

Pemeriksaan Pewarnaan Kalium Hidroksida (KOH) 20% + Tinta Parker™ *Blue-Black, Chicago Sky Blue* (CSB), dan Kultur Jamur pada Dermatomikosis Superfisialis

(Parker ink-KOH stain, Chicago Sky Blue (CSB) stain, and Fungi Culture, for The Diagnosis of Superficial Dermatomycoses)

Anggraeni Noviandini, Sunarso Suyoso, Linda Astari

Departemen/Staf Medik Fungsional Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin

Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Soetomo Surabaya

ABSTRAK

Latar Belakang: Dermatomikosis superfisialis adalah infeksi jamur pada kulit, kuku, dan rambut yang menginvasi lapisan superfisial. Berdasarkan patogen penyebabnya, dibedakan menjadi dermatofitosis, pitiriasis versikolor (PV), dan kandidiasis. Penegakkan diagnosis dini sangat penting untuk mencegah keterlambatan dalam pengobatannya. Pemeriksaan penunjang yang rutin dilakukan adalah KOH + tinta Parker, sedangkan kultur untuk mencari patogen penyebab. KOH + tinta Parker tidak menghasilkan kontras warna yang baik, sehingga membutuhkan pemeriksa berpengalaman untuk interpretasi hasil. Salah satu pewarnaan alternatif adalah *Chicago Sky Blue* (CSB). **Tujuan:** Mengevaluasi hasil pemeriksaan KOH + tinta Parker, CSB, dan kultur pada dermatomikosis superfisialis. **Metode:** Penelitian deskriptif observasional pada 45 subjek. Sampel diambil dari kerokan lesi dermatomikosis superfisialis, kemudian diperiksa dengan KOH + tinta Parker, CSB, dan kultur. KOH + tinta Parker dan CSB diamati oleh peneliti dan analis medis. **Hasil:** Empat puluh lima sampel terdiri dari dermatofitosis 71,1%, PV 22,2%, dan kandidiasis 6,7%. Pewarnaan KOH + tinta Parker didapatkan hasil positif peneliti sebesar 91,11% sampel, analis medis 95,56% sampel, sedangkan CSB positif 100% sampel pada kedua pengamat. Kultur positif pada 71,1% sampel. **Simpulan:** Pewarnaan CSB merupakan metode yang mudah, cepat, dan sederhana untuk menunjang diagnosis dermatomikosis superfisialis. Pewarna ini memberi kontras warna yang baik, sehingga dapat digunakan oleh klinisi yang belum berpengalaman di praktek pribadi maupun laboratorium.

Kata kunci: KOH + tinta Parker, CSB, kultur, dermatomikosis superfisialis.

ABSTRACT

Background: Superficial dermatomycoses are infections of skin, nails, and hair that can be divided into dermatophyte, pityriasis versicolor (PV), and candidiasis based on the causative pathogens. Rapid diagnosis is important to initiate the treatment earlier. To establish the diagnosis, direct microscopy using potassium hydroxide and culture examinations could be performed. Although the routine examination using Parker ink-KOH staining could be done in very short time, it was lacking of color contrast and requiring considerable skill interpretation. Various contrast dyes are available including a new contrast *Chicago Sky Blue* (CSB) staining. **Purpose:** To evaluate the result of Parker ink-KOH stain, CSB stain, and culture for the diagnosis of superficial dermatomycoses. **Methods:** The study was an observational descriptive research. Skin scrapings from patients with clinical diagnosis of superficial dermatomycoses in Dermatology and Venereology Outpatient Clinic Dr. Soetomo General Hospital were examined using Parker ink-KOH stain, CSB stain, then interpreted by a researcher and analysts. The samples were also cultured. **Results:** A total of 45 samples, 71.1% revealed dermatophyte patients, 22.2% PV patients, and 6.7% candidiasis patients. The fungal filaments were detected in Parker ink-KOH stain by researcher 91.11% of the samples and by analysts 95.56%. CSB stain were detected 100% in all the samples by both observers. The culture was positive in 71.1% samples. **Conclusion:** CSB stain provides a good color contrast and shown a promising examination as it is rapid, simple, and easy to interpret for the diagnosis of superficial dermatomycoses, thus it is suitable to apply for inexperienced clinicians in dermatology clinical setting and laboratory.

Key words: Parker ink-KOH stain, CSB stain, culture, superficial dermatomycoese.

Alamat korespondensi: Linda Astari, Departemen/Staf Medik Fungsional Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Soetomo, Jl. Mayjen Prof. Dr. Moestopo No. 6-8 Surabaya 60131, Indonesia. Telepon: +62315501609. Email: lindaastari@yahoo.com.

PENDAHULUAN

Dermatomikosis masih menjadi masalah kesehatan di Indonesia, dengan proporsi terhadap dermatosis bervariasi antara 4,1% sampai dengan 26,4% (2009-2011). Dermatomikosis superfisialis adalah infeksi jamur pada kulit, kuku, dan rambut yang hanya menginvasi lapisan superfisial, yang berdasarkan patogen penyebabnya dibedakan menjadi dermatofitosis, pitiriasis versikolor (PV), dan kandidiasis. Pada tahun 2011, dermatofitosis menduduki urutan tertinggi di Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) Dr. Soetomo, yaitu sebanyak 52,7%, diikuti PV 28,4%, dan kandidiasis 12,7%.^{1,2,3} Penegakan diagnosis yang cepat penting untuk menentukan terapi awal dan menghindari keterlambatan dalam penatalaksanaannya.⁴

Diagnosis dermatomikosis ditegakkan berdasarkan anamnesis, pemeriksaan klinis, dan dapat ditunjang dengan pemeriksaan sediaan langsung kalium hidroksida (KOH), dan kultur jamur.^{1,3,4} Pemeriksaan yang rutin dilakukan adalah KOH 20% + tinta Parker™ *blue-black*. Pewarnaan ini bekerja dengan baik untuk *Malassezia furfur*, dan formulasinya yang telah berubah menyebabkan kontras warna yang dihasilkan pada elemen jamur lain kurang baik, sehingga sulit untuk diamati oleh pemeriksa yang tidak berpengalaman. Pewarna lain yang bisa menjadi alternatif pada pemeriksaan sediaan langsung adalah *Chicago Sky Blue* (CSB).^{5,6}

Pewarna *Chicago Sky Blue* (CSB) dipublikasikan oleh Nashimoto dan kawan-kawan, 2006 yang merupakan campuran substansi alkali (KOH 15-30%) dan pewarna *diazo* (CSB 6B 0,1-1%). Pewarna ini dapat memberikan kontras warna yang baik pada jamur genus *Trichophyton*, *Candida*, dan *Malassezia*, sehingga elemen jamur lebih mudah dideteksi meskipun oleh pemeriksa yang tidak berpengalaman.^{7,8} Penelitian ini merupakan penelitian awal untuk mengevaluasi gambaran elemen jamur dengan pemeriksaan rutin KOH 20% + tinta Parker™ *blue-black*, pewarnaan CSB, dan kultur pada pasien dermatomikosis superfisialis di Divisi Dermatologi URJ Kesehatan Kulit dan Kelamin RSUD Dr. Soetomo Surabaya. Penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan mengenai alat uji diagnostik baru untuk membantu menegakkan diagnosis dermatomikosis superfisial dengan menggunakan pewarnaan CSB, sehingga dapat memberikan alternatif pemeriksaan sediaan langsung yang lebih mudah interpretasinya bagi klinisi dan laboratorium, sedangkan bagi pasien diharapkan dapat membantu mempercepat kepastian diagnosis.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini adalah penelitian deskriptif observasional, yang dilakukan di Divisi Dermatologi Unit Rawat Jalan (URJ) Kesehatan Kulit dan Kelamin RSUD Dr. Soetomo Surabaya. Populasi penelitian ini adalah pasien baru dengan diagnosis dermatomikosis superfisialis, yang memenuhi kriteria penelitian, yaitu berusia 15 tahun keatas, tidak sedang dalam pengobatan anti jamur, tidak ada riwayat menggunakan topikal anti jamur kurang dari 4 minggu dan atau oral anti jamur kurang dari 2 minggu, serta bersedia untuk mengikuti penelitian. Sampel diambil dengan memasukkan seluruh pasien dermatomikosis superfisial yang memenuhi kriteria penelitian (total sampel) selama 3 bulan dari 23 Februari 2016 sampai dengan 23 Mei 2016 karena rentang waktu 3 bulan sudah dapat menunjukkan karakteristik sampel yang dimaksud dan sesuai dengan kecukupan sampel yang dibutuhkan dalam penelitian ini.

Bahan pemeriksaan diambil dari bagian tubuh yang diduga sebagai lesi dermatomikosis superfisialis dengan cara dikerok pada kulit dan kuku, atau dicabut pada lesi rambut, kemudian diperiksa dengan KOH 20% + tinta Parker™ *blue-black*, pewarnaan CSB, dan kultur. Bahan pemeriksaan kemudian diperiksa di laboratorium Divisi Dermatologi URJ Kesehatan Kulit dan Kelamin RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

Pemeriksaan sediaan langsung dengan KOH 20% + tinta Parker™ *blue-black*, dan pewarnaan CSB akan diamati oleh 2 pemeriksa, yaitu peneliti dan analis medis. Hasil yang dinilai adalah positif, apabila tampak elemen jamur berupa hifa dan atau artrokonidia, atau negatif, dan parameter gambaran elemen jamur, yaitu kondisi elemen jamur yang terlihat, antara lain: warna (biru atau transparan), ada atau tidaknya presipitat kebiruan, kestabilan sediaan dalam 24 jam, dan morfologi elemen jamur pada pembesaran 1000x (khusus untuk CSB). Hasil kultur jamur ditunggu sampai terdapat pertumbuhan jamur 2-8 minggu dan diamati oleh analis medis. Seluruh hasil akan didokumentasikan, dicatat pada lembar pengumpul data, dievaluasi, dan disimpulkan.

HASIL

Selama kurun waktu 3 bulan didapatkan 45 pasien yang memenuhi kriteria inklusi, yang terdiri dari dermatofitosis 32 pasien (71,1%), PV 10 pasien (22,2%), dan kandidiasis kutis 3 pasien (6,7%). Kelompok umur terbanyak adalah 15-24 tahun, sebesar 48% dari 45 pasien, sesuai dengan pekerjaan terbanyak yaitu mahasiswa/pelajar sebesar 35,6%.

Jenis kelamin laki-laki lebih dominan dari perempuan, yaitu sebanyak 53,3%.

Keluhan utama terbanyak adalah bercak merah gatal, yaitu pada 34 pasien (75,6%), dan bercak putih gatal pada 7 pasien (15,6%) yang didiagnosis sebagai PV. Keluhan lain berupa bercak coklat gatal, bercak hitam gatal, kuku rusak, dan botak masing-masing dimiliki oleh 1 pasien (2,2%). Pada 1 pasien dapat memiliki lebih dari satu lokasi lesi, dengan lokasi tersering adalah di badan, sebanyak 19 pasien (42,2%), sela paha pada 16 pasien (35,6%), dengan lama sakit terbanyak adalah kurang dari 1 bulan, yaitu sebanyak 21 pasien (46,6%). Faktor predisposisi dermatomikosis superfisialis dibagi menjadi eksogen dan endogen. Faktor endogen terbanyak pada penelitian ini adalah penyakit dasar serius sebanyak 7 pasien (15,6%), terdiri dari diabetes melitus (DM), *Systemic Lupus Erythematosus* (SLE) dan regurgitasi mitral *insufficiency*. Faktor eksogen terbanyak adalah faktor higienitas pasien yaitu sebanyak 34 pasien (75,5%), dan 1 pasien dapat memiliki lebih dari 1 faktor predisposisi.

Pemeriksaan lampu Wood hanya dilakukan pada pasien PV dan tinea kapitis, dan didapatkan 1 dari 1 pasien tinea kapitis positif dengan fluoresensi kehijauan, dan 8 dari 10 pasien PV positif dengan fluoresensi kuning keemasan. Hasil identifikasi elemen jamur dermatomikosis superfisialis dengan pewarnaan KOH 20% + tinta Parker™ *blue-black*, didapatkan positif oleh peneliti sebanyak 91,11% dan

oleh analis medis sebanyak 95,56%, sedangkan pada CSB kedua pemeriksa memberikan hasil positif 100%. Kultur jamur didapatkan positif pada 71,1% pasien, dapat dilihat pada Tabel 1. Identifikasi pada dermatofitosis, kedua pemeriksa memberikan hasil positif pada pewarnaan KOH 20% + tinta Parker™ *blue-black* dengan jumlah yang sama, yaitu 93,75%, sedangkan pada CSB sebesar 100%, dengan hasil kultur positif pada 71,9%. Identifikasi pada PV, kedua pemeriksa memberikan hasil positif ada seluruh sediaan yang diperiksa (100%) baik pada pewarnaan dengan KOH 20% + tinta Parker™ *blue-black* maupun dengan CSB, sementara hasil kultur positif pada 60,0% pasien. Identifikasi pada kandidiasis, pemeriksaan KOH 20% + tinta Parker™ *blue-black* oleh peneliti memberikan hasil positif 1 dari 3 orang, sedangkan analis medis memberikan hasil positif pada ketiga kandidiasis. Pewarnaan CSB oleh kedua pemeriksa memberikan hasil positif pada ketiga kandidiasis, dengan hasil kultur jamur positif pada ketiga pasien tersebut. Identifikasi pada dermatomikosis superfisialis, pemeriksaan dengan CSB memberikan hasil positif 100%, dengan KOH 20% + tinta Parker™ *blue-black* 95,56%. Kultur positif pada 71,1% pasien dengan spesies terbanyak yang berhasil diisolasi adalah *T. mentagrophytes* 69,6%, diikuti *T. rubrum* 26,1%, *Malassezia* spp. 18,8%, dan *Candida albicans* 9,4% dan *M. audouinii* 4,3%.

Tabel 1. Distribusi elemen jamur antara hasil pemeriksaan dengan pewarnaan KOH + tinta Parker™ *blue-black*, *Chicago Sky Blue*, dan kultur

Variabel	KOH + tinta Parker		CSB		Kultur
	Pengamat		Pengamat		
	I	II	I	II	
Dermatofitosis (n=32)					
Positif	30 (93,75%)	30 (93,75%)	32 (100%)	32 (100%)	23 (71,9%)
Negatif	2 (6,25%)	2 (6,25%)	0 (0%)	0 (0%)	9 (28,1)
Pitiriasis versikolor (n=10)					
Positif	10 (100%)	10 (100%)	10 (100%)	10 (100%)	6 (60,0%)
Negatif	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	4 (40,0%)
Kandidiasis (n=3)					
Positif	1 (33,3%)	3 (100%)	3 (100%)	3 (100%)	3 (100%)
Negatif	2 (66,7%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Dermatomikosis Superfisialis (DS) (n=45)					
Positif	41 (91,11%)	43 (95,56%)	45 (100%)	45 (100%)	32 (71,1%)
Negatif	4 (8,89%)	2 (4,44%)	0 (0%)	0 (0%)	13 (28,9%)

Keterangan: CSB = *Chicago Sky Blue*

Hasil penilaian parameter gambaran elemen jamur dengan pewarnaan KOH 20% + tinta Parker™ *blue-black* pada penelitian ini menunjukkan bahwa

pewarnaan ini memberikan kontras warna yang baik pada jamur penyebab PV, dengan hasil dari 10 pasien PV, elemen jamur terwarnai biru pada 90% sediaan,

sedangkan pada dermatofitosis, elemen jamur tampak transparan dengan dasar yang juga transparan pada 73,3% dari 30 pasien. Kasus kandidiasis, seluruh sediaan memberikan gambaran elemen jamur transparan. Pemeriksaan presipitat pada dermatofitosis didapatkan presipitat kebiruan sebanyak 53,3% dari 30 sediaan; 50% dari 10 sediaan PV; dan 3 dari 3

sediaan kandidiasis. Hampir seluruh sediaan masih dapat bertahan baik dalam 24 jam dari dermatofitosis, PV, dan kandidiasis. Didapatkan 2 sediaan pasien yang bertahan < 24 jam, masing-masing 1 pasien dermatofitosis dan kandidiasis (Tabel 2). Gambaran elemen jamur tersebut dapat dilihat pada Gambar 1.

Tabel 2. Distribusi Pemeriksaan KOH + tinta Parker™ blue-black

Variabel	Diagnosis			Jumlah n=45 (DS)
	Dermatofitosis n=32	Pitiriasis versikolor n=10	Kandidiasis n=3	
Warna				
Positif	30 (93,8%)	10 (100%)	3 (100%)	43 (95,6%)
Biru	8 (26,7%)	9 (90,0%)	0 (0%)	0.0 (39,5%)
Transparan	22 (73,3%)	1 (10,0%)	3 (100%)	2 (60,5%)
Negatif	2 (6,2%)	0 (0%)	0 (0%)	0.0 (4,4%)
Persipitat biru				
Positif	30 (93,8%)	10 (100%)	3 (100%)	43 (95,6%)
Presipitat (+)	16 (53,3%)	5 (50,0%)	1 (33,3%)	0 (51,2%)
Presipitat (-)	14 (46,7%)	5 (50,0%)	2 (66,7%)	21 (48,8%)
Negatif	2 (6,2%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (4,4%)
Lama bertahan				
Positif	30 (93,8%)	10 (100%)	3 (100%)	43 (95,6%)
2 jam	1 (3,3%)	0 (0%)	1 (33,3%)	2 (4,7%)
24 jam	29 (96,7%)	10 (100%)	2 (66,7%)	41 (95,3%)
Negatif	2 (6,2%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (4,4%)

Keterangan: DS = Dermatomikosis Superfisialis

Hasil penilaian parameter gambaran elemen jamur dengan pewarnaan CSB menunjukkan pewarnaan tersebut memberikan kontras warna yang baik antara elemen jamur dan dasar sediaan baik pada dermatofitosis, PV, dan kandidiasis, sehingga struktur jamur tampak jelas dan mudah dideteksi. Didapatkan hasil pada dermatofitosis, 90,6% dari 32 sediaan positif, elemen jamur terwarnai biru, pada PV 100% elemen jamur terwarnai biru, dan pada semua sediaan kandidiasis yang diperiksa memberikan gambaran elemen jamur transparan, namun struktur jamur tampak jelas karena kontras warna terhadap dasar sediaan (merah muda keunguan atau biru muda) yang dihasilkan cukup baik. Gambaran presipitat kebiruan

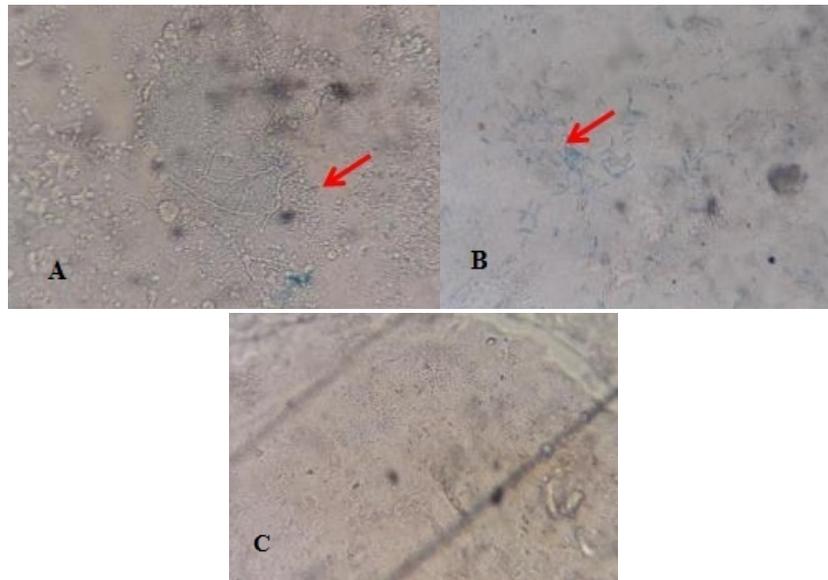
pada sediaan dengan pewarnaan CSB, memberikan hasil yang bervariasi baik pada dermatofitosis, PV, maupun kandidiasis. Gambaran presipitat kebiruan hanya didapatkan pada 18,7% pasien dermatofitosis, dan pada 80,0% pasien PV, namun struktur elemen jamur tampak jelas. Seluruh sediaan hasil positif, baik pada kasus dermatofitosis, PV, maupun kandidiasis, dapat bertahan sampai 24 jam dan elemen jamur setelah 24 jam tampak makin jelas. Gambaran detail morfologi jamur dapat dilihat pada seluruh sediaan positif pewarnaan CSB bila ditambahkan dan diamati dengan mikroskop cahaya melalui pembesaran 1000x (Tabel 3). Gambaran elemen jamur ini dapat dilihat pada Gambar 2 dan 3.

Tabel 3. Distribusi Pemeriksaan Chicago Sky Blue

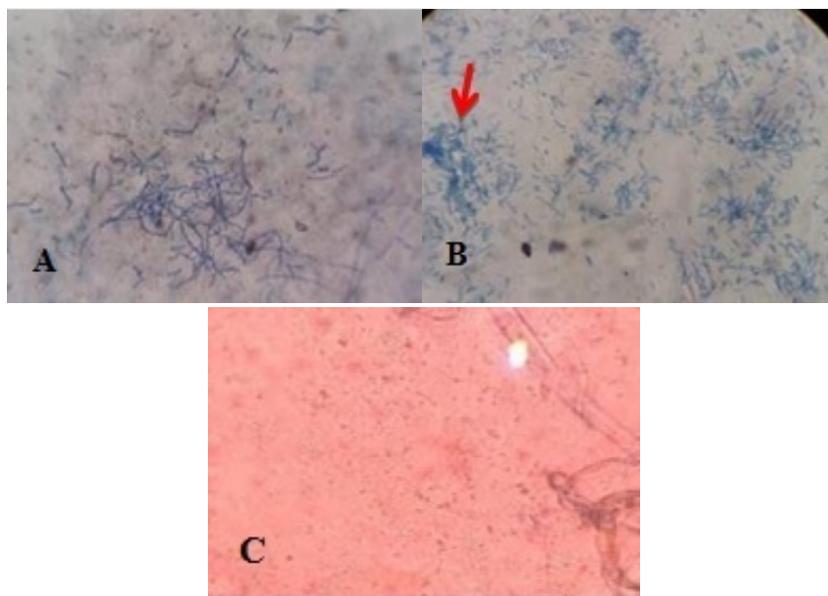
Variabel	Diagnosis			Jumlah n=45 (DS)
	Dermatofitosis n=32	Pitiriasis versikolor n=10	Kandidiasis n=3	
Warna				
Biru	29 (90,6%)	10 (100%)	0 (0%)	39 (86,7%)
Transparan	3 (9,4%)	0 (0%)	3 (100%)	6 (13,3%)
Persipitat biru				
Positif	6 (18,7%)	8 (80,0%)	0 (0%)	14 (31,1%)
Negatif	26 (81,3%)	2 (20,0%)	3 (100%)	31 (68,9%)

Variabel	Diagnosis			Jumlah $n=45$ (DS)
	Dermatofitosis $n=32$	Pitiriasis versikolor $n=10$	Kandidiasis $n=3$	
Lama bertahan				
24 jam	32 (100%)	10 (100%)	3 (100%)	45 (100%)
Morfologi dengan penambahan <i>immersion oil</i>				
Jelas	32 (100%)	10 (100%)	3 (100%)	42 (100%)

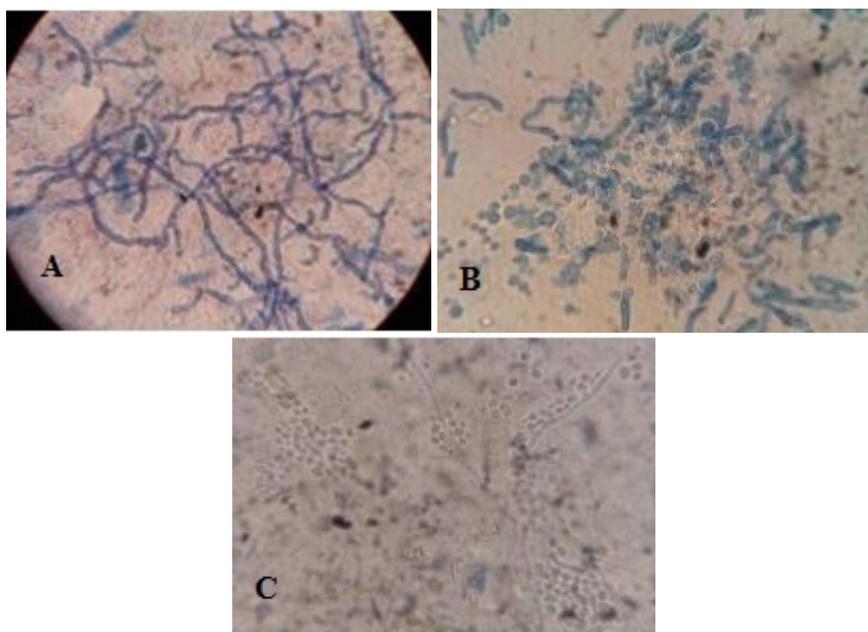
Keterangan: DS = Dermatofitosis Superfisialis



Gambar 1. Hasil Pemeriksaan KOH 20% + tinta ParkerTM blue-black (pembesaran x400) pada: **A.** Dermatofitosis; **B.** Pitiriasis Versikolor; **C.** Kandidiasis.



Gambar 2. Hasil Pewarnaan Chicago Sky Blue (pembesaran x400) pada: **A.** Dermatofitosis; **B.** Pitiriasis versikolor; **C.** Kandidiasis.



Gambar 3. Hasil Pewarnaan *Chicago Sky Blue* dengan *immersion oil* (pembesaran 1000x) pada:
A. Dermatomikosis; B. Pityriasis Versikolor; C. Kandidiasis.

PEMBAHASAN

Diagnosis, terapi, dan survei epidemiologi dermatomikosis bergantung pada verifikasi penyebabnya.⁹ Penegakkan diagnosis dermatomikosis superfisialis yang lebih akurat, tidak hanya berdasarkan klinis saja namun juga diperlukan pemeriksaan penunjang. Salah satu pendekatan laboratoris mikrobiologi untuk diagnosis infeksi jamur adalah dengan pemeriksaan mikroskopis langsung dari bahan klinis. Pemeriksaan ini merupakan pemeriksaan yang cukup cepat, berguna, dan efektif untuk melihat elemen jamur, dengan hasil positif apabila ditemukan hifa dan/atau artrokonidia. Pemeriksaan yang rutin dilakukan adalah dengan pewarnaan KOH + tinta Parker™ *blue-black*. Larutan campuran ini menambah kontras antara elemen jamur dengan sekitarnya sehingga memudahkan pembacaan, namun umumnya hanya pada sediaan yang berasal dari pityriasis versikolor (PV) jamurnya berwarna jelas lebih biru dibandingkan dengan jamur lainnya.^{10,11,12}

Hasil pemeriksaan KOH 20% + tinta Parker™ *blue-black* memberikan hasil positif oleh peneliti sebanyak 91,11%, dan 95,56% oleh analis medis. Hal itu mendukung penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa metode pemeriksaan dengan KOH + tinta Parker™ *blue-black* saat ini tidak lagi menghasilkan kontras warna yang baik karena formulasi tinta Parker sudah berubah, sehingga membutuhkan pemeriksa yang berpengalaman untuk membaca dan menginterpretasi hasil.^{5,6} Kelemahan pewarnaan KOH + tinta Parker™ *blue-black* salah

satunya adalah gambaran elemen jamur yang tampak transparan dengan dasar yang transparan, kemungkinan disebabkan elemen jamur hanya sedikit atau bahkan tidak dapat menyerap tinta Parker, sehingga elemen jamur sulit dideteksi.⁵ Hasil penelitian ini didapatkan bahwa pewarnaan tersebut memberikan kontras warna yang baik pada sediaan PV. Elemen jamur terwarnai biru pada 90% dari 10 pasien PV, sedangkan pada dermatofytosis, dari 30 orang dengan hasil pemeriksaan positif sebagian besar menunjukkan gambaran elemen jamur transparan dengan dasar yang juga transparan, yaitu 73,3% sediaan, serta pada 3 orang pasien kandidiasis, ketiganya memberikan gambaran elemen jamur transparan. Gambaran yang didapatkan pada penelitian ini sesuai dengan penelitian Tambosis E dan Lim C, tahun 2012.⁵

Gambaran lain yang mendukung kurang baiknya kualitas kontras warna yang dihasilkan oleh KOH 20% + tinta Parker™ *blue-black* adalah adanya presipitat kebiruan. Presipitat kebiruan adalah warna debris kebiruan yang berada disekitar elemen jamur, sehingga bisa merancukan gambaran elemen jamur seperti yang tercatat dalam penelitian yang dilakukan oleh Lim SL dan Lim CSH, tahun 2008 yang membandingkan pewarnaan CSB dan KOH 20% + tinta Parker™ *blue-black* pada PV.¹³ Variasi hasil gambaran presipitat kebiruan pada dermatomikosis superfisialisdalam penelitian ini kemungkinan disebabkan perbedaan kondisi bahan klinis yang diambil, baik itu jumlah, lokasi, maupun bentuk lesi;

dan perbedaan reagen KOH 20% + tinta Parker™ *blue-black* yang digunakan pada penelitian ini dengan penelitian terdahulu.

Penelitian Tambosis E dan Lim C, tahun 2012 disebutkan bahwa pada pemeriksaan KOH 20% + tinta Parker™ *blue-black* selain gambaran presipitat kebiruan yang mengaburkan gambaran elemen jamur, spesimen juga cepat berubah warna, sehingga pembacaan sediaan harus segera dilakukan.⁵ Larutan KOH adalah larutan penjernih yang akan melarutkan protein, lipid, dan melisis epitel. Elemen jamur akan bertahan terhadap larutan KOH karena mengandung kitin dan glikoprotein pada dinding sel, oleh karena itu konsentrasi yang dianjurkan adalah KOH 10-30%, supaya elemen jamur yang diperiksa tidak ikut dilarutkan dengan cepat dan menghasilkan negatif palsu.¹⁰ Pada penelitian ini, hampir seluruh sediaan dapat bertahan selama 24 jam. Sediaan yang bertahan kurang dari 24 jam kemungkinan karena jumlah bahan klinis yang dibuat sediaan terlalu sedikit, sehingga elemen jamur ikut terlarut.

Nashimoto dan kawan-kawan pada tahun 2006 mempublikasikan penemuan bahan pewarna mikroorganisme baru yang dibuat dari campuran substansi alkali (KOH 15-30%) dan pewarna *diazo* (CSB 6B 0,1-1%) atau *xanthene* dan dapat ditambahkan methanol dan/atau *dimethyl sulfoxide*. Penemuan CSB menjadi solusi bagi masalah pra-terapi dalam mencari pengganti metode pemeriksaan konvensional langsung yang dapat mewarnai mikroorganisme, terutama jamur kulit, seperti *Trichophyton*, jamur *Candida*, dan *Malassezia* lebih cepat dan tepat.^{7,8} Hasil positif didapatkan dari 45 sediaan (100%) dengan pewarnaan CSB, baik yang dibaca oleh peneliti maupun analis medis. Hal itu menunjukkan bahwa pada dermatofitosis, PV, dan kandidiasis, sediaan positif menunjukkan kontras warna yang baik antara elemen jamur dan dasar sediaan, sehingga struktur jamur tampak jelas dan mudah dideteksi meskipun bukan pemeriksa yang berpengalaman. Hasil pewarnaan CSB positif didapatkan pada 32 pasien dermatofitosis dan memberikan warna biru pada elemen jamur sebanyak 90,6%. Pewarnaan ini juga memberikan warna biru elemen jamur pada sediaan seluruh pasien PV (100%). Seluruh sediaan kandidiasis yang diperiksa, elemen jamur memberikan gambaran transparan, namun struktur jamur tampak jelas karena kontras warna terhadap dasar sediaan (merah muda keunguan atau biru muda) yang dihasilkan cukup baik. Beberapa penelitian terdahulu, baik yang dilakukan oleh Lim CSH dan Lim SL, 2008; Tambosis E dan Lim C, 2012; Fonseka S dan kawan-kawan, 2011 yang membandingkan pewarna CSB dan KOH + tinta

Parker baik pada dermatofitosis, PV, maupun kandidiasis menunjukkan hasil bahwa pewarnaan CSB diserap dengan baik pada semua elemen jamur, dibandingkan KOH + tinta Parker yang hanya diserap dengan baik oleh *Malassezia* spp.^{5,6,14}

Penelitian Lim CSH dan Lim SL, 2008 yang membandingkan antara CSB dan KOH + tinta Parker untuk mendiagnosis cepat dermatofitosis dan kandidiasis disebutkan bahwa pada pembacaan 20 menit pewarnaan elemen jamur *Candida* tidak sebaik pada dermatofit, tetapi pada pembacaan sehari kemudian terkonfirmasi bahwa spesies *Candida* mampu menyerap warna dengan baik.¹⁵ Pada penelitian ini didapatkan 1 pasien kandidiasis yang memberikan gambaran elemen jamur transparan pada pemeriksaan sampai dengan 2 jam, ternyata pada pengamatan 24 jam elemen jamur tampak berwarna biru. Hal itu kemungkinan disebabkan beberapa spesies lambat dalam menyerap warna CSB, sehingga perlu berhati-hati saat pengamatan langsung terutama spesies *Candida* dan bila hasil pengamatan langsung negatif, untuk menghindari hasil negatif palsu dilakukan pembacaan ulang pada hari berikutnya. Presipitat kebiruan pada penelitian ini didapatkan sebanyak 31,1% sediaan CSB, sedangkan pada penelitian Lim CSH dan Lim SL, 2008 yang membandingkan CSB dan KOH + tinta Parker pada PV menunjukkan bahwa presipitat kebiruan hanya tercatat pada pewarnaan dengan KOH + tinta Parker.¹³ Ketidakesuaian hasil tersebut dengan penelitian sebelumnya kemungkinan disebabkan karena komposisi pewarna CSB yang digunakan berbeda dengan penelitian ini, disebutkan pada penelitian oleh Lim CSH dan Lim SL, 2008 untuk PV menggunakan pewarna CSB dengan komposisi CSB 6B 1% dan KOH 8%.

Keunggulan pewarnaan baru CSB lainnya adalah kestabilan dalam mewarnai sediaan untuk mendeteksi elemen jamur karena kadangkala pada prakteknya, sampel berupa sediaan jamur yang dikirim dari klinik praktek dokter datang terlambat sehari ke laboratorium, sehingga bila pewarnaan ini terbukti stabil maka sediaan dapat dibaca pada hari berikutnya.¹⁴ Hal itu sesuai dengan hasil penelitian ini yang menunjukkan seluruh sediaan positif CSB dapat bertahan dalam 24 jam. Kelebihan lain pewarna CSB seperti yang disebutkan dalam penelitian sebelumnya, yaitu gambaran detail morfologi jamur dapat dilihat dengan pewarnaan CSB bila ditambahkan minyak dan diamati dengan mikroskop cahaya pembesaran 1000x, sesuai dengan hasil penelitian, seluruh sediaan memberikan gambaran yang jelas dan detail, baik pada dermatofitosis, PV, maupun kandidiasis.^{13,16,17}

Kultur jamur diperlukan untuk identifikasi

spesies yang lebih akurat karena pemeriksaan mikroskopis sediaan langsung yang menunjukkan elemen jamur hanya berarti terdapat infeksi jamur, namun pemeriksaan tersebut membutuhkan waktu lama dan tidak praktis.¹⁰ Hasil penelitian dari 45 pasien dermatomikosis superfisialis yang dikultur memberikan hasil positif hanya pada 32 pasien (71,1%). Pemeriksaan langsung KOH + tinta Parker ataupun CSB positif tampak gambaran elemen jamur, bila dikultur 30-70% yang akan tumbuh. Kultur merupakan standart baku emas pada dermatofitosis dan kandidiasis, namun nilainya tidak 100% dengan hasil negatif palsu cukup tinggi disebabkan spesimen kultur mengandung jumlah mikroorganisme jamur yang tidak adekuat atau hanya berisi jamur yang tidak viabel. Hanya elemen jamur yang viabel saja yang akan tumbuh, sedangkan yang tidak viabel tidak dapat tumbuh pada kultur. Kultur dilakukan untuk mengidentifikasi patogen penyebab, namun bila hasilnya negatif tidak menyingkirkan diagnosis.^{16,18}

Setiap sediaan bahan klinis yang diperiksa pada penelitian ini dilakukan pengamatan oleh dua orang yang berbeda tingkat keahliannya dalam interpretasi pemeriksaan mikroskopis, yaitu seorang dokter yang merupakan peneliti dan seorang analis medis. Hasil pemeriksaan 45 pasien dermatomikosis superfisialis, didapatkan hasil positif dengan pewarnaan KOH 20% + Tinta Parker™ *blue-black* oleh peneliti sebanyak 91,11%, dan oleh analis medis sebanyak 95,56%, sedangkan dengan pewarna CSB kedua pemeriksa memberikan hasil positif pada seluruh sediaan pasien (100%), dengan kultur jamur menunjukkan pertumbuhan jamur pada 71,1% pasien. Hal itu mendukung hasil analisis dari penelitian yang dilakukan oleh Lim CSH dan Lim SL, menunjukkan bahwa pewarnaan kontras baru CSB lebih sensitif dan spesifik dibandingkan KOH 20% + tinta Parker™ *blue-black* meskipun tidak berbeda secara signifikan.¹⁷ Levitt JO dan kawan-kawan, 2010 menyebutkan bahwa kultur jamur lebih spesifik namun kurang sensitif dibandingkan pemeriksaan mikroskopis sediaan langsung KOH dalam menentukan patogen, selain itu pemeriksaan kultur membutuhkan waktu inkubasi yang lama.¹⁸

Tujuan penelitian untuk mengevaluasi gambaran hasil pemeriksaan dengan pewarnaan KOH 20% + tinta Parker™ *blue-black*, CSB, dan kultur jamur dalam membantu menegakkan diagnosis dermatomikosis superfisialis, menunjukkan hasil yang sesuai dengan penelitian sebelumnya yang membandingkan antara KOH 20% + tinta Parker™ *blue-black* dan CSB, baik pada dermatofitosis, PV,

maupun kandidiasis.^{13,17,20} Pewarnaan CSB mempermudah mendeteksi elemen jamur dermatofit, memberikan gambaran hasil yang sama bagusnya dengan KOH 20% + tinta Parker™ *blue-black* dalam mendeteksi elemen jamur PV, dan pada kandidiasis gambaran elemen jamur dapat lebih jelas dan mudah teramati bila sediaan dibiarkan lebih lama. Kelemahan dari penelitian didapatkan pada jumlah dan distribusi pengelompokan karakteristik subjek penelitian yang tidak rata, sehingga bisa menjadi faktor perancu yang mempengaruhi validitas hasil.

Pemeriksaan mikroskopis langsung dengan pewarnaan CSB merupakan metode baru yang cepat, sederhana, dan mudah, karena menghasilkan kontras warna yang baik, sehingga elemen jamur lebih mudah teramati meskipun bukan pemeriksa berpengalaman, dan pada pembacaan sediaan 24 jam akan tampak lebih jelas. Penelitian ini dapat dijadikan dasar penelitian selanjutnya secara analitik *comparative double blind* yang membandingkan pewarnaan CSB dengan pemeriksaan rutin KOH 20% + tinta Parker™ *blue-black* oleh peneliti yang belum berpengalaman, dengan subjek yang lebih banyak untuk mendapatkan nilai diagnostik pewarnaan CSB, sehingga diharapkan bisa menjadi alternatif pemeriksaan dermatomikosis superfisialis bagi klinisi yang tidak berpengalaman, terutama di praktek atau klinik pribadi dan laboratorium. Kultur merupakan standar baku emas pada dermatofitosis dan kandidiasis, sebaiknya penelitian lanjutan didasarkan pada hasil kultur positif, sementara pada PV dapat langsung membandingkan pewarnaan CSB dan KOH 20% + Tinta Parker™ *blue-black*, mengingat kultur bukan merupakan standar baku emasnya.

KEPUSTAKAAN

1. Nenoff P, Kruger C, Hanselmayer GG, Tietz HJ. Dermatofitosis: Causative agents, epidemiology and pathogenesis. In: Simon JC, editor. Mycology-an update. JDDG 2014 Mar; 12(3):188-210.
2. Weeks J, Moser SA, Elewski BE. Superficial cutaneous fungal infections. In: Dismukes WE, Pappas PG, Sobel JD, editors. Clinical mycology. New York: Oxford University, Inc; 2003. p. 367-89.
3. Adiguna MS. Epidemiologi dermatomikosis superfisialis di Indonesia. Dalam: Bramono K, Suyoso S, Indriatmi W, Ramali LM, Widaty S, Ervianti E, editor. Dermatofitosis superfisialis. Edisi kedua. Jakarta:Badan Penerbit FKUI; 2013. h.1-8.

4. Schieke SM, Garg A. Superficial fungal infection. In: Wolff K, Goldsmith LA, Katz SI, Gilchrest BA, Paller AS, Leffell DJ, editors. Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine. 8th ed. New York: The McGraw-Hill Companies; 2012. p. 2277-97.
5. Tambosis E, Lim C. A comparison of the contrast stains, chicago blue, chlorazole blaack, and parker ink, for the rapid diagnosis of skin and nail infections. *Int J Dermatol* 2012; 51:935-8.
6. Lim CSH, Lim SL. Practical tip: Chicago sky blue (CSB) stain can be added to the routine potassium hydroxyde (KOH) wet-mount to provide a color contrast and facilitate the diagnosis of dermatomycoses. *Dermatol Online J* 2011; 17(8):11.
7. Nashimoto K, Ishida K, Ikeda Y, Hanaoka Y. Microorganism staining agent and use thereof. US Patent Application Publication; US 2006/0263843 A1. [disitasi 20 April 2016]. Available from: <http://www.patentimages.storage.googleapis.com>.
8. Sigma-Aldrich Safety Data Sheet veersion 4.I. [disitasi 20 April 2016]. Available from :<http://www.sigma.aldrich.com>.
9. Das S, Goyal R, Bhattacharya SN. Laboratory-based epidemiological study of superficial fungal infections. *J. Dermatol* 2007; 34:248-53.
10. Nugroho SA. Pemeriksaan penunjang diagnosis mikosis superfisialis. Dalam: Bramono K, Suyoso S, Indriatmi W, Ramali LM, Widaty S, Ervianti E, editor. *Dermatomikosis superfisialis*. Edisi ke-2. Jakarta: Badan Penerbit FKUI; 2013. h. 154-66.
11. Chen MM. Simple procedure for staining tinea versicolor (*M. furfur*) with mountain ink. *J Invest Dermatol* 1954; 22:9-10.
12. Crespo-Erchiga V, Florencio VD, Malassezia yeasts and pityriasis versicolor. *Curr Opin Infect Dis* 2006; 19:139-47.
13. Lim SL, Lim CSH. New contrast stain for the rapid diagnosis of pityriasis versicolor. *Arch Dermatol* 2008; 144(8):1058-9.
14. Fonseka S, Lim CSH, Bandara UN, Dissanayake M. New contrast stain for the rapid diagnosis of dermatophytosis and pityriasis versicolor. *Labmedicine* 2011; 42(11):649-52.
15. Green FJ. The Sigma-Aldrich handbook of stains, dyes, and indicators. Milwaukee, WI: Aldrich Chemical Company Inc; 1990.
16. Lim CSH, Lim SL. New contrast stain for the rapid diagnosis of onychomycosis. *Arch Dermatol* 2011; 147(8): 981-2.
17. Lim SL, Lim CSH. New contrast stain for the rapid diagnosis of dermatophytic and candidal dermatomycoses. *Arch Dermatol* 2008; 144(9):1228-9.
18. Surrendan KAK, Bhat RM, Nandakishore B, Sukumar D. A clinical and mycological study of dermatophytic infections. *IJD* 2014; 59(3): 268.
19. Levitt JO, Levitt BH, Akhavan A, Yanofsky H. The sensitivity and specificity of potassium hydroxide smear and fungal culture relative to clinical assessment in the evaluation of tinea pedis: a pooled analysis. *Dermatol. Res. Pract.* 2010; 2010:1-8.
20. Liu Z, Sheng P, Yang YP, Huang WM, Li W, Wang JD, Fan YM. Comparison of modified Chicago Sky Blue and potassium hydroxide mount for the diagnosis of dermatomycoses and onychomycoses. *J Microbiol Methods* 2015; 112: 21-3.