

---

## Aplikasi Teknik *Periodic Acid Schiff* (PAS) Dalam Diagnosis Histopatologi Keganasan, Infeksi Jamur dan Kelainan Immunologi

Fajriza Yona\*, Salmiah Agus, Tofrizal

Program Pendidikan Dokter Spesialis Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas  
Jl. Perintis Kemerdekaan No 94 Padang, Indonesia

E-mail: [fajrizayona@gmail.com](mailto:fajrizayona@gmail.com)

\*Corresponding author

---

### Kata Kunci:

PAS, jamur, glikogen

### ABSTRAK

Pemeriksaan jaringan histopatologi dengan pewarnaan rutin terkadang tidak dapat memberikan gambaran morfologi sel atau jaringan tertentu dengan jelas, oleh karena itu diperlukan teknik pewarnaan khusus yang berbasis reaksi histokimia. *Periodic Acid-Schiff's* (PAS) merupakan metode pewarnaan histokimia yang khusus digunakan untuk mendeteksi adanya karbohidrat polisakarida, musin netral dan glikoprotein lain. Artikel ini ditulis dengan tujuan untuk menambah pengetahuan bagi praktisi laboratorium patologi anatomi dan klinisi mengenai prosedur teknik PAS serta bagaimana penggunaannya dalam diagnosis penyakit. Metode penulisan karya ilmiah ini adalah kajian pustaka yang bersumber dari berbagai jurnal, dan artikel ilmiah yang relevan dan sesuai dengan topik yang dibahas. Prosedur teknik PAS diawali dengan fiksasi dengan neutral buffer formalin 10%, persiapan bahan dan reagen, pewarnaan PAS dan counterstain, serta interpretasi hasil. Penambahan diastase dilakukan sebelum pewarnaan PAS untuk PAS/diastase, serta pewarnaan Alcian Blue dilakukan sebelum pewarnaan PAS untuk teknik Alcian blue/PAS. Kesalahan pada setiap tahapan akan mempengaruhi hasil pewarnaan PAS. Penggunaan Teknik PAS dan PAS kombinasi dalam diagnosis patologi adalah untuk menyingkirkan diagnosis banding berbagai tumor yang mengandung glikogen dan musin, memeriksa ketebalan membran basal pada berbagai penyakit, serta identifikasi Jamur dan amoeba pada infeksi jaringan.

### Keywords:

PAS, fungi, glycogen

### ABSTRACT

*Histopathological tissue examination with routine staining sometimes cannot provide a clear morphology of certain cells or tissues, therefore special staining techniques based on histochemical reactions are needed. Periodic Acid-Schiff's (PAS) is a histochemical staining method specifically used to detect the presence of polysaccharide carbohydrates, neutral mucins and other glycoproteins. This article was written with the aim of increasing knowledge for practitioners or clinicians regarding the PAS technique procedure and how it is used in diagnosis. The method of writing scientific papers is a literature review sourced from various journals, books and scientific articles that are relevant and in accordance with the topics discussed. The PAS technique procedure begins with fixation in 10% neutral buffer formalin, preparation of materials and reagents, PAS staining with counterstain and interpretation. The addition of diastase was performed before PAS stain for PAS/D, and Alcian Blue staining was performed before PAS stain for the AB/PAS technique. Errors at each stage will affect the results of PAS staining. The use of combined PAS and PAS techniques in pathological diagnosis is to exclude the differential diagnosis of various tumors containing glycogen and mucin, examine the thickness of the basement membrane in various diseases, and identify Jamur and amoeba in tissue infections.*

### Info Artikel

Tanggal dikirim : 28-12-21

Tanggal direvisi : 10-01-22

Tanggal diterima: 28-01-22

DOI Artikel:

10.36341/cmj.v5i1.2264

---

## PENDAHULUAN

Teknik *periodic acid schiff's* (PAS) merupakan bagian dari teknik pewarnaan histokimia yang khusus dapat mendeteksi adanya glikogen dan glikokonjugat tertentu yang berada di jaringan<sup>1,2</sup>. Prinsip kerja teknik PAS berdasarkan adanya reaktivitas dari aldehid bebas di dalam

karbohidrat dengan reagen Schiff's untuk membentuk produk magenta<sup>1-3</sup>. Prosedur kerja perlu memperhatikan fiksasi jaringan yang tepat, pengelolaan larutan dan reagen, langkah kerja, serta interpretasi hasil<sup>1,2</sup>.

Kemajuan terbaru dalam modalitas diagnostik seperti immunohistokimia (IHK), menyebabkan histokimia tertinggal

sebagai modalitas diagnostik sekarang ini. Sayangnya, metode imunohistokimia masih tinggi dari segi biaya sedangkan teknik histokimia termasuk PAS tergolong murah dan dapat digunakan untuk mendeteksi berbagai jenis kelainan patologik<sup>4,5</sup>.

Histokimia telah membuka pintu bagi para peneliti untuk mempelajari genesis tumor yang mengandung musin pada tingkat molekuler<sup>5</sup>. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa *alcian blue*/PAS (AB/PAS) dapat mendeteksi perubahan tipe musin pada adenokarsinoma kolon<sup>6-9</sup>. Micke dkk meneliti bahwa PAS/Diastase (PAS/D) dan AB/PAS bermanfaat untuk diagnosis karsinoma paru terutama yang berdiferensiasi buruk<sup>10</sup>. Walaupun belum digunakan secara luas, namun teknik PAS juga dapat digunakan untuk evaluasi kelainan tumor jaringan lunak<sup>11</sup>. Studi menunjukkan bahwa pemeriksaan PAS telah luas digunakan bahkan dapat menjadi gold standar untuk diagnosis onikomikosis dengan sensitifitas 92.5%<sup>12-14</sup>. Berdasarkan uraian diatas, pada artikel ini akan diulas mengenai prosedur teknik PAS serta bagaimana penggunaan PAS dalam diagnosis patologi. Terdapat tiga kelompok teknik PAS yang akan dibahas, yakni teknik PAS saja, PAS yang dikombinasikan dengan penambahan enzim diastase (PAS/D) dan PAS yang dikombinasikan dengan *alcian blue* (AB/PAS)<sup>1,2,15,16</sup>.

## METODE

Metode penulisan karya ilmiah ini adalah kajian pustaka yang bersumber dari berbagai jurnal, buku teks, dan artikel ilmiah. Data kuantitatif dan kualitatif yang didapat dari jurnal tersebut dikumpulkan dan dituliskan secara berurutan berdasarkan topik yang sesuai, selanjutnya dilakukan penyusunan karya tulis..

## DEFINISI

*Periodic Acid-Schiff's* (PAS) merupakan metode pewarnaan histokimia khusus yang digunakan untuk mendeteksi adanya karbohidrat polisakarida, musin netral dan glikoprotein lain di dalam jaringan<sup>1</sup>. Satu-satunya polisakarida yang ditemukan pada manusia yang dapat dievaluasi dengan teknik histokimia adalah glikogen. Polisakarida lainnya dapat ditemukan pada dinding jamur dan mikroorganisme seperti amoeba. Glikoprotein merupakan molekul yang terdiri atas gabungan karbohidrat dengan protein<sup>1-3</sup>.

Musin adalah glikoprotein dengan berat molekul tinggi terdiri atas polisakarida (90%) dan protein.<sup>2</sup> Musin dibedakan atas dua macam yaitu musin epitelial dan musin stromal (Tabel 1). Berdasarkan komponen polisakarida-nya, musin dibedakan atas musin netral dan musin asam. Musin asam terbagi atas dua macam, sialomusin dan sulfomusin<sup>16</sup>. Musin yang bereaksi baik dengan PAS adalah musin netral yang secara normal berada di sel foveolar gaster, kelenjer brunner, dan prostat<sup>1,2,16</sup>.

Tabel 1. Jenis musin dan reaksi dengan PAS<sup>1,16</sup>

	Komposisi	Lokasi	PAS
Musin epitelial	Musin asam sialomusin	Usus halus, usus besar, kelenjer liur	+/-
	Musin asam sulfomusin	Sel goblet usus besar, bronkus	-
	Musin netral	Sel foveolar gaster, kelenjer brunner, dan prostat	+
Musin stromal (material miksoid)	Asam hialuronat	Sarkoma dengan komponen miksoid, mesothelioma	-

Komponen sel atau jaringan yang bereaksi dengan PAS diantaranya glikogen, musin

epitelial, membran basalis, alfa-antitripsin, retikulin, Jamur (kapsul), granul zimogen pankreatik, koloid tiroid, korpora amilase, russel bodies<sup>1</sup>.

### Prinsip Kerja Teknik PAS

Prinsip kerja teknik PAS adalah berdasarkan adanya reaktivitas dari aldehid bebas di dalam karbohidrat dengan reagen Schiff's untuk membentuk produk magenta atau merah terang<sup>1</sup>. Langkah awal pada teknik PAS adalah terjadinya oksidasi dari grup hidroksil yang dilekatkan ke atom karbon (1,2 glikol) di dalam karbohidrat. Hasilnya adalah terbentuk dua grup aldehid bebas dan pembelahan ikatan karbon dengan karbon yang berdekatan. Oksidasi dari 1,2 glikol untuk membentuk aldehid-aldehid yang berdekatan muncul akibat dari paparan potongan jaringan dengan larutan *periodic acid* (HIO<sub>4</sub>)<sup>1-3,15</sup>.

Inkubasi dengan reagen Schiff's menghasilkan ikatan antara *basic fuchsin* dengan grup aldehid yang baru terbentuk pada jaringan. Saat dialirkan dengan air, molekul *basic fuchsin* menjadi saling terikat sehingga menghasilkan warna magenta. Intensitas warna yang muncul bergantung kepada konsentrasi struktur glikol reaktif pada jaringan. Monosakarida yang kekurangan 1-2 glikol, tidak dapat dideteksi dengan PAS<sup>1,2</sup>.

### Prosedur Teknik PAS

Prosedur teknik PAS diawali dengan fiksasi jaringan. Cairan fiksasi yang digunakan untuk teknik PAS adalah sebagaimana fiksasi pemeriksaan histopatologi rutin lainnya, yakni neutral buffer formalin (NBF) 10%, dengan volume 5-10 kali volume jaringan dan dilakukan selama 6-36 jam. Langkah selanjutnya setelah fiksasi yakni prosesing dan penanaman di dalam blok paraffin (*embedding*) hingga pemotongan dengan mikrotom. Semua tahapan dan ketentuan fiksasi, prosesing, *embedding* dan pemotongan dilakukan sebagaimana tahapan pada pemeriksaan histopatologi rutin di laboratorium patologi

anatomi<sup>1,15</sup>.

*Counterstain* digunakan untuk memperlihatkan elemen jaringan lainnya. Pewarnaan yang lazim digunakan adalah hematoksilin, yakni untuk mewarnai inti sel. Untuk memeriksa Jamur, lebih disarankan untuk menggunakan *counterstain light green* karena Jamur sering terwarnai lemah dengan hematoksilin (Gambar 1)<sup>17</sup>. Dengan pewarnaan hematoksilin, inti sel terwarnai biru dan dengan *light green* semua *background* akan menjadi hijau<sup>1-3,12</sup>.

Kontrol positif yang baik digunakan untuk pewarnaan PAS adalah jaringan ginjal, dimana pewarnaan PAS positif dengan warna magenta pada membran basal<sup>3</sup>. Jaringan lainnya yang dapat digunakan yakni epitel mukosa gaster, kelenjar brunner, prostat serta kulit<sup>17</sup>. Liver sangat baik untuk digunakan sebagai kontrol positif pada PAS/D, sedangkan serviks yang terdiri atas ektoserviks dan endoserviks juga merupakan kontrol positif yang baik untuk pewarnaan PAS/D dan AB/PAS<sup>3</sup>. Potongan jaringan kolon normal dapat juga digunakan untuk kontrol positif AB/PAS<sup>18</sup>. Kontrol positif untuk PAS dengan *light green* dapat menggunakan kulit yang mengandung jamur *candida albicans*<sup>17</sup>.

Persiapan dilakukan dengan pembuatan reagen larutan asam periodik dan reagen Schiff's. Larutan asam periodik 1% terdiri dari asam periodik 1g dicampur dengan *distilled water* 100 ml, tersedia juga larutan asam periodik 1% yang bisa langsung digunakan. Pewarnaan PAS dengan *counterstain light green* dapat menggunakan asam periodik 0,5%<sup>1</sup>.

Reagen Schiff's disiapkan dengan mencampurkan larutan 1 g *basic fuchsin* dan 1,9 g sodim metabisulfite (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) di dalam 100 ml dari 0,15 M HCL. Goyangkan larutan dengan penggoyang mekanik selama 2 jam. Larutan akan jernih dan berwarna kuning hingga coklat terang. Tambahkan 500 mg *activated charcoal* dan goyang selama 1-2 menit.

Saring larutan dengan filter Whatman ke dalam botol. Larutan yang disaring akan menjadi jernih dan bening. Jika menjadi kuning, ulangi pemberian *activated charcoal*. Simpan pada suhu 4°C, maka larutan tahan selama beberapa bulan<sup>1</sup>.

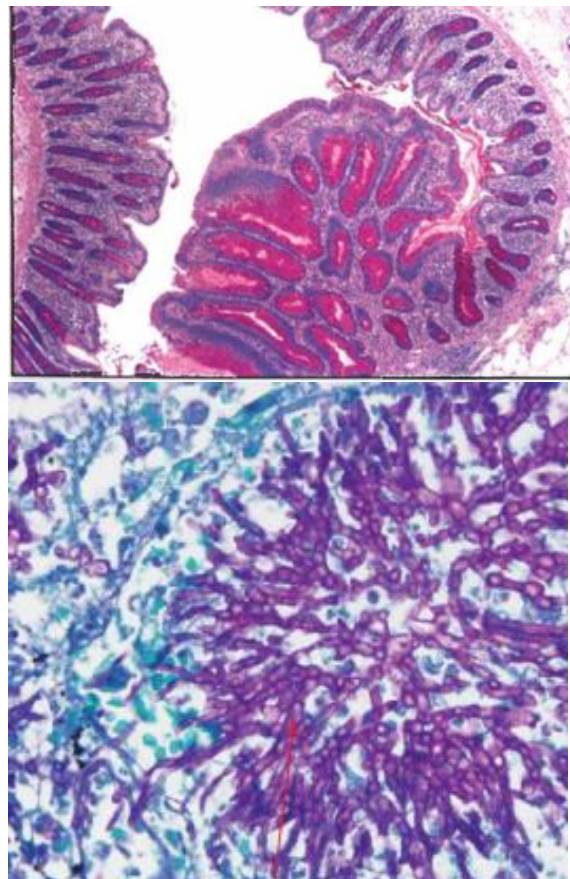
Reagen Schiff's yang aktif dapat diuji dengan menggunakan formalin, dimana akan segera timbul warna pink jika reagen Schiff's yang telah aktif diteteskan ke 3-5 ml larutan formalin 40%. Jika timbul penundaan perubahan warna, artinya reagen belum berfungsi.<sup>2</sup> Saat ini tersedia juga reagen Schiff's yang dapat langsung digunakan<sup>19</sup>.

Persiapan juga meliputi reagen untuk *counterstain*, yakni hematoksilin ataupun *light green*. *Light Green* yang digunakan (*working light green*) terbuat dari stok *Light green* 10ml dan *distilled water* 50 ml. Stok *Light green* sendiri merupakan 0,2% *light green* yang terbuat dari *light green* 0.2 g dicampur dengan *distilled water* 100 ml dan *glacial acetic acid* 0.2 ml. Larutan *light green* yang digunakan harus dipastikan tetap segar untuk setiap kali penggunaan.<sup>1</sup> Langkah kerja teknik pewarnaan PAS dapat dilihat pada Tabel 2<sup>1</sup>.

Tabel 2. Langkah-langkah kerja teknik pewarnaan PAS

No	Langkah Kerja
1.	Lepaskan parafin dengan xylene dan rehidrasi dengan alkohol bertingkat hingga <i>distilled water</i> .
2.	Oksidasi dengan <i>periodic Acid</i> 0,5 atau 1% selama 5 menit
3.	Bilas beberapa kali dengan <i>distilled water</i>
4.	Inkubasi dengan reagen Schiff's selama 15 menit
5.	Bilas dengan air mengalir selama 5-10 menit
6.	Warnai inti dengan hematoksilin, atau beberapa detik dengan <i>working light green</i>
7.	Dehidrasi dengan alkohol bertingkat dan bersihkan dengan xylene
8.	<i>Coverslip</i>

Hasil pewarnaan PAS akan memperlihatkan warna magenta pada glikogen (termasuk jamur), sialomusin, musin netral. Inti berwarna biru (*hematoksilin*) atau hijau pucat (*light green*) (Gambar 2.6).



Gambar 1. Potongan jaringan kolon yang diwarnai PAS dengan hematoksilin (*counterstain*). musin netral terpusat positif magenta<sup>3</sup> b. Pewarnaan PAS dengan *light green* pada jaringan kulit dengan jamur, tampak jamur berwarna magenta, jaringan lain berwarna hijau pucat<sup>17</sup>

#### Teknik PAS dengan Diastase (PAS/D)

Teknik PAS/D merupakan teknik PAS dengan penambahan langkah *glikogen digestion* (diastase) untuk mengatasi kesulitan PAS dalam membedakan antara glikogen dengan non glikogen seperti musin. Proses ini menggunakan alfa amilase yakni suatu enzim yang mengkatalisir proses hidrolisis dari ikatan glikosidik pada glikogen dan memecahkan molekul besar glikogen menjadi larutan disakarida yang dikenal dengan maltosa. Hasilnya adalah hilangnya glikogen dari potongan jaringan

sebelum memulai teknik PAS.<sup>1</sup>

Tahap awal adalah dengan penyiapan bahan, dimana larutan diastase dibuat dengan campuran *malt diastase* 0,1g dengan buffer fosfat 100ml. Saliva dari manusia yang mengandung alfa amilase juga efektif dalam mendigesti glikogen, namun dianggap kurang aman dan tidak memiliki proses persiapan yang standar<sup>1,20</sup>.

Prosedur PAS/D memerlukan slaid yang duplikat. Setelah deparafinisasi, 1 slaid diproses dengan diastase pada buffer yang sesuai selama 1 jam pada suhu 37°C, sementara slaid lain sebagai kontrol yang tidak dilakukan tindakan. Kemudian bilas kedua slaid dengan air mengalir 5-10 menit dan dilanjutkan dengan prosedur PAS. Hilangnya pewarnaan setelah *digestion*, mengindikasikan adanya glikogen<sup>1,15</sup>.

Hasilnya adalah glikogen tampak berwarna merah terang atau magenta pada slaid yang tidak dilakukan tindakan. Pewarnaan glikogen akan hilang pada slaid yang diberi diastase<sup>1</sup>. Slaid yang pewarnaannya hilang disebut sebagai PAS/D sensitif. Jika warna menetap, menandakan bukan suatu glikogen, disebut PAS/D resisten<sup>16</sup>.

### **Teknik Pewarnaan PAS dengan Alcian Blue (AB/PAS)**

Teknik PAS dapat dikombinasikan dengan *alcian blue* untuk membedakan antara musin netral dan musin asam di dalam satu potongan jaringan. Pewarnaan PAS untuk mewarnai musin netral, sedangkan *alcian blue* untuk musin asam<sup>1,2</sup>. Teknik ini dapat juga digunakan secara luas untuk mendeteksi keberadaan musin, apabila pewarnaan menjadi hilang dengan teknik ini, menandakan bahwa bahan tersebut masih diragukan sebagai suatu musin.<sup>1</sup> Teknik ini terutama digunakan pada biopsi gastrointestinal dan sudah lama dipakai untuk menilai metaplasia intestinal<sup>3,21</sup>.

Potongan jaringan diwarnai dengan metode *alcian blue* (pH 2,5), kemudian diikuti dengan PAS. *Alcian blue* akan mewarnai sialomusin, sulfomusin dan

proteoglikan sebagai warna biru. Musin netral akan berwarna magenta dengan teknik PAS. Jaringan atau sel yang mengandung musin netral dan juga musin asam akan terwarnai menjadi antara ungu muda hingga ungu, tergantung komponen musin yang dominan, akibat ikatan *alcian blue* dan reaktivitas dengan reagen Schiff's. Ini dapat terlihat pada sel goblet usus halus yang mengandung musin netral dan musin asam<sup>1</sup>.

Hasilnya adalah glikogen, musin netral dan glikoprotein terwarnai magenta (PAS positif), musin asam (sulfomusin dan sialomusin) terwarnai biru (*Alcian blue* positif), proteoglikan dan asam hialuronat biru dan sel yang mengandung musin campuran akan berwarna biru keunguan hingga ungu (Gambar 2)<sup>1,2</sup>. Pewarnaan dengan hematoksilin yang sedikit, penting untuk menghindari pewarnaan sitoplasmik dan musin, dimana ini bisa menutupi warna *alcian blue*<sup>1</sup>.

### **Kemungkinan Kesalahan Pada Teknik PAS dan Penyelesaiannya**

Pewarnaan latar belakang yang non spesifik dapat disebabkan oleh fiksatif yang mengandung glutaraldehid, sehingga fiksasi dengan bahan ini harus dihindari pada jaringan yang akan diwarnai dengan PAS. Hal ini disebabkan karena glutaraldehid mengandung aldehid bebas yang dapat bereaksi dengan Schiff's<sup>1-3</sup>.

Penyimpanan reagen juga perlu memperhatikan hal-hal khusus sesuai petunjuk pada lembaran data dari reagen masing-masing produsen<sup>15</sup>. Reagen Schiff's di simpan di dalam lemari es. Sebelum digunakan, letakkan dulu pada suhu ruangan untuk memunculkan warna yang adekuat. Untuk menjamin kualitasnya agar tetap potensial dan stabil, reagen Schiff's juga harus disimpan di wadah yang tertutup rapat. Jika terkontaminasi atau terkena udara, reagen schiff akan berwarna pink<sup>15</sup>. Penyimpanan reagen yang terlalu lama dan penggunaan reagen Schiff's lebih dari 2 kali juga tidak disarankan, karena akan

membuat pewarnaan menjadi lemah<sup>3</sup>.

Larutan asam periodik dan stok asam periodik (bubuk putih) harus disimpan dalam botol gelap supaya asam periodik tidak memburuk dan dapat mengoksidasi gugus hidroksil. Ini dapat dicurigai bila elemen target pada slaid kontrol tampak tidak terwarnai<sup>2</sup>. Demikian juga halnya dengan penggunaan asam periodik yang tidak segar, juga menyebabkan oksidasi grup aldehyd tidak optimal<sup>15</sup>. Larutan natrium metabisulfit bersifat tidak stabil, kerusakan reagen ini dicurigai jika slaid kontrol tidak menunjukkan bukti telah mengalami proses pemutihan, misalnya ketika warna latar belakang menjadi intens seperti halnya jaringan target<sup>2</sup>.

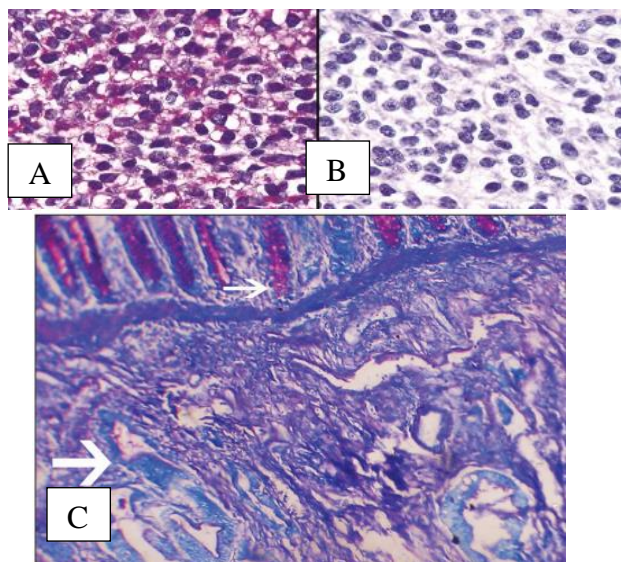
Intensitas warna bergantung kepada lamanya kontak dengan asam periodik dan reagen Schiff's<sup>1</sup>. Penambahan dan pengurangan waktu inkubasi dengan asam periodik ataupun reagen Schiff's bisa mempengaruhi intensitas pewarnaan. Untuk membran basal yang merupakan suatu glikoprotein, dibutuhkan waktu yang lebih panjang di dalam asam periodik (10 menit) dan reagen Schiff's (20 menit)<sup>1</sup>. Suatu laboratorium menyarankan inkubasi dalam asam periodik yang lebih lama untuk ginjal, kulit dan liver yakni 10 menit<sup>19</sup>. Penambahan lama waktu pencucian dengan air mengalir, juga mempengaruhi intensitas pewarnaan<sup>15</sup>.

### Aplikasi Pewarnaan Teknik PAS pada Diagnosis Histopatologi

1. Membantu mendiagnosis Keganasan yang mengandung glikogen dan musin netral

Pewarnaan PAS dapat mendeteksi tumor yang mengandung glikogen dan musin netral, sehingga dapat menyingkirkan diagnosis banding berbagai jenis tumor<sup>15</sup>. Pada adenokarsinoma, ekspresi musin dapat terganggu, mengalami peningkatan, penurunan atau penyimpangan yang dapat terdeteksi dengan PAS<sup>4</sup>. Reaksi PAS menjadi positif karena adanya komponen glikogen di dalam sel pada sarkoma ewing,

rhabdomiosarkoma, seminoma, karsinoma hepatoselular, karsinoma sel renal dan gangguan penyimpanan glikogen, sehingga teknik ini dapat digunakan untuk menyingkirkan diagnosis banding pada *round cell sarcoma* (Gambar 3)<sup>16,11</sup>.



Gambar 3. Sarkoma Ewing positif dengan PAS tanpa diastase (A), negatif dengan PAS-diastase (PAS/D sensitif)<sup>11</sup> (B). Pewarnaan AB/PAS pada adenokarsinoma gaster, menunjukkan AB (+) biru pada adenokarsinoma gaster tipe intestinal, dan PAS (+) magenta pada epitel mukosa normal (C)<sup>22</sup>

Teknik PAS/D digunakan untuk membedakan antara glikogen atau musin pada sitoplasma sel tumor. Pada *glikogen rich cell carcinoma of breast*, didapatkan PAS positif dan PAS/D sensitif pada sitoplasma yang *clear*, artinya terdapat glikogen.<sup>23,24</sup> *Acinic cell carcinoma* adalah neoplasma kelenjer liur yang menunjukkan diferensiasi sel-sel asinar serous, memiliki granul intrasitoplasmik yang PAS positif, diastase resisten, artinya ini bukanlah suatu glikogen, melainkan musin<sup>25,26</sup>.

Teknik PAS/D dapat digunakan sebagai salah satu panel bersama imunohistokimia untuk membedakan *alveolar soft part sarcoma* dengan *granular cell tumor* dengan akurasi hampir 100%<sup>27</sup>. *Alveolar soft part sarcoma* dan *granular cell tumor* sama-sama memiliki granul intrasitoplasmik, namun pada *alveolar soft part sarcoma* tampak inklusi kristal

globular fokal terwarnai positif dengan PAS/D<sup>11</sup>.

Teknik histokimia PAS bermanfaat pada diagnosis banding tumor yang berdiferensiasi buruk dengan asal yang tidak diketahui, dalam hal ini deteksi musin merupakan kunci utama untuk identifikasi. Tumor yang berasal dari epitel (karsinoma) mengandung musin yang dapat terdeteksi dengan PAS, sedangkan yang lainnya seperti melanoma, limfoma dan sarkoma tidak ada. Identifikasi tipe musin, penurunan atau peningkatan jumlah musin serta perubahan tipe musin dapat digunakan untuk mendeteksi awal suatu karsinoma pada jaringan.<sup>1</sup>

Teknik PAS merupakan metode dasar yang bermanfaat dalam menunjukkan perubahan dari tipe musin pada adenokarsinoma maupun lesi prekursorinya.<sup>4</sup> Teknik PAS sensitif untuk menemukan musin netral. Penggunaan teknik PAS bermanfaat dalam mendiagnosis metaplasia intestinal pada Barrett's esofagus atau lambung, dimana epitel yang berasal dari lambung menghasilkan musin netral (PAS positif, magenta), sedangkan pada metaplasia intestinal menghasilkan musin asam (PAS negatif, AB positif /biru). AB/PAS dapat juga mengidentifikasi adenokarsinoma gaster tipe intestinal (Gambar 3)<sup>16,22</sup>.

Histokimia musin dapat menentukan profil musin dari adenokarsinoma kolorektal yang berguna sebagai indikator prognostik dan diagnosis dini yang dapat membantu mengurangi kematian. Roophali dkk. menggunakan PAS, PAS/D, dan PAS/AB untuk membedakan tipe musin pada kolon normal dan adenokarsinoma<sup>5</sup>. Penelitian oleh Ali dkk menemukan *musin asam, sulfomusin* yang lebih dominan pada *mucinous adenocarcinoma* pada ovarium, paru dan kolon dengan menggunakan teknik AB/PAS<sup>21</sup>. Primariadewi dkk menunjukkan bahwa teknik PAS lebih sensitif (sensitifitas 87,5%) dibandingkan dengan teknik *Alcian Blue* (Sensitifitas 43%) dalam membedakan karsinoma mammae tipe tidak spesifik

dengan degenerasi musin dengan karsinoma musinosum<sup>4</sup>.

## 2. Memeriksa Ketebalan Membran Basal dan Glikoprotein lain dalam Kelainan Imunologi

Membran basal merupakan matriks yang memisahkan jaringan ikat dengan epitel maupun endotel. Membran basal terdiri atas lapisan yang mengandung glikoprotein yang bereaksi dengan PAS<sup>1</sup>.

Berbagai kelainan patologis dapat didiagnosis dengan memeriksa ketebalan membran basal. Peningkatan penebalan membran basal terutama pada kapiler glomerulus ginjal, mengindikasikan berbagai kelainan patologis pada ginjal<sup>1</sup>. Invasi dari tumor ganas epitel dapat ditentukan dengan melihat membran basal dengan menggunakan pemeriksaan PAS atau PAS/D.<sup>1</sup> Penebalan membran basal yang diperiksa dengan teknik PAS atau PAS/D juga dilakukan untuk mendiagnosis kelainan kulit seperti pada *dyscoid lupus erythematosus*<sup>28</sup>.

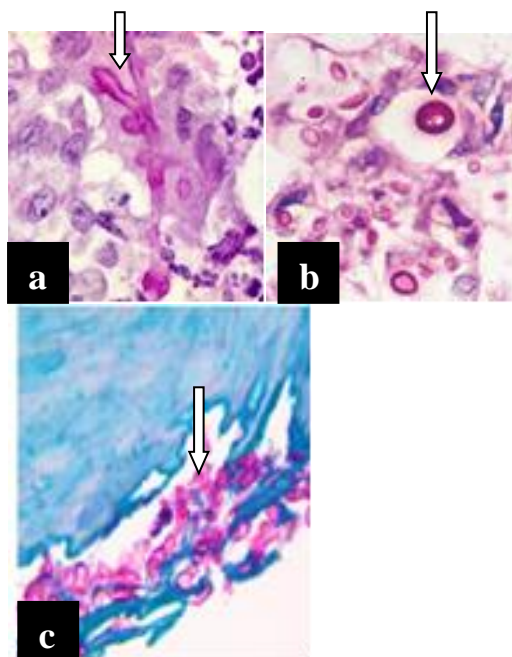
## 3. Menemukan Jamur dan Mikroorganisme Lain di Jaringan

Fungsi penting dari teknik PAS dan PAS/D adalah secara sensitif, cepat dan mudah mengidentifikasi adanya mikroorganisme jamur di jaringan kulit dan jaringan lain, karena jamur berukuran cukup besar dan dindingnya kaya akan polisakarida (kitin)<sup>1,28</sup>. Mikroorganisme lain yang juga terdeteksi dengan PAS adalah *entamoeba histolytica* yang menunjukkan hasil PAS positif dan PAS/D resisten pada sitoplasma karena mengandung polisakarida<sup>28,29</sup>.

Spesies jamur yang reaktif dengan PAS tersebut diantaranya *Candida albicans*, *histoplasma capsulatum*, *cryptococcus*, *aspergillus fumigatus* dan *blastomyces* (Gambar 4)<sup>1</sup>. *Candida albicans* yang menginfeksi mukosa mulut, kulit dan kuku berbentuk *budding yeast ovoid* atau slender (pseudo hifa). *Aspergillus fumigatus* berbentuk hifa yang bercabang, bersepta dan paralel, *cryptococcus neoformans* pada

paru dan otak, dan *histoplasma capsulatum* di dalam sitoplasma makrofag yang berbentuk yeast kecil dengan halo tipis. Zygomycosis juga dapat diidentifikasi dengan teknik PAS<sup>1,30</sup>.

Penyakit akibat jamur yang tersering pada manusia adalah mikosis superfisial yang mengenai area subkutan, lapisan keratin kulit atau akar rambut dan kuku, jamur dermatofita ini misalnya grup *microsporum*, *trichophyton* dan *epidermophyton*. Jamur ini biasanya berbentuk *yeast* atau *mycelial* (masa hifa yang saling berkait) di dalam keratin. Pada tinea unguis, ditemukan elemen *mycelial* yang slender dan seragam di dalam lempeng kuku parakeratotik yang jelas terlihat dengan PAS/D (gambar 4)<sup>28</sup>.



Gambar 4. PAS positif (magenta) pada *aspergillus* di dalam *giant cells* pada radang granulomatosa (a), *criptococcus* (b), dan onikomikosis(c)<sup>13,14</sup>

Teknik pewarnaan PAS sangat reliabel untuk menemukan Jamur dibandingkan KOH dan kultur<sup>12,13</sup>. Teknik PAS juga lebih efisien dibanding pewarnaan GMS (*Grocott methenamine silver*) untuk diagnosis onikomikosis<sup>28</sup>. Sebuah penelitian pada 54 kasus, 38% PAS positif dan 92 % PAS positif untuk khusus jenis dermatofita pada

onikomikosis (Gambar 4), sehingga peneliti ini menyimpulkan bahwa PAS potensial menjadi *gold standart* untuk pemeriksaan onikomikosis<sup>13</sup>. Sejalan dengan studi oleh Hajar dkk pada onikomikosis, PAS memiliki sensitifitas 92.5%, spesifisitas 55.55%, Nilai prediksi positif 65,7 % dan nilai prediksi negatif 81.6%<sup>14</sup>. Hao dkk menggunakan pewarnaan PAS/LG untuk menentukan klasifikasi derajat onikomikosis berdasarkan kepadatan, distribusi dan kedalaman infiltrasi jamur<sup>12</sup>.

## KESIMPULAN

Periodic Acid-Schiff's (PAS) merupakan bagian dari teknik pewarnaan histokimia yang khusus digunakan untuk mendeteksi adanya karbohidrat polisakarida dan glikoprotein di jaringan. Prinsip kerja Teknik Pewarnaan PAS adalah adanya reaktivitas dari aldehid bebas di dalam karbohidrat dengan reagen Schiff's untuk membentuk produk magenta.

Penggunaan Teknik PAS dalam diagnosis patologi adalah untuk menyingkirkan diagnosis banding berbagai tumor yang mengandung glikogen dan musin, identifikasi mikroorganisme jamur dan amoeba di dalam jaringan, serta memeriksa ketebalan membran basal pada berbagai penyakit seperti autoimun.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] S Kim S, D.Bancroft J. Bancroft's theory and practice of histological techniques. 8rd ed. Nottingham: Elsevier; 2019. 176–185 p.
- [2] Dey P. Basic and advanced laboratory techniques in histopathology and cytology. India: Springer; 2018. 81–88 p.
- [3] Carlson FL, Hladik C. Histotechnology a self instructional text. 3rd ed. Texas: American Society for clinical pathology; 2009. 136–141 p.
- [4] Rustamadjı P, Wibowo J, Murtani B,



- Magdalena C. Periodic acid-Schiff and alcian blue immunohistochemistry to detect mucin in mucinous breast carcinoma. *Med J Indones* [Internet]. 2020;29(1):53–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.13181/mji.oa.192768>
- [5] Nikumbh RD, Nikumbh DB, Umarji BN. Mucin histochemical study of the colon in normal and malignant lesions. *Int J Heal Sci Res*. 2012;2(7):20–32.
- [6] G DR. Mucin histochemistry in normal and adenocarcinoma of colorectum- a comparative study. *J Med Sci Clin Res*. 2019;7(12):273–7.
- [7] Kasprzak A, Seraszek-Jaros A, Jagielska J, Helak-Łapaj C, Siodła E, Szmeja J, et al. The histochemical alterations of mucin in colorectal carcinoma quantified by two efficient algorithms of digital image analysis. *Int J Mol Sci*. 2019;20(18).
- [8] Lungulescu C V, Răileanu S, Afrem G, Ungureanu BS, Florescu DN, Gheonea IA, et al. Histochemical and immunohistochemical study of mucinous rectal carcinoma. *J Med Life*. 2017;10(2):139–43.
- [9] Ionilă M, Mărgăritescu CL, Pirici D, Mogoantă SS. Mucinous adenocarcinoma of the colon - A histochemical study. *Rom J Morphol Embryol*. 2011;52(3):783–90.
- [10] Micke P, Botling J, Mattsson JSM, Planck M, Tran L, Vidarsdottir H, et al. Mucin staining is of limited value in addition to basic immunohistochemical analyses in the diagnostics of non-small cell lung cancer. *Sci Rep*. 2019;9(1):1–10.
- [11] Montgomery EA. Diagnostic histochemistry of soft tissue lesions. *Semin Diagn Pathol* [Internet]. 2018;35(6):399–406. Available from: <https://doi.org/10.1053/j.semdp.2018.10.005>
- [12] Hao X, Yim J, Freedman D, Siddiqui S, Levine D, Tritto M, et al. PAS stain based histological classification and severity grading of toenail onychomycosis. *Med Mycol*. 2020;58(4):453–9.
- [13] Alkhayat H, Al-Sulaili N, O'Brien E, McCuaig C, Watters K. The PAS stain for routine diagnosis on onychomycosis. *Bahrain Med Bull*. 2009;31(2):1–8.
- [14] Hajar T, Fernández-Martínez R, Moreno-Coutiño G, Vásquez del Mercado E, Arenas R. Modified PAS stain: A new diagnostic method for onychomycosis. *Rev Iberoam Micol*. 2016;33(1):34–7.
- [15] Wulff S. *Guide to Special Stains*. Wulff S, editor. California; 2004. 2–86 p.
- [16] Natasha R, Justin A B. *Quick reference handbook for surgical pathologists*. New York: Springer; 2011. 69–72 p.
- [17] Dako. *Atlas of Special Stains. Vol. 3, Histostaining*. 2014. 1–68 p.
- [18] Borgohain M, Dowerah L, Gogoi G. Evaluation of the significance of mucin stain in a Spectrum of Colorectal Carcinoma. 2017;5:886–92.
- [19] [www.statlab.com](http://www.statlab.com). stat lab medical products, instruction how to use. *statlab Med Prod*. 2016;revisi 4:1–3.
- [20] Johnson SJ, Wadehra V, Infirmiry V, Tyne N. The importance of intracytoplasmic DPAS positivity in fine needle aspirates of breast lesions. 2001;146–51.
- [21] Ali U, Nagi AH, Naseem N, Ullah E. Mucin histochemistry in tumours of colon, ovaries and lung. *Pakistan J Med Heal Sci*. 2012;6(4):940–4.
- [22] Mandal PK, Chakrabarti S, Ray A, Chattopadhyay B, Das S. Mucin histochemistry of stomach in metaplasia and adenocarcinoma: An observation. *Indian J Med Paediatr Oncol*. 2013;34(4):229–33.

- [23] Al-Musaifer BM, Nagaraj V, Al-Buainain L, Darwish A. Glycogen rich clear cell carcinoma of the breast: a rare subtype with good prognosis. *J Surg Case Reports*. 2019;2019(5):1–3.
- [24] Baslaim MM, Junainah EM, Ahmad HH, Semilan AF, Al-Ghamdi AO, Rahimuddin NO, et al. Glycogen Rich Clear Cell Carcinoma (GRCC) of the breast may not have a poor prognosis. *Int J Surg Case Rep [Internet]*. 2017;33:92–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijscr.2017.02.044>
- [25] Vander Poorten V, Triantafyllou A, Thompson LDR, Bishop J, Hauben E, Hunt J, et al. Salivary acinic cell carcinoma: reappraisal and update. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngology*. 2016;273(11):3511–31.
- [26] Juhlin CC, Asa SL, Jatta K, Naserhojati Rodsari H, Shabo I, Haglund F, et al. Perithyroidal Salivary Gland Acinic Cell Carcinoma: Morphological and Molecular Attributes of a Unique Lesion. *Head Neck Pathol [Internet]*. 2020;(0123456789). Available from: <https://doi.org/10.1007/s12105-020-01187-3>
- [27] Chamberlain BK, McClain CM, Gonzalez RS, Coffin CM, Cates JMM. Alveolar soft part sarcoma and granular cell tumor: An immunohistochemical comparison study. *Hum Pathol*. 2014;45(5):1039–44. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j>
- [28] E. Elder david ER. *Lever's histopathology of the Skin*. 11th ed. E. Elder david, editor. Philadelphia; 2015. 276–329 p.
- [29] Ning TZ, Kin WW, Mustafa S, Ahmed A, Noordin R, Cheong TG, et al. Detection of Entamoeba histolytica in experimentally induced amoebic liver abscess: Comparison of three staining methods. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2012;2(1):61–5.
- [30] Haque A. Special Stains Use in Fungal Infections..2010;187–94. Available from: [http://www.dako.com/us/28829\\_connection\\_14.pdf#page=187](http://www.dako.com/us/28829_connection_14.pdf#page=187)