

TEHNIK IMUNOHISTOKIMIA SEBAGAI PENDETEKSI ANTIGEN SPESIFIK PENYAKIT INFEKSI

Yani C. Rahayu¹, Elza I. Auerkari²

¹Bagian Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

²Bagian Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia

Yani C. Rahayu, Elza I. Auerkari. Teknik imunohistokimia sebagai pendeteksi antigen spesifik penyakit infeksi. Indonesian Journal of Dentistry 2004; 11(2): 76-82.

Abstract

Infections may be caused by bacteria, viruses, fungi, and parasites. The diagnosis can be established on the basis of signs and symptoms, should be representative of the disease process, and should be obtainable before drug administration. Diagnosis may be aided by different techniques such as investigation on microscopic examination, enzymatic activity, immunoassays, serodiagnosis and genetic probes. The recently applied methods of immunohistochemistry, immunofluorescence and immunoperoxidase staining, can detect specific microbial antigens. Principle of the immunofluorescence technique is recognition of a specific antibody-antigen reaction and its visualization by labeling a chromogenic substrate. The immunoenzyme techniques require the attachment of an enzyme to a specific antibody. The antibody-antigen complex can be recognized by an enzyme label (peroxidase), resulting in a coloured product after reaction with a specific substrate and chromogenic substrate. These techniques are histologically used for visualization tissue specimen labeling, and to detect localization of antigen.

Keyword: immunohistochemistry, immunofluorescence and immunoperoxidase, infection

Pendahuluan

Timbulnya suatu penyakit infeksi dipengaruhi oleh interaksi antara daya tahan tubuh dan faktor virulensi mikroorganisme. Infeksi dapat disebabkan oleh bakteri, virus, jamur, dan parasit. Patogen ini bisa didapat dari lingkungan atau makhluk hidup lain (eksogen) maupun dari flora normal (endogen). Spesimen diseleksi

berdasarkan tanda dan gejala sesuai perjalanan penyakitnya, sebelum penatalaksanaan dengan bahan antimikroba.¹

Diagnosis penyakit ditegakkan berdasarkan pemeriksaan fisik dan penunjang, mulai dari sejarah kesehatan, radiografik, dan data laboratoris. Identifikasi mikroorganisme penyebab dapat ditentukan sebelum pemberian anti-

mikroba yang dapat dilakukan dengan berbagai cara, yaitu dengan pemeriksaan mikroskopis, penggunaan substrat karbohidrat, aktivitas enzimatis, serodiagnosis dan probe genetik. Prosedur dengan teknik imunohistokimia, yaitu dengan pewarnaan imunofluoresensi dan imunoperoxidase saat ini mulai banyak

digunakan untuk mendeteksi agen mikroba spesifik.^{1,2}

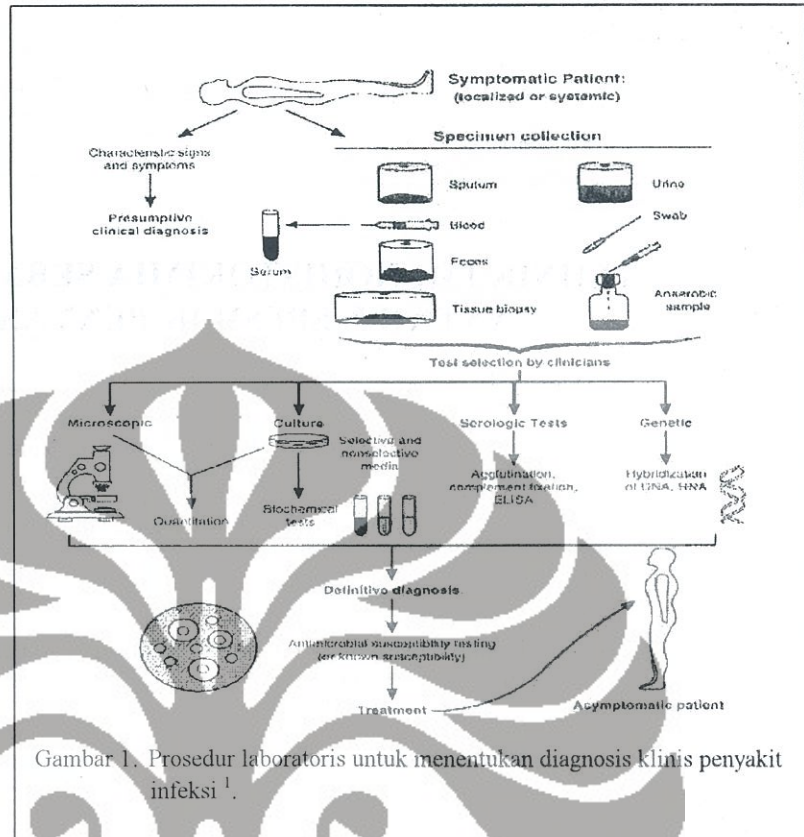
Teknik imunohistokimia (IHK) adalah suatu metode yang bertujuan untuk mengidentifikasi sel-sel spesifik berdasarkan komponen antigenik atau produk selulernya dengan reaksi kompleks antigen-antibodi. Dengan kata lain, imunohistokimia digunakan sebagai dasar penegakan diagnosis dan identifikasi tipe sel berdasarkan detail sitomorfologi, terutama sering digunakan pada kasus-kasus tumor dan keganasan. Dalam teknik ini dapat dibedakan teknik imunofluoresensi dan imunoenzim.^{2,3}

Pemahaman tentang prinsip dasar beberapa teknik pemeriksaan imunologi sangat diperlukan, agar dapat memilih jenis pemeriksaan yang diperlukan. Ada pemeriksaan yang mutlak untuk diagnosis, untuk memantau penyakit, dan ada pula pemeriksaan yang dilakukan dalam penelitian khusus.¹

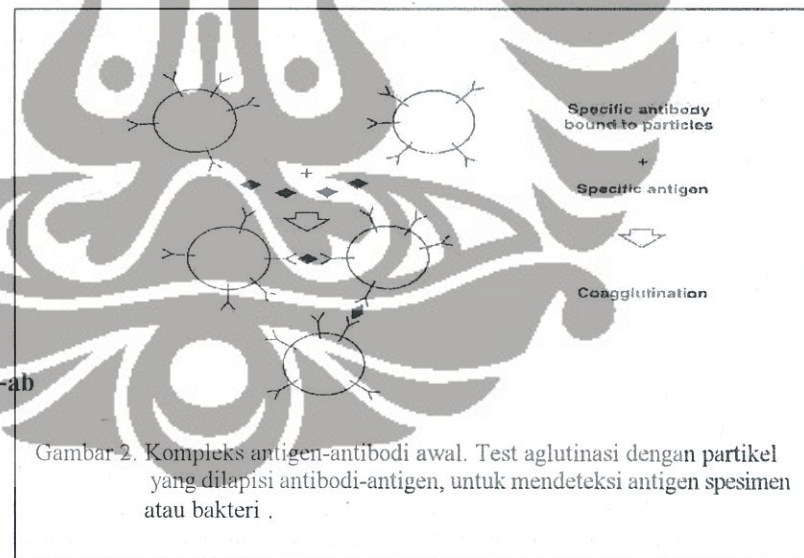
Pada makalah ini akan dibahas secara ringkas mengenai teknik imunohistokimia yang dibedakan dalam dua metode, yaitu teknik imunofluoresensi dan teknik imunoenzim. Teknik ini merupakan salah satu yang saat ini banyak digunakan untuk mendeteksi antigen spesifik penyakit infeksi.

Identifikasi mikroorganisme penyebab penyakit

Metode laboratoris penting digunakan untuk menentukan mikroorganisme spesifik penyebab penyakit. Prosedur ini dimulai dari tanda dan gejala yang tampak, pengambilan spesimen, sampai identifikasi aktivitas *in vitro* bahan antimikroba sesuai mikroorganisme penyebabnya.



Gambar 1. Prosedur laboratoris untuk menentukan diagnosis klinis penyakit infeksi¹.



Gambar 2. Kompleks antigen-antibodi awal. Test aglutinasi dengan partikel yang dilapisi antibodi-antigen, untuk mendeteksi antigen spesimen atau bakteri.

Teknik Imunohistokimia dan Prinsip Reaksi Antigen-Antibodi

Pemeriksaan spesimen secara langsung ini dapat dengan cepat mengindikasikan infeksi mikroba,

yaitu prosedur imunologi dan teknik hibridisasi. Sensitivitas suatu teknik umumnya tergantung pada jumlah dan morfologi khas mikroorganisme secara mikroskopis, maupun kekhasan antibodi

Teknik imunohistokimia sebagai pendeteksi antigen spesifik penyakit infeksi

atau probe genetik untuk mikroorganisme penyebab. Imunohistokimia dan antibodi fluoresensi pada potongan jaringan beku merupakan test yang spesifik, karena menggunakan reagen spesifik virus (antibodi) yang mendeteksi target khusus, yaitu virus.⁴

Sebelum dilakukan reaksi, penting untuk melakukan fiksasi dan persiapan yang tepat, guna mengawetkan zat kimia dan struktur jaringan yang akan dilihat. Dengan fiksasi maka kerangka protein akan diawetkan. Namun karena efek denaturasi, protein menyebabkan sebagian besar enzim menjadi tidak aktif, atau lepas. Oleh karena itu diperlukan fiksasi yang sesuai untuk melihat enzim tertentu. Reaksi imunohistokimia juga harus terlihat dalam bentuk yang tidak larut. Reaksi harus berwarna atau berfluoresensi melalui penyinaran ultraviolet.³

Penggunaan interaksi antigen-antibodi sebagai dasar berbagai uji imunodiagnostik, berdasarkan ikatan maksimal antigen dengan antibodi yang terjadi hanya pada kondisi tertentu, yaitu 1) antibodi hanya bereaksi dengan antigen spesifiknya sehingga terjadi ikatan yang cocok (*lock and key fit*), 2) antibodi membentuk ikatan nonkovalen dengan antigen spesifiknya (ikatan hidrogen, elektrostatik, Van der Waals atau ikatan hidrofobik), 3) antibodi dengan afinitas dan aviditas tinggi pada antigen tertentu, 4) jumlah yang seimbang pada daerah multivalen, 5) konsentrasi yang tepat antara antigen-antibodi, 6) faktor lingkungan yang sesuai.

Untuk mendeteksi antigen mikroba secara imunologi, aglutinasi partikel lateks, koaglutinasi, dan *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) merupakan teknik yang paling banyak digunakan. Antibodi mengikat antigen

Tabel 1. Berbagai uji untuk mendeteksi mikroorganisme pada berbagai spesimen¹

TABLE 10-1 Rapid Tests Commonly Used to Detect Microorganisms in Specimens

Specimen	Test	Application
Blood	Giemsa EIA	Plasmodia, microfilariae Hepatitis A and B virus, human immunodeficiency virus
Cerebrospinal fluid	Gram stain LA; COA India ink wet mount or LA	Bacteria Haemophilus influenzae, Neisseria meningitidis Streptococcus pneumoniae, Cryptococcus neoformans
Wound exudates, pus	Gram stain	Bacteria
Respiratory secretions	Gram stain Acid-fast stain IFA or genetic probe KOH wet mount Gomori methenamine silver stain FA, EIA	Bacteria Mycobacteria, nocardiae Legionella species, Streptococcus pyogenes Fungi Pneumocystis carinii Respiratory syncytial virus
Urine	Gram stain	Bacteria
Urethral or cervical scrapings or exudates	Gram stain, EIA, IFA, EIA, or genetic probe	Neisseria gonorrhoeae Chlamydia trachomatis, papillomaviruses
Genital ulcer	FA, EIA, or genetic probe	Herpes simplex virus
Feces	Methylene blue stain Eosin wet mount, trichrome stain EM, LA, EIA EIA	Leukocytes Parasites Rotaviruses Adenoviruses, Clostridium difficile

Abbreviations: COA, coagglutination; EIA, enzyme immunoassay; IFA, immunofluorescent antibody; LA, latex agglutination.

Tabel 2. Pelabelan immunoasai dan karakteristiknya¹

Method	Labelling substance	Solid phase	Evaluation
Enzyme immunoassay (ELISA, EIA)	Enzymes such as alkaline phosphatase or peroxidase	Polystyrene beads or microplate wells	Absorbance measurement by spectrophotometer
Radio immunoassay (RIA)	Radioactive elements such as ¹²⁵ I	Tubes or glass beads	Measurement of radioactivity by gamma scintillation counter
Immunofluorescent antibody (IFA)	Fluorescent dyes such as fluorescein isothiocyanate	Slides fixed with cells, tissues or microorganisms	Detection of bright yellow-green staining by fluorescent microscope
Chemiluminescence	Bioluminescent substances such as luminol or luciferin	Magnetic particles, microplate wells	Measurement of light (photon) scattering by luminometer
Line immunoassay (LIA)	Enzymes such as alkaline phosphatase	Antigen embedded strips	Detection of dark-colored lines on the strips visually

spesifik pada partikel lateks atau pada protein A yang memproduksi aglutinasi. Beberapa pendekatan pada ELISA, yaitu dengan menggunakan antigen - antibodi spesifik yang terikat pada fase solid (lateks metal atau plastic

tray). Teknik ini dilengkapi dengan penambahan *second antigen-specific antibody*, pada suatu enzim yang akan bereaksi dengan substrat untuk menghasilkan suatu pewarnaan.

Tabel 3. Perbandingan immuofluoresensi dan imunoperoksidase

Imuofluoresensi	Imunoperoksidase
Mikroskop fluoresensi	Mikroskop cahaya
Evaluasi detail morfologi kurang jelas	Evaluasi detail morfologi jelas
Spesimen tdk permanen (<i>limited storage</i>)	Dapat untuk spesimen permanen
Baik pd spesimen frozen section tapi tdk u/ spesimen formalin	Spesimen frozen section / formalin
Sensitivitas relatif rendah	Sensitivitas : titer Ab 100-1000 kali lebih besar

Fase Pelabelan Immunoassay

Pelabelan pada immunoassai tidak hanya untuk mendeteksi atau kuantifikasi antigen mikro-organisme dan antibodi spesifik dalam berbagai penyakit infeksi, namun juga digunakan untuk mendeteksi substansi biologis cairan tubuh, seperti hormon, enzim, obat, penanda tumor, dan lainnya. Molekul konjugat yang digunakan adalah molekul antibodi yang terlabel dari laboratorium hewan coba dengan regio Fc human immunoglobulin (misalnya enzyme labeled anti-human IgG or IgA), atau antigen-specific labeled antibodies (misalnya fluorescent labeled anti-chlamydia antibody). Pelabelan immunoassai dilakukan setelah pelabelan molekul selektifnya, seperti contoh pada tabel dibawah ini.

Teknik Imuofluoresensi

Tujuan penggunaan teknik ini adalah pengenalan antigen dengan antibodi spesifik dan visualisasinya dengan label, contohnya fluorescein, rhodamin atau enzim yang direksikan dengan substrat kromogenik. Teknik ini disebut juga *Fluorescence Immunoassay* (FIA). Ada dua macam cara, yaitu cara langsung, yang digunakan untuk menemukan antigen, imunoglobulin atau komplemen, yang me-

lekat pada sel jaringan penderita. Sedangkan cara tidak langsung lebih banyak digunakan untuk menemukan antibodi. Pada cara ini serum penderita direaksikan dengan sel atau jaringan, kemudian ditambahkan anti antibodi yang bertanda fluoresen dan diperiksa dibawah mikroskop ultraviolet atau mikroskop fluoresensi.^{2,3}

Fluoresensi dan fosforesensi adalah emisi cahaya yang mengikuti absorpsinya dari sumber energi nontermal, seperti sinar ultraviolet atau sinar tampak (*visible light*). Fluoresen hanya ada sepanjang stimulasi sinar juga ada, sedangkan fosforesen tetap ada meskipun sumber energi atau stimulasi cahaya hilang. Penggunaan yang umum sumber cahaya dalam mikroskop fluoresensi adalah lampu merkuri tekanan tinggi yang mensuplai radiasi ultraviolet dengan intensif. Sumber cahaya lain adalah halogen tungsten. Mikroskop fluoresensi juga menggunakan transmisi cahaya lain yang direfleksikan ke spesimen. Dalam transmisi cahaya mikroskop fluoresensi, sinar pertama melalui filter pembangkit yang secara selektif memblok panjang gelombang tertentu. Terutama efektif untuk merangsang fluoresensi pada spesimen yang diwarnai dengan fluorokrom.

Pelabelan dengan fluorokrom dapat digunakan untuk men-

deteksi antigen dalam berbagai preparat sel dan jaringan. Sel-sel yang diperoleh melalui perusakan mekanis spesimen jaringan atau sel eksfoliatif, eksudat, aspirasi biopsi, darah dan kultur sel jaringan, dapat diwarnai (*staining*) dengan immuofluoresensi. Sel-sel tersebut dipersiapkan sebagai *fresh-frozen* atau potongan jaringan segar beku yang terfiksasi.

Imuofluoresensi langsung, secara mikroskopik relatif kurang sensitif, sehingga sebagian besar terbuat dalam bentuk jaringan segar beku (*fresh-frozen*) atau preparat sel yang tidak difiksir dengan bahan fiksatif crosslink seperti formalin. Kadang-kadang digunakan fiksasi dengan aseton, etanol, atau metanol untuk memperjelas morfologi jaringan atau menginaktifkan patogen. Metode jaringan segar beku untuk immuofluoresensi hampir sama dengan yang digambarkan pada tehnik immunoenzim.

Teknik pewarnaan immuofluoresensi langsung paling banyak digunakan karena lebih cepat dan sederhana. Pewarnaan yang tampak merupakan hasil reaksi dari fluorokrom- antibodi berlabel dengan antigen dalam suatu substrat. Keadaan ini dicapai melalui pemaparan substrat (dalam bentuk sel atau potongan jaringan) ke *fluorochrome-labelled antibody*. Pengenalan antibodi-antigen spesifik akan membuat ikatan *fluorochrome-labelled antibody* ke preparat pada tempat antigen berada. Antibodi yang tidak terikat dicuci dengan buffer netral dan tempat ikatan antibodi diidentifikasi dengan mikroskop fluoresensi.^{2,5}

Jenis fluorokrom yang banyak digunakan adalah fluorescein dan rhodamin. Keduanya dapat berikatan secara kovalen dengan antibodi tanpa merusak aktivitas biologiknya. Fluorescein

mengabsorpsi sinar biru dan memancarkan sinar hijau, sedangkan rhodamin mengabsorpsi sinar hijau dan memancarkan sinar merah.

Teknik imunofluoresensi mempunyai kelebihan yaitu relatif mudah penggunaan reagensinya dengan prosedur kerja yang simpel. Hanya tahap pencucian dibutuhkan setelah pelabelan antibodi dan tidak membutuhkan reagen seperti dalam prosedur imunoenzim. Kekurangan teknik ini adalah membutuhkan mikroskop khusus yang mahal, preparat tidak bersifat permanen (spesimen harus segar) dan visualisasi gambaran sitomorfologi kurang jelas.

Teknik Imunoenzim

Definisi teknik imunoenzim adalah suatu teknik imunologi berdasarkan pada penggunaan : 1). Ikatan enzim dengan antibodi spesifik (*enzyme-antibody conjugated*), 2). ikatan antienzim antibodi yang diikuti dengan enzim homolognya, 3) kompleks enzim-antienzim. Keseluruhan teknik ini digunakan secara histologi untuk visualisasi/pelabelan spesimen jaringan dan untuk mengetahui letak antigen.⁶

Imunoperoksidase adalah suatu teknik imunoenzim dengan menggunakan peroksidase, misalnya *horseradish peroxidase* (HRP) yang direaksikan dengan substrat spesifik (H_2O_2), hasil produknya ditambah substrat kromogen sehingga didapatkan hasil reaksi oksidasi yang berwarna. Prinsip imunoperoksidase ini adalah antigen dalam sel atau jaringan diidentifikasi dengan antibodi spesifik dan kompleks antigen-antibodi dikenal oleh label enzim (peroksidase).

Aktivitas enzimatis menginduksi perubahan warna yang tampak dalam substrat dan

kromogen pada lokasi kompleks antibodi-enzim diantara jaringan, yaitu tempat reaksi antigen-antibodi spesifik. Enzim HRP adalah prototipe dari metode imunoenzim, namun sistem enzim lain seperti *glucose oxidase* dan *alkaline phosphatase* juga sering digunakan. Banyak sumber komersil yang menawarkan enzim-antibodi konjugasi yaitu kromogen sebagai bahan/ pengkapan (kit) yang mengandung reagen yang cocok untuk segala tipe prosedur pewarnaan imunoenzim multilayer.

Teknik imunoenzim meliputi berbagai macam, yaitu :

1. Direct Immunoenzyme Staining

Pada teknik ini digunakan enzim-antibodi konjugasi untuk mengikat enzim pada antigen dalam suatu potongan jaringan. Bagian ini kemudian diinkubasi dengan substrat hidrogen peroksida dan kromogen diaminobenzidine (DAB), untuk menghasilkan hasil reaksi dengan warna coklat yang dapat dilihat dengan mikroskop cahaya.^{3,6}

2. Indirect Immunoenzyme staining

Pada teknik ini membutuhkan inkubasi awal potongan jaringan dengan suatu antibodi primer spesifik untuk mencari antigen. Potongan dicuci dan diinkubasi dengan suatu ikatan enzim-antibodi sekunder yang spesifik untuk imunoglobulin dari spesies sumber antibodi primer. Kelebihan prosedur tidak langsung ini adalah kemampuan menggunakan satu preparat konjugasi enzim-antibodi untuk mengikat berbagai antibodi primer dari spesies yang digunakan.^{3,6}

3. Teknik Enzim-antienzim

Antibodi primer tidak dilabel, sebagai gantinya antibodi antienzim digunakan untuk mem-

bentuk jembatan antara antibodi primer dan enzim. Teknik ini mencegah perlunya konjugasi enzim pada antibodi, suatu prosedur yang dapat mengurangi aviditas pengikatan antigen dan sering sulit dikerjakan. *Peroxidase-antiperoxidase* (PAP) dilaporkan oleh Stemberger (1970), mempunyai sensitivitas 100 sampai 1000 kali lebih besar daripada teknik konjugasi. Kompleks PAP adalah reagen tersier yang terdiri dari kompleks antibodi yang stabil melawan *horseradish peroxidase* (HRP) dan antigen HRP. Antibodi primer berkembang melawan antigen manusia, mengikat antigen jaringan pada bagian Fab-nya. Reagen sekunder (*bridge reagent*) sebaliknya, membentuk suatu jembatan molekuler antara antibodi primer dan imunoglobulin dalam kompleks PAP. Reagen PAP dan antibodi primer harus dari spesies yang sama, sehingga reagen sekunder yang berasal dari spesies lain dapat mempunyai spesifisitas selama komponen reagen primer dan tersier konstan.^{3,6}

4. Teknik Avidin - Biotin

Prosedur ini menunjukkan afinitas tinggi ikatan antara avidin dan biotin. Biotin adalah suatu vitamin dengan berat molekul rendah, yang dapat berikatan kovalen pada antibodi primer untuk menghasilkan konjugat biotinylated yang bila ditambahkan ke potongan jaringan, akan menempatkan pada lokasi antigen di jaringan tersebut. Avidin, suatu glikoprotein putih telur, mempunyai 4 *binding sites* untuk biotin. Oleh karena itu avidin digunakan sebagai jembatan antara komponen-komponen multilayer dalam pewarnaan imunoenzim. Secara kimia, avidin yang berkonjugasi pada HRP akan membuat ikatan kuat dari avidin ke antibodi biotinylated, sehingga

menempatkan peroksidase pada tempat reaksi antigen-antibodi dalam potongan jaringan. Metode ini lebih cepat dan digunakan sebagai prosedur tidak langsung, namun tidak sesensitif metode PAP.^{3,6}

5. Immunogold Silver Staining

Teknik ini banyak digunakan untuk menghilangkan masalah terhadap aktivitas endogenous enzim. Visualisasi perak yang dipertinggi oleh emas melalui epipolarisasi, akan meningkatkan sensitivitasnya. Beberapa kompleks logam-besi dan logam-protein seperti ferritin, emas dan merkuri telah digunakan sebagai penanda dalam reaksi imunohistokimia, karena mereka tampak dalam mikroskop cahaya ketika terdeposit dalam jaringan. Teknik immunogold-silver adalah metode tidak langsung dengan sensitivitas tinggi dimana antibodi sekunder di serap ke partikel koloid emas.⁷

Proses Fiksasi dan pewarnaan

Fiksasi adalah kunci yang menentukan kualitas immunostaining yang baik. Ada bukti bahwa metode penatalaksanaan jaringan seperti parafin embedding akan mengurangi jumlah antigen yang terdeteksi dengan imunohistokimia. Beberapa antigen permukaan sel dapat dideteksi dalam jumlah yang kecil jaringan segar beku. Antigen permukaan limfosit biasanya labil dan dibutuhkan patogen cryostat. Availabilitas jaringan yang cocok untuk demonstrasi antigen adalah dijamin hanya jika bagian dari tiap spesimen biopsi dalam keadaan segar beku. Proses fiksasi mempunyai beberapa teknik berbeda, diantaranya 1) teknik *freezing*, 2) fiksasi dengan formaldehid, dan 3) fiksasi dengan microwave.

Untuk prosedur pewarnaan, pada beberapa tahap prosedur imunoperoxidase dapat menimbulkan kesulitan atau kegagalan. Sebagai contoh, kegagalan untuk memblok aktivitas peroksidase endogen dan *peroxidase-like enzyme* dapat menyebabkan hasil yang false positif, terutama bila menggunakan jaringan segar beku. Jaringan konektif dan kolagen juga sering mengalami kegagalan dalam pewarnaan imunoperoxidase. Pra inkubasi potongan jaringan dengan konsentrasi tinggi larutan protein seperti serum atau bovine albumin dapat mengurangi *background* pewarnaan.

Lama inkubasi pada suhu ruang untuk sebagian besar antibodi primer antara 20-30 menit. Bila temperatur melebihi 37°C dapat mengurangi waktu inkubasi dan juga didapatkan hasil false negatif atau false positif. Inkubasi *overnight* antibodi primer pada 4°C memerlukan konsentrasi antibodi yang rendah, untuk meminimalkan *background staining*. Proses pengeringan (*drying*) antara waktu inkubasi dan pencucian dapat menghasilkan false negatif. Oleh karena itu hendaknya semua prosedur inkubasi dilakukan dalam *humidified chamber*.

Pada umumnya antigenitas yang rendah akan menghasilkan intensitas pewarnaan yang rendah, maka hasil foto immunostain juga akan mengalami masalah. Penambahan ion logam pada kromogen untuk mendapatkan kontras pada hasil cetak pada kenyataannya tidak selalu berhasil baik. Diaminobenzidine adalah kromogen yang paling banyak digunakan untuk meningkatkan kontras pada produk *brown reaction*.

Hasil Sajian Immunostain

Melalui identifikasi dan lokalisasi antigen spesifik dalam jaringan, immunohistokimia merupakan informasi yang bersifat kualitatif. Kuantitasi immunostain dibentuk melalui *subjective grading*. Karena jumlah sel atau struktur immunolabel juga penting, immunohistokimia dapat digunakan untuk mengevaluasi kepadatan volume dari sel-sel yang mengekspresikan antigen spesifik, namun dalam bentuk rata-rata. Analisa semi-kuantitatif immunolabeling jaringan dapat ditunjukkan oleh hasil atau jumlah intensitas pewarnaan dan persentase sel-sel positif atau struktur sel. Analisa image digunakan untuk mengukur konsentrasi antigen dalam jaringan, antigen reseptor hormon, antigen inti dan ukuran inti. Beberapa metode immunodensitometri dapat digunakan untuk pengukuran antigen selular.

Setiap prosedur immunoperoxidase selalu dibuat 2 sajian kontrol. Kontrol positif dari jaringan normal dengan menggunakan sejumlah besar antigen, atau lebih baik lagi pada jaringan neoplastik dengan sejumlah kecil antigen. Sajian kontrol ini dapat digunakan sebagai standar jaringan yang diuji. Sedangkan kontrol negatif dibuat tanpa antigen. Sajian ini dibuat dari penempatan antibodi primer dengan serum non-imun atau antibodi yang tidak relevan spesifitasnya.

Kesimpulan

Teknik immunohistokimia adalah suatu metode yang bertujuan untuk mengidentifikasi sel-sel spesifik berdasarkan komponen antigenik atau produk selulernya dengan reaksi kom-

pleks antigen-antibodi. Dengan kata lain, imunohistokimia digunakan sebagai dasar pene-gakan diagnosis dan identifikasi tipe sel berdasarkan detail sitomorfologi, terutama pada kasus-kasus tumor dan keganasan. Pada teknik ini dapat digolongkan dengan teknik imunofluoresensi dan imuno-enzim. Prinsip teknik imunofluoresensi adalah pengenalan antigen dengan antibodi spesifik dan visualisasinya dengan label, contohnya fluorescein, rhodamin atau enzim yang direaksikan dengan substrat kromogenik. Sedangkan teknik imunoenzim adalah suatu teknik imunologi berdasarkan pada penggunaan :

- 1). Ikatan enzim dengan antibodi spesifik (*enzyme-antibody conjugated*),
- 2). Kompleks enzim-antienzim,
- 3) Kompleks antibody-antigen dengan pelabelan enzim

(peroksidase), yang akan meng-hasilkan perubahan warna dengan substrat dan kromogen spesifik. Keseluruhan teknik ini digunakan secara histologi untuk visualisasi/ pelabelan spesimen jaringan dan untuk mengetahui letak antigen.

Daftar Pustaka

1. Washington JA. Principles of Diagnosis. General concepts. <http://www.md.huji.ac.il/microiology/book/ch010.htm>
2. Baratawidjaya KG. *Imunologi Dasar*. Ed. 4: Pemeriksaan Sistem Imun. 2000; 279-80.
3. Leong ASY. *Applied Immunohistochemistry for the Surgical Pathologist*. Edward Arnold, London, 1993.

4. Iowa State University. College of Veterinary Medicine. Veterinary Diagnostic Laboratory: Virology and Molecular Diagnostics
5. Roitt I, Brostoff J, Male D. Immunology 5th ed : *Immunological Technique*. 1996: 386-8.
6. Cornain S. Immunohistochemistry: *Immunoenzyme technique*. Laboratory of Anatomic Pathology Medical School, University Of Indonesia, Jakarta.
7. Roth KA, Brenner JW, Selznick LA, Gokden M, Lorenz G. Enzyme-based Antigen Localization and Quantitation in Cell and Tissue Samples (Midwestern Assay). *J. Histochemistry & Cytochemistry*. 1997; 45: 1629-42.

