

## **IDENTIFICATION WITH *Ascaris lumbricoides* EGG USING TRICHROME STAIN**

## **IDENTIFIKASI TELUR *Ascaris lumbricoides* DENGAN MENGUNAKAN PEWARNAAN TRICHROME**

**Darmadi\*<sup>1</sup>, Eli Yusrita,<sup>2</sup> Nadia Rahmadhani<sup>3</sup>**  
<sup>1,2,3</sup>*universitas abdurrah,*  
darmadi@univrab.ac.id

### **ABSTRACT**

The trichrome staining technique on stool specimens is a modification of the Gomori staining technique and has since been used as a diagnostic tool for the identification of intestinal parasites. The purpose of this examination was to determine the morphology of *Ascaris lumbricoides* using trichrome staining. The faecal examination method used is the direct preparation method by dropping the stool specimen on a glass slide which is then stained with trichrome or 2% Eosin and then covered with a cover slip, after which it is examined under a microscope. The results of trichrome staining on the color and morphology of worm eggs were better than using 2% Eosin. In trichrome staining made of 4 preparations, fertilized eggs were found with an oval shape, measuring 45 - 75 microns long and 35 - 50 microns wide, with a bright green background, giving the eggs a brownish yellow color with a dark green coating, so that the parts of the egg are clearly visible, while in Eosin 2% it gives a brownish red color to the egg and has a contrasting red background so that the parts of the egg are rather difficult to distinguish

**Keywords:** Identification, Egg, *Ascaris lumbricoides*, Trichrom

### **ABSTRAK**

Teknik pewarnaan trichrome pada specimen feses merupakan modifikasi dari Teknik pewarnaan Gomori dan sejak saat itu digunakan sebagai alat diagnostik untuk identifikasi parasit usus. Tujuan dari pemeriksaan ini adalah untuk mengetahui morfologi telur *Ascaris lumbricoides* dengan menggunakan pewarnaan trichrome. Metode pemeriksaan feses yang digunakan adalah metode sediaan langsung dengan cara spesimen feses ditetaskan pada kaca preparat yang kemudian diberi pewarnaan trichrome atau Eosin 2% lalu di tutup dengan menggunakan kaca penutup, setelah itu diperiksa di bawah mikroskop. Hasil pewarnaan dari trichrome terhadap warna dan morfologi telur cacing lebih baik dibandingkan dengan menggunakan Eosin 2%. Pada pewarnaan trichrome yang dibuat sebanyak 4 preparat ditemukan telur yang sudah dibuahi dengan bentuk oval, berukuran panjang 45 - 75 mikron dan lebar 35 - 50 mikron, dengan latar belakang yang berwarna hijau terang, memberikan warna kuning kecoklatan pada telur dengan lapisan berwarna hijau tua, sehingga bagian-bagian pada telur terlihat jelas, sedangkan pada Eosin 2% memberikan warna merah

kecoklatan pada telur dan memiliki latar belakang merah yang kontras sehingga bagian-bagian telur agak sulit di bedakan.

**Kata Kunci** : Morfologi, Telur, *Ascaris lumbricoides*, Trichrome

## **PENDAHULUAN**

Pewarnaan trichrome merupakan pewarnaan yang digunakan untuk apusansediaan vagina yang pertama kali digunakan oleh Pollack dan Mars (1944). Gomori (1949) dengan menggabungkan bahan trichrome dalam satu larutan, sehingga dapat digunakan sebagai counterstain untuk bagian jaringan bernoda hematoxylin dan apusan sitologi (Mapossa, 2018). Tujuan utama pewarnaan trichrome pada jaringan adalah untuk memperlihatkan jaringan kolagen dan otot secara normal dan membedakannya dalam kondisi tumor (Wahyuni et al., 2015).

Teknik trichrome wheatley untuk spesimen feses merupakan modifikasi dari teknik pewarnaan jaringan gomori dan sejak itu digunakan sebagai alat diagnostik untuk identifikasi parasit usus (Harahap, 2021). Menurut Setya, (2014), Komposisi yang terdapat pada pewarnaan trichrome antara lain Chromotrope 2R, *Light green SF*, *Fast green FCF*, Asam fosfotungstat, Asam asetat glasial, dan aquades. Garcia dan Bruckner, 1996 berpendapat reagen yang terdapat padapewarnaan trichrome antara lain Chromotrope 2R, *Light green SF*, Asam fosfotungstat, Asam asetat glasial dan air suling(Garcia, L. S. dan Bruckner, 1996).

Shoaib, dkk., 2001 menyatakan bahwa pewarnaan trichrome pada spesimen feses harus dimasukkan dalam pemeriksaan tinja rutin, karena protozoa kecil yang biasanya terlewatkan pada pemeriksaan basah pada sampel feses yang tidak pekat atau pekat sering terlihat pada apusan bernoda trichrome (Idris & Al-Jabri, 2001). Pada penelitiannya mengungkapkan bahwa perbandingan pulasan trichrome dengan sediaan basah pada protozoa diperoleh hasil diantaranya *Giardia intestinalis* dengan 70 kasus didapatkan sebanyak 53 bentuk kista dan 17 bentuk vegetatif sedangkan pada sediaan basah didapatkan 31 bentuk kista dan 9 bentuk vegetatif. Pada *Entamoeba histolytica* terdapat 67 kasus didapatkan sebanyak 46 bentuk kista dan 21 bentuk vegetatif sedangkan pada sediaan basah di dapatkan sebanyak 20 bentuk kista dan 12 bentuk vegetatif. Pada *Entamoeba coli* terdapat 20 kasus didapatkan sebanyak 20 bentuk kista sedangkan pada sediaan basah tidak ditemukan. Dan pada *Dientamoeba fragilis* terdapat 8 kasus ditemukan 8 bentuk Pewarnaan trichrome merupakan pewarnaan yang digunakan untuk apusansediaan vagina yang pertama kali digunakan oleh Pollack dan Mars (1944). Gomori (1949) dengan menggabungkan bahan trichrome dalam satu larutan, sehingga dapat digunakan sebagai counterstain untuk bagian jaringan bernoda

hematoxylin dan apusan sitologi (Aliviameita & Puspitasari, 2020). Tujuan utama pewarnaan trichrome pada jaringan adalah untuk memperlihatkan jaringan kolagen dan otot secara normal dan membedakannya dalam kondisi tumor (Wahyuni et al., 2015).

Teknik trichrome wheatley untuk spesimen feses merupakan modifikasi dari teknik pewarnaan jaringan gomori dan sejak itu digunakan sebagai alat diagnostik untuk identifikasi parasit usus (Salleh, dkk., 2012). Menurut Setya, (2014), Komposisi yang terdapat pada pewarnaan trichrome antara lain Chromotrope 2R, *Light green SF*, *Fast green FCF*, Asam fosfotungstat, Asam asetat glasial, dan aquades. Garcia, (1996), berpendapat reagen yang terdapat pada pewarnaan trichrome antara lain Chromotrope 2R, *Light green SF*, Asam fosfotungstat, Asam asetat glasial dan air suling.

Shoaib, dkk., 2001 menyatakan bahwa pewarnaan trichrome pada spesimen feses harus dimasukkan dalam pemeriksaan tinja rutin, karena protozoa kecil yang biasanya terlewatkan pada pemeriksaan basah pada sampel feses yang tidak pekat atau pekat sering terlihat pada apusan bernoda trichrome. Pada penelitiannya mengungkapkan bahwa perbandingan pulasan trichrome dengan sediaan basah pada protozoa diperoleh hasil diantaranya *Giardia intestinalis* dengan 70 kasus didapatkan sebanyak 53 bentuk kista dan 17 bentuk vegetatif sedangkan pada sediaan basah didapatkan 31 bentuk kista dan 9 bentuk vegetatif. Pada *Entamoeba histolytica* terdapat 67 kasus didapatkan sebanyak 46 bentuk kista dan 21 bentuk vegetatif sedangkan pada sediaan basah di dapatkan sebanyak 20 bentuk kista dan 12 bentuk vegetatif. Pada *Entamoeba coli* terdapat 20 kasus didapatkan sebanyak 20 bentuk kista sedangkan pada sediaan basah tidak ditemukan. Dan pada *Dientamoeba fragilis* terdapat 8 kasus ditemukan 8 bentuk

## **METODE**

Desain yang digunakan dalam penelitian ini adalah Eksperimen Laboratorium, yaitu dengan cara mengidentifikasi morfologi telur *Ascaris lumbricoides* dengan menggunakan pewarnaan trichrome sebagai pengganti zat warna eosin 2%.

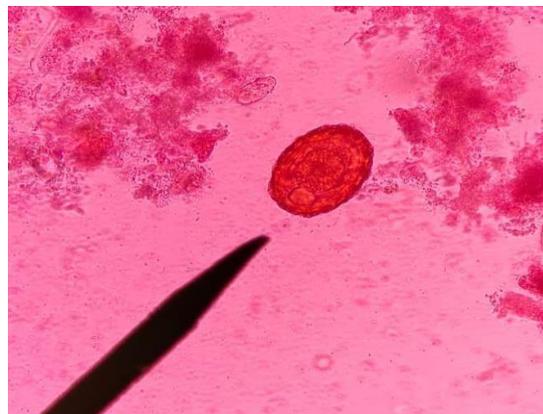
### **Alat dan Bahan**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu mikroskop, deckglass, objek glass, pipet tetes, dan label. Dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah reagen pewarnaan trichrome, Eosin 2%, dansampel spesimen feses (+).

### **Hasil dan Pembahasan**

### **Morfologi Telur *Ascaris lumbricoides* dengan Menggunakan Eosin 2%**

Pemeriksaan mikroskopik dari suspensi feses dengan menggunakan pewarnaan Eosin 2% dilakukan dengan metode langsung. Pada penelitian ini dengan menggunakan Eosin 2% ditemukan telur *Ascaris lumbricoides* yang sudah dibuahi dengan morfologi telur cacing *Ascaris lumbricoides* dapat dilihat dengan jelas dengan latar belakang berwarna merah, sedangkan morfologi telur berbentuk oval, berukuran panjang 45 - 75 mikron dan lebar 35 – 50 mikron terdiri dari 3 lapisan yang berwarna coklat kemerahan. Berikut merupakan gambar morfologi telur *Ascaris lumbricoides* dengan menggunakan Eosin 2% sebagai kontrol positif yang dilihat menggunakan mikroskop lensa objektif



dengan perbesaran 400x.

**Gambar 4.1 Telur *Ascaris lumbricoides* Dengan Menggunakan Eosin 2% (Sumber: Koleksi pribadi)**

### **Morfologi Telur *Ascaris lumbricoides* dengan Menggunakan Pewarnaan Trichrome**

Pemeriksaan telur *Ascaris lumbricoides* dengan pewarnaan trichrome dilakukan dengan metode langsung. Setelah diidentifikasi telur *Ascaris lumbricoides* dengan menggunakan Eosin 2%, selanjutnya telur diidentifikasi dengan menggunakan pewarnaan trichrome. Hasil identifikasi telur *Ascaris lumbricoides* tersebut dapat dilihat pada tabel dibawah ini, yang di uji dengan 4 kali pengulangan.

**Tabel 1. Morfologi telur *Ascaris lumbricoides* dengan menggunakan pewarnaan trichrome**

---

**1 Pengamatan 1 dengan menggunakan trichrome**

---

Perbesaran 100x

Perbesaran 400x



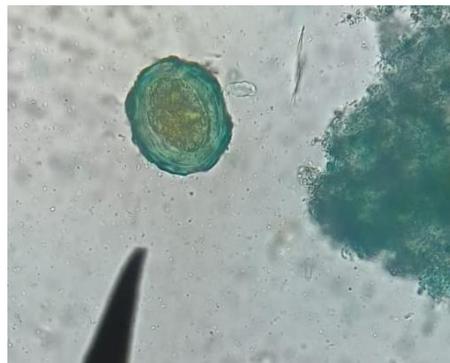
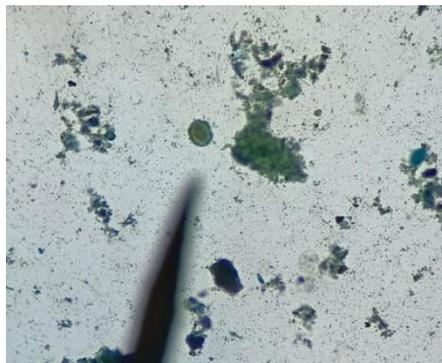
---

**2 Pengamatan 2 dengan menggunakan trichrome**

---

Perbesaran 100x

Perbesaran 400x



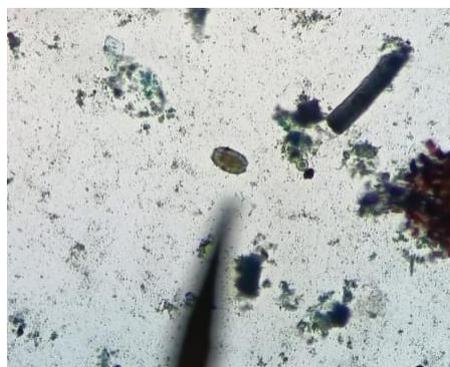
---

**3 Pengamatan 3 dengan menggunakan trichrome**

---

Perbesaran 100x

Perbesaran 400x



---

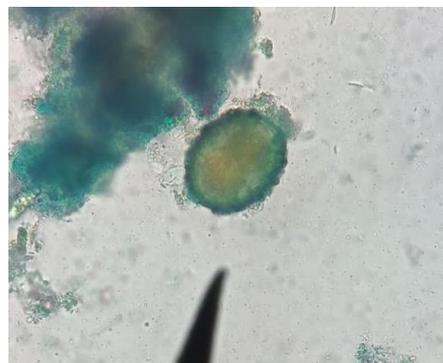
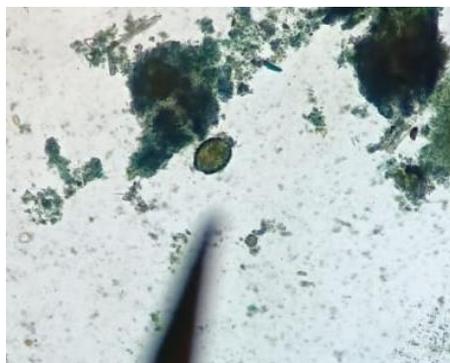
**4 Pengamatan 4 dengan menggunakan trichrome**

---

Perbesaran 100x

Perbesaran 400x

---



Hasil penelitian yang disajikan pada tabel 1 di atas berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan secara mikroskopis menunjukkan bahwa identifikasi telur cacing *Ascaris lumbricoides* dengan menggunakan pewarnaan trichrome pada 4 preparat memberikan hasil yang baik. Pada pengamatan 1, 2, 3 dan 4 dengan perbesaran 100x dan 400x ditemukan telur yang berbentuk oval dengan jenis telur *fertilized corticated* dengan ukuran panjang 45 - 75 mikron dan lebar 35 – 50 mikron. Morfologi telur cacing *Ascaris lumbricoides* terdiri dari 3 lapisan mulai dari lapisan terluar yaitu albumin yang bergerigi berwarna hijau tua, hialin berwarna hijau muda, membran vitelin berwarna hijau muda dan morulla yang berwarna kuning kecoklatan. Setiap slide pengamatan memberikan lapang pandang yang kontras, dengan latar belakang yang berwarna hijau terang, sehingga telur cacing *Ascaris lumbricoides* dapat dengan mudah di bedakan dari kotoran lain yang berada di sekelilingnya.

Pada penelitian ini, pewarnaan telur cacing bertujuan untuk memudahkan dan mempelajari bentuk telur cacing Nematoda Usus, memperjelas dan melihat bentuk telur cacing, serta kontras pada preparat telur cacing dengan menggunakan mikroskop. Metode yang digunakan untuk mengidentifikasi *Ascaris lumbricoides* pada penelitian ini yaitu menggunakan metode langsung yang mana sampel feses diteteskan di atas objek glass, lalu di ikuti dengan diteteskan pewarnaan Eosin 2% dan pewarnaan trichrome sebanyak satu tetes kemudian di homogenkan, lalu di periksa di bawah mikroskop.

Hasil penelitian dengan menggunakan Eosin 2% ditemukan telur *Ascaris lumbricoides* yang sudah dibuahi berbentuk oval, berukuran panjang 45 - 75 mikron dan lebar 35 – 50 mikron, berwarna coklat kemerahan dengan latar belakang yang berwarna merah

sehingga lapang pandang menjadi sangat kontras yang mana bagian-bagian telur *Ascaris lumbricoides* agak sulit dibedakan. Morfologi telur cacing *Ascaris lumbricoides* dengan menggunakan Eosin 2% inisesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Oktari dan Mu'tamir, 2017 yang mengatakan pewarnaan Eosin 2% mengandung zat warna asam yang akan menodai komponen asidofilik pada protein sitoplasma sehingga menghasilkan warna merah pada sitoplasma, dengan latar belakang berwarna merah kontras dan telur cacing menyerap warna.

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Maulida (2012), menyatakan bahwa pewarnaan dengan menggunakan Eosin 2% pada telur *Ascaris lumbricoides* diperoleh hasil yaitu warna latar belakang berwarna merah dan tidak terdapat perbedaan antara latar belakang dengan warna telur. Warna *morulla* pada telur berwarna merah dan dinding merah tua hampir menyerupai kotoran dari feses. . Selain itu juga, pewarnaan Eosin 2% membuat mata mudah sakit dan lelah dikarenakan memiliki lapang pandang yang sangat kontras.

Hasil penelitian dengan menggunakan pewarnaan trichrome dari 4 spesimenpreparat menggunakan metode langsung dengan perbesaran 100x dan 400x. Pada perbesaran 100x ditemukan telur yang sudah dibuahi dengan kriteria bagian-bagian telur lebih jelas dibedakan dengan latar belakang dikarenakan lapisanalbuminoidnya yang berwarna hijau tua sedangkan latar belakang yang berwarna hijau terang. Telur *Ascaris lumbricoides* berbentuk oval, berukuran panjang 45 - 75 mikron dan lebar 35 – 50 mikron, lapisan albumin telur cacing berwarna hijau tua, sedangkan lapisan hialin dan vitelin tidak begitu terlihat jelas dan *morulla* juga tidak terlihat begitu jelas. Sedangkan pada perbesaran 400x tampak telur *Ascaris lumbricoides* dalam stadium telur yang sudah dibuahi dengan kriteria sangat jelas, morfologi telur berbentuk oval, berukuran panjang 45 - 75 mikron dan lebar 35 – 50 mikron, memiliki 3 lapisan yaitu lapisan luar terdiri atas lapisan albuminoid dengan permukaan tidak rata berwarna hijau tua, lapisan tengah merupakan lapisan hialin terdiri atas polisakarida berwarna hijau muda, dan lapisan dalam yaitu lapisan vitelin berwarna hijau muda, bagian telur (*morulla*) berwarna kuning kecoklatan dan memiliki latar belakang yang berwarna hijau terang sehingga telur cacing *Ascaris lumbricoides* dapat dengan mudah di bedakan dari kotoran lain yang berada di sekelilingnya

Berdasarkan hasil penelitian pada gambar di atas menunjukkan bahwa penggunaan pewarnaan trichrome dalam mengidentifikasi telur cacing *Ascaris lumbricoides* dapat dilihat jelas dengan menggunakan metode sediaan langsung. Trichrome yang bersifat asam akan dapat berikatan dengan protein yang bersifat basa. Hastuti dan Haryatmi, (2021) mengatakan

bahwa, Protein merupakan molekul penyusun lapisan telur yang bersifat basa dan bermuatan positif. Oleh karena itu, telur *Ascaris lumbricoides* dapat dengan mudah berikatan dengan molekul trichrome yang bersifat asam dan bermuatan negatif.

Pada pemeriksaan protozoa, sitoplasma protozoa bentuk trofozoit akan berwarna biru kehijauan, dengan kadang-kadang semburat ungu. Kista cenderung sedikit lebih ungu. Nukleus dan inklusi (kromatoid tubuh, sel darah merah, bakteri, dan kristal Charcot-Leyden) kadang-kadang berwarna merah diwarnai dengan warna ungu. Bahan latar belakang biasanya berwarna hijau, menyediakan kontras warna yang bagus dengan protozoa (Garcia, 1996). Chromotrope 2R yang merupakan bahan dari pewarna trichrome memiliki afinitas yang kuat dengan kromatin sehingga sitoplasma bentuk vegetatif tampak hijau tua sedangkan kromatin inti tampak berwarna merah tua (Shoaib, dkk., 2001). Pada pemeriksaan Jaringan yang awalnya diwarnai dengan *biebrich scarlet* (pewarna asam), mengikat komponen asidofilik jaringan. Unsur-unsur yang kurang permeabel akan mengikat warna merah, lalu warna merah akan ditarik keluar dari kolagen dan akan menyediakan tempat bagi kolagen untuk berikatan dengan *aniline* sehingga serat kolagen akan menjadi berwarna biru, inti sel berwarna hitam, sementara sitoplasma, otot dan eritrosit akan berwarna merah (Yacob, 2019).

## **KESIMPULAN**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pewarnaan trichrome dapat digunakan untuk mengidentifikasi morfologi telur cacing *Ascaris lumbricoides*. Morfologi telur *Ascaris lumbricoides* yang didapat yaitu telur yang berbentuk oval dengan jenis telur *fertilized corticated* dengan ukuran panjang 45 - 75 mikron dan lebar 35 – 50 mikron. Morfologi telur cacing *Ascaris lumbricoides* terdiri dari 3 lapisan mulai dari lapisan terluar yaitu albumin yang bergerigi berwarna hijau tua, hialin berwarna hijau muda, membran vitelin berwarna hijau muda dan morulla berwarna kuning kecoklatan dengan latar belakang yang kontras berwarna hijau terang sehingga telur dapat dibedakan dengan kotoran yang ada disekelilingnya.

## **DAFTAR PUSTAKA**

Aliviameita, A., & Puspitasari. (2020). Buku Ajar Mata Kuliah. In *Umsida Press Sidoarjo Universitas* (Vol. 1, Issue 1).

Garcia, L. S. dan Bruckner, D. A. (1996). *Diagnostik Parasitologi Kedokteran*.

Harahap, D. G. S. (2021). Dasar-Dasar Mikrobiologi Dan Penerapannya. In *Widina Bhakti Persada Bandung* (Vol. 1, Issue 69).

Idris, M. A., & Al-Jabri, A. M. (2001). Usefulness of Kato-Katz and trichrome staining as diagnostic methods for parasitic infections in clinical laboratories. *Sultan Qaboos University Medical Journal*, 3(2), 65–68.

Mapossa, J. B. (2018). No 主観的健康感を中心とした在宅高齢者における健康関連指標に関する共分散構造分析Title. *New England Journal of Medicine*, 372(2), 2499–2508.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7556065><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC394507><http://dx.doi.org/10.1016/j.humphath.2017.05.005><http://doi.org/10.1007/s00401-018-1825-z><http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27157931>

Wahyuni, Kumorowati, E., Pitriani, & Achmad, H. (2015). Pengembangan Metode Pewarnaan Histologi Khusus Trichome Massonos untuk Diagnosa Penyakit pada Hewan. *Perpustakaan Balai Besar Veteriner Maros*, 5.