* dengan menggunakan software SPSS 26.0 dengan derajat kepercayaan sebesar 95%.

III. Hasil dan Pembahasan

Candidiasis merupakan infeksi yang disebabkan oleh jamur *Candida albicans*. *Candida Albicans* atau lebih dikenal dengan jamur *Candida* merupakan jamur yang secara alami ada pada tubuh manusia dan tidak berbahaya apabila masih dalam jumlah yang normal [1]. Jamur ini tidak berbahaya pada manusia yang normal dengan sistem kekebalan tubuh yang bagus. Namun, pertumbuhan jamur ini bisa menjadi tidak terkendali terutama pada bagian tubuh yang lembab atau pada pasien yang *immunocompromised* dan berisiko menimbulkan berbagai masalah kesehatan bahkan kematian [2]. Candidiasis biasanya terjadi di kulit, mulut, dan kelamin [3]. Faktor yang memengaruhi meningkatnya resiko infeksi candidiasis pada kulit diantaranya cuaca yang lembab, memakai pakaian yang tidak menyerap keringat, dan kurangnya kebersihan pakaian [4]. Gejala yang diderita oleh pasien yang terkena candidiasis juga bervariasi tergantung pada lokasi terinfeksi [11]. Candidiasis oral gejala umumnya terdapat bercak putih pada mulut dan lidah serta terdapat bercak sakit kemerahan pada rongga mulut dan sulit untuk menelan. Candidiasis di sekitar alat kelamin ditandai dengan rasa gatal pada bagian vagina untuk wanita sedangkan untuk pria terdapat ruam merah dan bau tidak sedap pada penis [5].

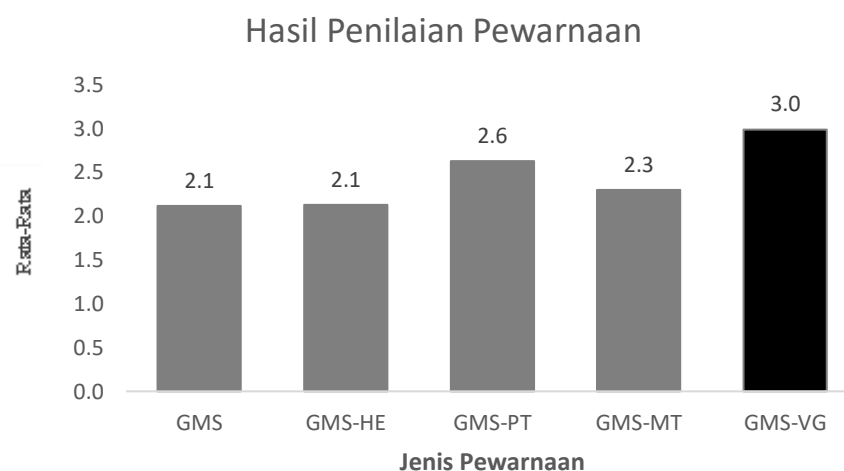
Pada Gambar 1 merupakan gambar hasil pengamatan secara mikroskopis pewarnaan GMS dan GMS Modifikasi (*GMS-HE*, *GMS-Phloxine Tartrazine*, *GMS-Van Gieson*, dan *GMS-Masson's Trichrome*) untuk mendeteksi jamur *Candida* pada jaringan biopsi.



Gambar 1. Analisis mikroskopis jamur *Candida*; GMS Kontrol Positif (A); GMS Kontrol Negatif (B); GMS (C); GMS-HE (D); GMS-MT (E); GMS-PT (F); GMS-VG (G); Warna hijau menunjukkan adanya jamur, merah adalah inti sel dan biru adalah sitoplasma atau jaringan ikat.

Berdasarkan Gambar 2 mikroskopis jamur *Candida* dengan mikroskop perbesaran 400x didapatkan hasil bahwa hasil positif pewarnaan jaringan dengan jamur dan inti sel lebih baik pada pewarnaan GMS modifikasi dibandingkan dengan pewarnaan GMS konvensional. Pada pewarnaan GMS-HE didapatkan bentuk jamur berwarna hitam dengan inti sel berwarna hitam dengan latar belakang berwarna merah. Pewarnaan GMS-Mason's Trichrome didapatkan jamur berwarna hitam dengan inti sel berwarna hitam dengan latar belakang berwarna ungu, kemudian pada pewarnaan GMS-Phloxine Tartrazine bentuk jamur jelas berwarna hitam dengan inti sel berwarna hitam dan latar belakang berwarna kuning, dan pada pewarnaan GMS-Van Gieson jamur berwarna hitam dengan inti sel berwarna hitam dengan latar belakang berwarna kuning kemerahan.

Penelitian tentang efektivitas pewarnaan dengan Methamine Silver sudah pernah dilakukan pada *Pulmonaris Pulmococosis* dengan hasil pewarnaan GMS memiliki sensitivitas hingga 100% dan memiliki kemampuan identifikasi lebih baik dibandingkan pewarnaan PAS dan AB [12], pewarnaan menggunakan Masson's Trichrome dengan Verde Luz- orange G-acid fuchsin (VOF) [13], efektivitas phloxin thartazin dengan Fuchsin Safrine Blue dengan sensitivitas sebesar 70,1% dan spesifitas sebesar 100% [14], tingkat keefektifan pewarnaan Van Giesson yang baik digunakan sebagai alat untuk diagnosis lesi baik itu untuk kalsifikasi normal maupun abnormal [15], dan pewarnaan menggunakan menggunakan Gomori Methamine Silver dengan hasil bahwa pewarnaan GMS memiliki akurasi yang lebih tinggi untuk mendeteksi infeksi jamur *Candida* pada pasien kanker serviks [8].



Gambar 2. Perbandingan hasil penilaian pada modifikasi pewarnaan, GMS (*Gomori's Methenamine Silver*), GMS-HE (*Gomori's Methenamine Silver-Haematoxyline & Eosin*), GMS-PT (*Gomori's Methenamine Silver-Phloxine Tartrazine*), GMS-MT (*Gomori's Methenamine Silver-Masson's Trichrome*), GMS-VG (*Gomori's Methenamine Silver-Van Gieson*).

Gambar 2 menunjukkan bahwa nilai rerata hasil pewarnaan GMS-VG adalah tertinggi dibandingkan pewarnaan GMS, GMS-HE, GMS-PT, GMS-MT, GMS-VG berdasarkan penilaian 3 pembaca yang berbeda. Rerata pewarnaan GMS-VG lebih besar dibandingkan dengan pewarnaan GMS lainnya yaitu dikarenakan jaringan ikat pada struktur jaringan lebih dapat terlihat.

Tabel 2. Nilai Signifikansi dari Uji Kruskal Wallis berdasarkan penilaian 3 pembaca pada hasil pewarnaan jamur, inti sel, dan sitoplasma

Pewarnaan	Penilaian								
	Jamur			Inti Sel			Sitoplasma		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
GMS - GMS MT	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,707	1,000	1,000
GMS - GMS HE	1,000	1,000	1,000	0,909	0,433	1,000	1,000	1,000	1,000
GMS - GMS PT	1,000	1,000	1,000	0,062	0,081	0,065	1,000	1,000	1,000
GMS - GMS VG	1,000	1,000	1,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,012	0,012

Berdasarkan Tabel 2, analisis menggunakan uji Kruskal Wallis hasil penilaian oleh ketiga pembaca terdapat perbedaan yang signifikan antara pewarnaan GMS dengan GMS-VG dengan nilai $p < 0,05$ sedangkan antara pewarnaan GMS, GMS-MT, GMS-HE dan GMS-PT tidak terdapat perbedaan yang signifikan karena nilai $p > 0,05$. Oleh karena itu, tidak didapatkan perbedaan hasil penilaian antara pewarnaan GMS, GMS-MT, GMS-HE dan GMS-PT karena penambahan phloxine tartrazine hanya akan berpengaruh jika terdapat *double infection* antara virus dengan adanya badan inklusi berwarna merah [16].

Pada Tabel 2 analisis menggunakan uji Kruskal Wallis pada pewarnaan GMS – GMS VG dengan penilaian inti sel dan sitoplasma menghasilkan nilai $p < 0,05$ sedangkan pada penilaian jamur menghasilkan nilai $p > 0,05$. Hal ini karena pewarnaan GMS – VG memberikan lapisan tambahan pada pewarnaan inti sel (merah) dan sitoplasma (kuning), sehingga membuat visualisasi dengan jaringan sekitarnya lebih jelas dan membantu dalam mengidentifikasi struktur seluler [9]. Pada pewarnaan GMS – GMS MT, GMS – GMS HE dan GMS – GMS PT penilaian jamur, inti sel dan sitoplasma menghasilkan $p > 0,05$. Hal ini disebabkan penambahan Phloxine Tartrazine yang dapat menggantikan fungsi counterstain light green pada pewarnaan GMS, penambahan ini digunakan jika terdapat *double infection* jamur dan virus dengan ciri Cytopathic Effect (CPE) yaitu sel membesar dengan *inclusion bodies* berwarna merah [10].

Dinding sel jamur tersusun dari polisakarida yang apabila teroksidasi akan membentuk gugus aldehida dengan pewarnaan GMS atau PAS, chromic acid pada pewarnaan GMS akan mengoksidasi dinding sel jamur kemudian gugus aldehida yang terbentuk akan berikatan dengan ion silver yang akan tereduksi dan menjadi terlihat ke bentuk logamnya. Pewarnaan GMS mewarnai dinding sel jamur menjadi hitam dengan *counterstain* berupa light green. Pewarnaan GMS memiliki keuntungan yaitu dapat mewarnai organisme yang hidup maupun yang mati, mewarnai patogen selain jamur juga dapat memberikan gambaran latar belakang yang rendah apabila pewarnaan dilakukan dengan benar sehingga pewarnaan GMS lebih sensitif dibandingkan pewarnaan PAS [17]. Pengecatan GMS mewarnai jamur menjadi coklat kehitaman, cerah, dan jelas sehingga identifikasi infeksi jamur di jaringan dapat dilakukan dengan mudah [18]. Pewarnaan GMS sering digunakan untuk deteksi jamur pada spesimen jaringan dan *smear* dengan jamur dan melanin berwarna hitam serta latar belakang berwarna hijau muda [19].

Pada pewarnaan GMS-HE, jamur akan berwarna hitam dengan latar belakang berwarna merah, pewarnaan GMS-HE selain dapat melihat morfologi jamur juga dapat digunakan untuk melihat reaksi peradangan pada jaringan [20]. Pada penelitian sebelumnya, pewarnaan GMS dan PAS dikombinasikan oleh *counterstain* HE untuk meningkatkan kontras warna dan mengevaluasi respons jaringan, komponen jaringan yang berbeda memiliki warna yang berbeda (jamur berwarna coklat hingga hitam, inti berwarna biru, dan latar belakang berwarna merah muda) dan memiliki nilai skala abu-abu yang berbeda pula, namun kontras antara jaringan target (jamur) dan latar belakang lebih sedikit dibandingkan dengan pewarnaan tunggal seperti NFR [21]. Pewarnaan HE dan Masson's Trichrome memungkinkan pengamatan secara general terhadap jaringan yang sedang diperbaiki, jaringan granulasi, distribusi sel inflamasi kolagen, dan pembuluh darah yang baru terbentuk [22].

Pewarnaan Masson's Trichrome berfungsi untuk menunjukkan adanya perubahan kolagen dan sel otot sehingga biasanya digunakan untuk deteksi penyakit sirosis [23]. Karakteristik pewarnaan Masson's Trichrome yaitu mewarnai kolagen menjadi biru dengan latar belakang menjadi merah [24]. Pewarnaan modifikasi GMS-Masson's Trichrome selain bisa melihat ada tidaknya infeksi jamur di jaringan juga dapat digunakan untuk melihat ada tidaknya anomali kolagen pada jaringan. Pewarnaan Lendrum's phloxine-tartrazine digunakan untuk melihat *viral inclusions* di jaringan, badan inklusi dari citomegalovirus (CMV) berwarna magenta ketika diwarnai dengan pewarnaan Feulgen dan dapat lebih mudah didiagnosis dan paling baik divisualisasikan menggunakan pewarnaan Lendrum's phloxine-tartrazine, inklusi akan berwarna merah dengan latar belakang berwarna kuning [25]. Pengecatan GMS-Phloxine Tartrazine ini dapat memberikan keuntungan ganda disamping dapat mendeteksi infeksi jamur di jaringan juga dapat untuk mendeteksi infeksi *Cytomegalovirus* (CMV) [16].

Pada pewarnaan antara GMS dan GMS-VG terdapat pengaruh yang signifikan karena *Verhoeff-Van Gieson Stain* menciptakan berbagai macam interaksi antara ikatan kation, ikatan anion, dan juga ikatan non-ion dengan elastin yang merupakan komponen utama dari jaringan serabut elastik. Elastin adalah komponen dari jaringan yang memiliki afinitas yang kuat dan berfungsi untuk menarik kompleks besi-hematoksilin yang diciptakan dari berbagai reagen yang terdapat pada pewarnaan Verhoef, oleh sebab itu elastin akan mempertahankan pewarna lebih lama daripada komponen jaringan yang lain [26]. Pewarnaan elastis Verhoeff biasanya digunakan untuk melihat ada tidaknya atrophy pada serat elastis di jaringan, serat elastis dan nukleus akan berwarna hitam, kolagen berwarna merah dan jaringan di sekitar akan berwarna kuning akibat dari zat warna *counterstain* [26]. Reagen Natrium tiosulfat yang ada pada pewarnaan Van Gieson berfungsi untuk menghilangkan kadar iodium yang berlebihan dan menangkalkan perubahan warna [27].

IV. Simpulan

Berdasarkan hasil penilaian pewarnaan pada penelitian ini menunjukkan bahwa penggunaan pewarnaan modifikasi GMS-Van Gieson memiliki perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan pewarnaan GMS konvensional dengan hasil uji Kruskal Wallis $p < 0,05$. Pewarnaan GMS-Van Gieson memiliki efektifitas paling signifikan dengan didapatkan $p = 0,001$, dibandingkan dengan pewarnaan modifikasi GMS-HE (Gomori's Methenamine Silver-Haematoxyline & Eosin), GMS-PT (Gomori's Methenamine Silver-Phloxine Tartrazine), GMS-MT (Gomori's Methenamine Silver-Masson's Trichrome yang ditunjukkan dengan nilai rerata hasil penilaian 3 pembaca).

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih peneliti ucapkan kepada semua petugas di Laboratorium Medis Sudarma, Surabaya serta pihak-pihak terkait lainnya yang telah membantu penelitian ini.

Referensi

- [1] J. Talapko *et al.*, "Candida albicans-the virulence factors and clinical manifestations of infection," *Journal of Fungi*, vol. 7, no. 2, pp. 1–19, 2021, doi: 10.3390/jof7020079.
- [2] A. R. R. Arimurti *et al.*, "Edukasi Dan Pelayanan Pemeriksaan Infeksi Jamur Kulit Pada Pekerja Kebersihan Universitas Di Surabaya," *Empowerment: Jurnal Pengabdian Masyarakat*, vol. 2, no. 1, pp. 36–43, 2023, doi: 10.55983/empjcs.v2i1.361.
- [3] S. Bhattacharya, S. Sae-Tia, and B. C. Fries, "Candidiasis and mechanisms of antifungal resistance," *Antibiotics*, vol. 9, no. 6, pp. 1–19, 2020, doi: 10.3390/antibiotics9060312.
- [4] V. Arisanti, A. Fitri Rahmatika, S. H. Sibuea, P. N. Holistik Kandidiasis Kutis Pada An Usia, T. Melalui Pendekatan Kedokteran Keluarga Di Puskesmas Tanjung Bintang, and M. Pendekatan Kedokteran Keluarga Di Puskesmas Tanjung Bintang Viola Arisanti, "Penatalaksanaan Holistik Kandidiasis Kutis Pada An. N Usia 14 Tahun," vol. 13, pp. 1231–1237, 2023.
- [5] E. Suryani and M. L. Harahap, "Penyuluhan Penyakit Menular Seksual Kepada Masyarakat Desa Purba Tua Kecamatan Padangsidimpuan Tenggara Tahun 2021," *Jurnal Pengabdian Masyarakat Aufa (JPMA)*, vol. 3, no. 2, pp. 59–74, 2021.
- [6] E. Rofianto, D., A. Zuliari, E., Wati, T., Elektro, T., & Teknologi Adhi Tama Surabaya, I. "Analisa Perencanaan Pemasangan Differential Relay Pada PT. Bramindo Niaga Pratama". Seminar Nasional Sains dan Teknologi Terapan VII 2019. *Prosiding*. Institut Teknologi Adhi Tama Surabaya. Pp. 723-728, 2019.
- [7] J. Rudasill and S. Criswell, "A Comparison of Histological Staining Methods for Pathogenic Fungi in Humans," *International Journal of Infectious Diseases and Therapy*, vol. 8, no. 1, pp. 10–22, 2023, doi: 10.11648/j.ijidt.20230801.12.
- [8] A. Ridhoi, R. J. Setiabudi, and A. P. Kawilarang, "Detection of Candida in Cervical Cancer Tissue by Periodic Acid Schiff and Gomori Methenamine Silver Staining," *Journal of Chemical Health Risks*, no. January, 2023, doi: 10.52783/jchr.v13.i1s.529.
- [9] PDPI, PAPDI, PERDATIN, IDAI, PAMKI, and PDSARKI, "Pedoman Nasional Organisasi Profesi: Mikosis Invasif," pp. 2–44, 2023.
- [10] R. Elhady., A. Idris., N. Eldawi., A. Fahal, "Role of special stains in identification of fungi in eumycetoma among Sudanese patients in Soba University Hospital," *Microbes and Infectious Diseases*, 3(1), 185-191, 2022, doi: 10.21608/mid.2021.96355.1193
- [11] Kurniati Kasman. (2022). Deteksi Molekular Cryptococcus Species pada Spesimen Darah Hasil Biakan Negatif di Rumah Sakit Universitas Hasanuddin Makassar Molecular Detection of Cryptococcus species on Negative Culture Blood. Thesis. Universitas Hasanuddin.
- [12] S. Wang., J. Lai., R. Wu., L. Zhang, M. Huang., Y. Xiao., X. Zhang., & J. Chen, "Grocott Methenamine Silver Staining is the Optimal Approach to Histological Diagnosis of Pulmonary Cryptococcosis," *Frontiers in Microbiology*, 13, 2022, DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.885511>
- [13] A. Tandon., A. Singh., D. Shetty., & S. Juneja, "Tetrachromic VOF/Masson's Trichrome/H and e stains: Unmasking Their Usability in Differential Stromal Hard Tissue Staining", *Indian Journal of Pathology and Microbiology*. Vol. 62, No. 1, pp. 67–72, 2019, DOI:https://doi.org/10.4103/IJPM.IJPM_242_18
- [14] N. Pamellah, "Comparative Study of Histochemical Staining of Negri Bodies Using Lendrum's Phloxine-

- Tartrazine and Fuchsin Safranine Blue Staining Methods, A Special Project Report Submitted to The College of Veterinary Medicine, Animal Resources and Biosecurity in Partial Fulfillment of The Requirements for The Award of The Degree of Bachelor of Biomedical Laboratory Technology of Makerere University”, *Thesis*, Makerere University, 2019.
- [15] Padmapriya., Abilasha, R., Lakshmi, T.A, “Differential Stains for Histological Analysis (Enamel, Dentin, Cementum) Of Teeth and Bone Using Van”, In *Volatiles & Essent Oils* (Vol.8, Issue 5), 2021.
- [16] A. Pohan. Kawilarang, “Perbandingan Pengecatan GMS-Phloxine Tartrazine pada *Pneumocystis carinii* dengan Pengecatan Gomori Methenamine Silver (GMS) dan Pengecatan Haematoxylin & Eosin (H&E),” *Jurnal Mikologi Klinik dan Penyakit Menular*, vol. 1, no. 1, pp. 1–5, 2022.
- [17] S. C. Shalin., T. Ferringer., D. S, Cassarino, “PAS and GMS utility in dermatopathology: Review of the current medical literature,” *J Cutan Pathol*, 47(11): 1096–1102, 2022, DOI: <https://doi.org/10.1111/cup.13769>.
- [18] A. Pohan. Kawilarang, “Perbandingan Pewarnaan Haematoxylin & Eosin (HE) dan Gomori Methenamine Silver (GMS) pada Jamur Subcutan dan Jamur *Zygomycosis*,” *Jurnal Mikologi Klinik Dan Penyakit Menular*, vol. 1, no. 1, pp. 12–15, 2022b.
- [19] A. K. Adhya, “Grocott Methenamine Silver Positivity in Neutrophils”, *J Cytol*, Vol. 36, No. 3, 2019, doi: 10.4103/JOC.JOC_134_18.
- [20] A. Pohan. Kawilarang, “Pewarnaan Gomori’s Methenamine Silver (GMS) pada Jamur Chromoblastomycosis dengan Berbagai Counterstain yang Berbeda,” *Jurnal Mikologi Klinik Dan Penyakit Menular*, vo3. 1, no. 1, pp. 23–27, 2024.
- [21] M. D. McGavin, “Factors Affecting Visibility of a Target Tissue in Histologic Sections,” *Veterinary Pathology*. 51(1):9-27, 2014, doi:10.1177/0300985813506916
- [22] S. Benito-Martínez., B. Pérez-Köhler., M. Rodríguez., J.M. Izco., J. L. Recalde., G. Pascual, “Wound Healing Modulation through the Local Application of Powder Collagen-Derived Treatments in an Excisional Cutaneous Murine Model”, *Biomedicines*. 10(5):960, 2022, DOI: <https://doi.org/10.3390/biomedicines10050960>
- [23] P. Rumaisa., S. Singh., P. Singh., N. Sharma., K. Singh., Deepti, “Special Stains and Its Applications in Histopathology”. *International Journal of Advanced Research*, Vol. 10, No. 1, pp. 737-754, 2022, doi: 10.21474/IJAR01/15542.
- [24] S, A. Smith., S, J. Newman., M, P. Coleman., C, Alex, “Characterization of the histologic appearance of normal gill tissue using special staining techniques, *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, Vol. 30, No. 5, pp. 688-698, 2018, doi:10.1177/1040638718791819
- [25] R. Martínez-Girón., L. Pantanowitz, “Lower respiratory tract viral infections: Diagnostic role of exfoliative cytology,” *Diagn Cytopathol*, Jul;45(7):614-620. 2017, doi: 10.1002/dc.23697.
- [26] I. Romus, D. Ayu, and K. Surya, “Efek Asam Alfa Lipoat terhadap Kolagen Matriks Ekstraseluler Pankreas Diabetes Melitus Tipe 2,” *Kedokteran dan Kesehatan*, vol. 16, no. 1, pp. 68–75, 2020.
- [27] P. Soesilawati, *Histologi Kedokteran Dasar*, no. Oktober. 2019.

Conflict of Interest Statement:

The author declares that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.