

## **BAB II TINJAUAN PUSTAKA**

### **A. Tinjauan Teori**

#### **1. Efusi Pleura**

Efusi pleura adalah penumpukan cairan dalam rongga pleura, selain cairan dapat juga terjadi penumpukan pus atau darah. Efusi pleura bukan suatu penyakit melainkan tanda adanya penyakit. Pada kondisi normal cairan masuk ke dalam rongga pleura dari kapiler-kapiler di pleura parietal dan diserap melalui pembuluh limfe yang berada di pleura viseral. Cairan efusi pleura juga bisa masuk ke rongga pleura melalui rongga intersisial paru melalui pleura viseral atau dari rongga peritonium melalui celah sempit yang ada di diafragma. Rongga pleura dalam keadaan normal berisi sekitar 10-20 mL cairan yang berfungsi sebagai pelumas agar paru- paru dapat bergerak dengan lancar saat bernapas. Cairan yang melebihi normal akan menimbulkan gangguan jika tidak diserap oleh pembuluh darah dan pembuluh limfe (Khairani, Syahrudin and Partakusuma, 2012).

Pleura adalah membran serosa tipis yang terdiri dari 2 lapisan yaitu pleura viseralis yang membungkus paru-paru dan pleura parietalis yang melapisi rongga dada. Tebal rongga pleura 10-20 mikron, berisi cairan 25-50 cc yang berfungsi sebagai pelicin agar memudahkan kedua permukaan pleura viseralis dan pleura parietalis bergerak selama pernafasan dan untuk mencegah pemisahan thorak dan paru yang akan saling melekat jika ada air (Jaya, 2016). Cairannya efusi pleura dibagi menjadi dua yaitu efusi pleura transudat dan efusi pleura eksudat. Efusi pleura transudat terjadi apabila faktor sistemik yang mempengaruhi pembentukan dan penyerapan cairan, sedangkan efusi pleura eksudat terjadi apabila faktor lokal yang mempengaruhi pembentukan dan penyerapan cairan (Fahmi, 2016).

Kasus dengan jumlah cairan yang sedikit, USG toraks membantu untuk memastikan cairan dan sekaligus sebagai penanda lokasi, jika tidak terlihat pada foto toraks dapat dideteksi dengan CT-scan toraks. Langkah pertama dalam analisa cairan pleura adalah pemeriksaan laboratorium klinik untuk membedakan transudat atau eksudat yang kemudian dapat dilanjutkan pada pemeriksaan kultur

mikrobiologi. Tetapi pada stadium lanjut yang perlu dilakukan adalah biopsi dan aspirasi pleura untuk pemeriksaan patologi anatomi. Diagnosis efusi pleura ganas adalah dengan penemuan sel ganas pada cairan pleura atau jaringan pleura (Khairani, Syahrudin and Partakusuma, 2012). Efusi cairan pleura ganas dapat dilakukan dengan pemeriksaan patologi anatomi dengan metode pemeriksaan sitologi dan pemeriksaan histopatologi blok sel. Pemeriksaan sitologi adalah pemeriksaan yang dilakukan untuk mencari dan menilai setiap struktur sel yang digunakan untuk deteksi kanker serta kelainan genetik dan hormonal, dilanjutkan dengan pemeriksaan histologi blok sel pada teknik pemeriksaan ini menggunakan bahan sisa dari pemeriksaan sitologi (Boon & Drijver, 2006).

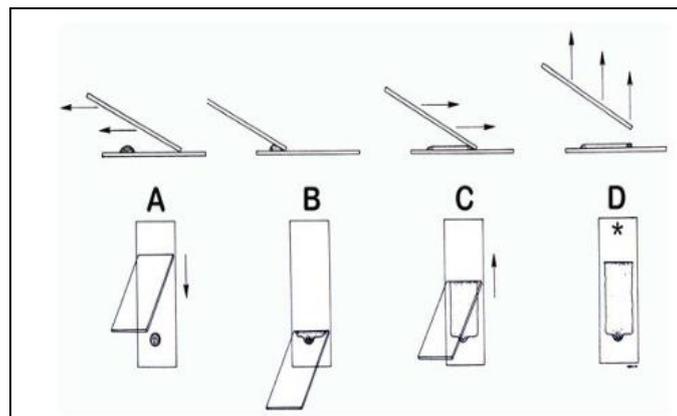
## **2. Preparat Apusan Sitologi**

Pemeriksaan sitologi merupakan pemeriksaan akurat yang mampu memeriksa sel kanker sebelum tindakan bedah sehingga bermanfaat untuk deteksi pertumbuhan kanker, bahkan sebelum timbul manifestasi klinik penyakit kanker dengan komplikasi trauma yang kecil. Kriteria morfologi sel menggunakan sitologi cairan pleura tidak selalu memberikan akurasi diagnostik yang tepat karena gambaran sitomorfologik antara sel mesotel atipik reaktif dan sel epitel ganas pada mesotelioma, metastase adenocarcinoma dan limfoma, sulit dibedakan karena memiliki gambaran sitologik yang hampir sama. Sitologi cairan pleura kadang-kadang sulit menggambarkan penyebab dari efusi pleura (Antony, et al, 2011; Nam, et al, 2014). Pemeriksaan sitologi sangat penting dalam menentukan terapi yang akan diberikan, dengan sensitifitas 91-94%, spesifisitas 93% dan akurasi 87% berperan penting untuk pembantu diagnosa (Novianto, 2004).

Tahap awal dilakukan proses penyiapan sediaan apusan yaitu sentrifuge cairan untuk memisahkan antara supernatant dan endapan, kemudian dilakukan fiksasi. Adapun langkah-langkah yang dilakukan untuk membuat sediaan sitologik dengan teknik oles adalah sebagai berikut (BPSDM, 2017) :

1. Perhatikan tampilan dari spesimen cair dan deskripsikan dalam formulir permintaan.
2. Tuangkan spesimen ke dalam 15-50 ml (tergantung dari perkiraan jumlah sel berdasarkan kekeruhan). Tabung sentrifus diputar selama sepuluh (10) menit dengan kecepatan berkisar 1.800-2.500 rpm.

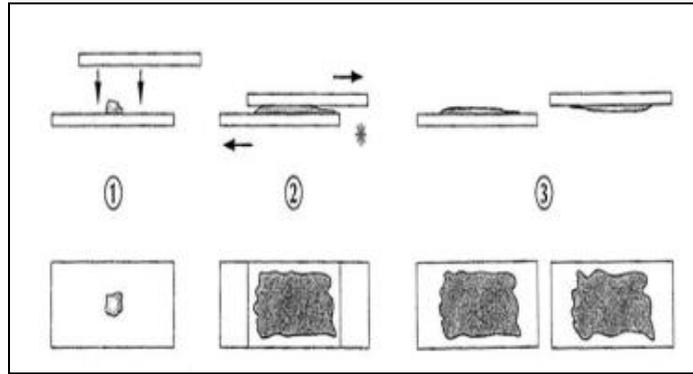
3. Saat melakukan sentrifugasi, siapkan dua slide yang telah diberi label.
4. Tuang cairan supernatan (posisi yang di atas) kembali ke wadah spesimen asal. Ketika spesimen memiliki endapan yang tebal sisakan supernatan kurang lebih  $\frac{1}{3}$  bagian dari sedimen atau ketika sedimen sangat tipis bahkan hampir tidak terlihat maka supernatan diusahakan terbuang hingga tidak ada tetesan kurang lebih 2-3 detik
5. Homogenkan kembali hasil no 4 dengan mengetukkan tabung atau dapat menggunakan vortex hingga terlihat lagi larutan yang bercampur.
6. Ambil larutan pada tabung no 5 dan teteskan satu atau dua tetes pada sisi objek gelas (kurang lebih 2 cm dari tepi luar).
7. Pada poin 7 dapat dipilih salah satu (a atau b)
  - a. Lakukan metode "*pull-apart*" (tarik dan dorong), hingga sedimen menyebar merata pada permukaan.



Sumber : (BPSDM, 2017)

Gambar. 2.1 Teknik pembuatan preparat apusan metoda "*pull-apart*"

- b. Tekan tetesan spesimen dengan kaca objek dan putar kedua objek hingga menjadi sejajar dan tarik perlahan dengan arah yang berlawanan atau yang disebut dengan "*sliding smear*"



Sumber : (BPSDM, 2017)

Gambar. 2.2 Teknik pembuatan preparat apusan metoda “sliding smear”

8. Simpan sisa sedimen di tabung sentrifugal hingga diagnosisnya dilaporkan.
9. Lanjutkan dengan tahap fiksasi (kering atau basah) tergantung dari formulir permintaan.

### 3. Preparat Blok sel

Preparat blok sel merupakan pemeriksaan yang menggunakan teknik prosesi histologi dan salah satu keuntungannya dapat diproses dengan pewarnaan rutin seperti hematoxilin eosin (Digambiro, 2015). Langkah-langkah penyiapan preparat blok sel meliputi :

1. Fiksasi Spesimen
  - a. Cairan pleura dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian disentrifuge selama 10 menit.
  - b. Cairan supernatan yang terbentuk dibuang, endapan yang tersisa di fiksasi menggunakan alkohol 96%.
  - c. Selanjutnya cairan fiksasi dibuang dan endapan disaring sampai airnya habis kemudian dimasukkan kedalam kaset pengolahan, selanjutnya di lakukan proses dehidrasi.

#### 2. Prosesing

Pemrosesan jaringan dapat dilakukan secara manual ataupun menggunakan mesin. Pemrosesan jaringan adalah serangkaian prosedur untuk mengganti unsur air dan fiksatif dalam jaringan dengan parafin agar diperoleh penyatuan yang sempurna antara jaringan dan parafin dalam satu blok. Jika penyatuan tidak sempurna akan diperoleh blok parafin yang tidak

homogen dan akan mudah pecah dalam pemotongan atau proses selanjutnya. Penggantian dilakukan dengan cara menarik air dari jaringan dengan dehidran alkohol bertahap, sehingga air digantikan oleh alkohol. Kemudian dilanjutkan oleh xylol yaitu media perantara yang dapat larut dalam air dan paraffin, sehingga alkohol digantikan oleh xylol. Setelah itu direndam (impregnasi/infiltrasi) dalam parafin cair, sehingga seluruh ruang jaringan yang semula berisi xylol diganti oleh parafin. Sebaiknya digunakan parafin yang titik leburnya 58<sup>0</sup>C dan temperatur parafinnya tidak melebihi 60<sup>0</sup>C (IAPI, 2015).

Tabel 2.1. Metode Prosesing Jaringan

| No | Tahap Prosesing | Reagen              | Waktu (jam) |
|----|-----------------|---------------------|-------------|
| 1  | Dehidrasi       | Alkohol 70%         | ½           |
|    |                 | Alkohol 95%         | ½           |
|    |                 | Alkohol 100%        | 1           |
|    |                 | Alkohol 100%        | 1           |
|    |                 | Alkohol 100%        | 1           |
|    |                 | Alkohol 100% /xylol | ½           |
| 2  | Clearing        | Xylol               | 1           |
|    |                 | Xylol               | 2           |
| 3  | Impregnasi      | Parafin             | 2 ½         |
|    |                 | Parafin             | 4           |

Sumber: IAPI (2015)

### 3. Pembuatan blok parafin (*Embedding*)

Dalam pembuatan blok parafin, sangat penting untuk diperhatikan orientasi jaringan dengan benar, sehingga akan diperoleh potongan yang representatif. Melakukan *embedding* jaringan kerokan juga harus diyakini bahwa seluruh keping jaringan berada di permukaan sehingga akan muncul secara utuh dalam pemotongan dengan mikrotom. Sebelum dilakukan pemotongan blok parafin didinginkan pada lempeng pendingin/es batu/lemari es (IAPI, 2015).

### 4. Proses pemotongan

Pemotongan jaringan hanya dapat dilakukan dengan mikrotom. Untuk hasil yang baik pemotongan jaringan seyogyanya blok jaringan di kondisikan simetris antara sisi kanan kirinya sehingga pita potongan jaringan yang dihasilkan dapat tersusun rapi berderet. Pemotongan blok jaringan yang benar akan menghasilkan pita potongan jaringan yang

panjang dan terpotong seri dari bagian jaringan terluar hingga paling dalam. Pengangkatan pita potongan jaringan juga menjaga agar pita jaringan tidak rusak akibat interfensi benda keras sebagai pengambil pita (Sumanto, 2014).

#### 5. Proses pengembangan pita parafin

Proses pengembangan pita paraffin spesimen dengan menggunakan *waterbath* berisi air hangat dengan suhu tidak lebih dari 60°C (titik didih parafin-lihat petunjuk produsen) dan ditempelkan pada slide. Slide yang telah tertempel pita parafin perlu ditiriskan dengan posisi miring secukupnya untuk mencegah gelembung udara yang akan membuat lubang (BPSDM, 2017).

#### 6. Proses pemanasan dengan menggunakan *hotplate*

Setelah pita menempel pada kaca objek, hal yang selanjutnya dilakukan adalah mengeringkan sediaan untuk menghilangkan sisa air yang masih terperangkap di bawah pita jaringan. Proses pengeringan bisa dilakukan didalam oven atau di atas *hotplate*. Suhu pemanasan harus dijaga tidak terlalu panas, cukup pada titik leleh paraffin. Suhu yang terlalu panas dapat menyebabkan adanya perubahan struktur pada jaringan. Pengeringan untuk berbagai jaringan juga dianjurkan dilakukan pada suhu 37°C selama satu malam (BPSDM, 2017)

#### 7. Proses pewarnaan (*staining*)

Pewarnaan jaringan dapat dilakukan dengan berbagai macam teknik pewarnaan sesuai dengan tujuan dilakukannya pemeriksaan dan jenis jaringan yang akan diwarnai. Pewarnaan rutin sediaan jaringan histopatologi menggunakan pewarna Hematoksilin Eosin (HE). Zat warna Hematoksilin berperan dalam mewarnai inti sel dengan tampilan warna ungu atau biru tua sedangkan zat warna eosin akan memberikan warna pada sitoplasma sel dengan warna merah jambu (Sumanto, 2014). Khusus untuk jaringan hasil biopsy gaster digunakan pewarnaan Giemsa (IAPI, 2015).

#### 8. Proses penutupan sediaan (*mounting*)

Proses *mounting* memerlukan sebuah kaca penutup yang biasanya dibuat dari bahan fiberglass tipis dan merekat. Proses *mounting* harus dilakukan dalam kondisi sediaan basah larutan xylol agar perekat benar-

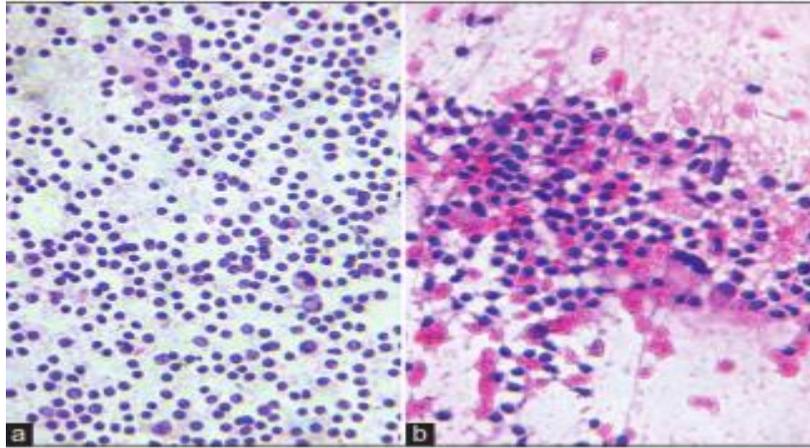
benar menyatu dengan jaringan. Pemberian perekat dalam kondisi sediaan kering akan menyebabkan timbulnya bintik-bintik kehitaman yang dapat mengganggu tampilan mikroskopis sehingga sediaan terkesan banyak kotoran (BPSDM, 2017)

#### **4. Pewarnaan Sediaan Sitologi**

Pewarnaan dapat memperlihatkan struktur dan morfologi jaringan, keberadaan dan prevalensi sel-sel jaringan tertentu. Pewarnaan preparat apusan sitologi yang digunakan adalah Papanicolaou dan atau Giemsa (IAPI, 2015), sedangkan Welfare tahun 2005 menggunakan pewarnaan Papanicolaou, Hematoxyllin Eosin dan Giemsa. Pewarnaan Papanicolaou (PAP) pertama kali di perkenalkan oleh Dr. George N. Papanicolaou pada tahun 1943 dan secara luas digunakan sebagai skrining meskipun membutuhkan waktu yang lama dan jumlah alkohol yang banyak (Raju, 2016). Prinsip pewarnaan papanicolaou adalah melakukan pewarnaan, hidrasi, dan dehidrasi sel. Pengambilan sediaan yang baik, fiksasi dan pewarnaan sediaan yang baik serta pengamatan mikroskopik yang cermat, merupakan langkah yang harus ditempuh dalam menegakkan diagnosis (Astuti, 2017)

Ultra Fast Papanicolaou (UFP) diperkenalkan sebagai hibrida dari pewarnaan Romanowsky dan Papanicolaou (PAP) untuk meningkatkan kualitas dan mengurangi waktu. Penelitian Thakur M tahun 2017 menunjukkan kualitas apusan pewarnaan UFP yang dimodifikasi lebih baik dibandingkan dengan PAP rutin, Hematoxyllin dan Eosin, serta Giemsa.

Penelitian Samari tahun 2018 menunjukkan preparat blok sel cairan pleura yang diwarnai dengan PAP menunjukkan hasil yang kurang baik (56,25%) dan tidak baik (43,75%), sedangkan preparat apusan sitologi menggunakan PAP menunjukkan hasil yang baik 100%. Perlakuan apusan pada sampel cairan banyak dilakukan dalam pemeriksaan cairan pleura. Pemeriksaan blok sel akan dilakukan jika pada hasil pemeriksaan sitologi yang mengindikasikan keganasan, masih di perlu di konfirmasikan tetapi dengan pemeriksaan imunohistokimia



Sumber : (Thakur M, 2017)

Gambar 2.3. Hasil pewarnaan Papanicolaou

Keterangan:

- a. Latar belakang bersih/jelas, penampilan morfologi sel baik, pewarnaan inti sel jelas, Pewarnaan keseluruhan baik
- b. Latar belakang hemoraghic, penampilan morfologi sel, pewarnaan inti sel jelas, pewarnaan keseluruhan cukup baik

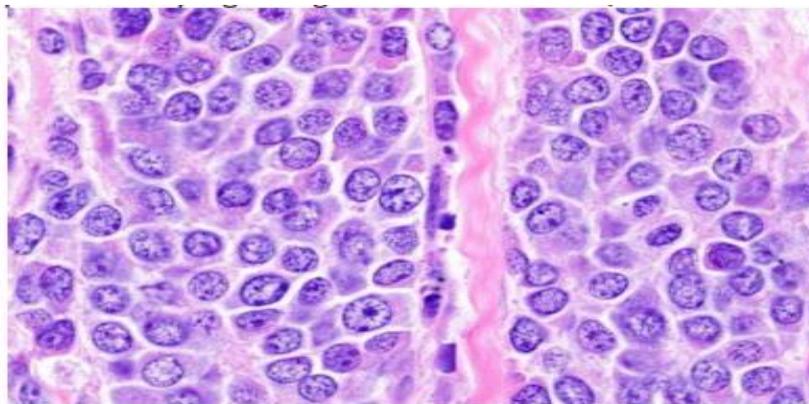
## 5. Pewarnaan Blok Sel

Pewarna yang sering digunakan secara rutin adalah pewarna yang dapat memulas inti dan sitoplasma serta jaringan penyambung yaitu pewarna Hematoksilin Eosin (Jusuf, 2009). Hematoksilin akan mengikat inti sel secara lemah, kecuali bila ditambahkan senyawa lainnya seperti aluminium, besi, krom, dan tembaga. Jenis hematoksilin yang sering dipakai adalah mayer, delafid, Erlich, Bullard dan Bohmard, sedangkan counter staining yang dipakai adalah eosin, safarnin, dan phloxine. Hematoksilin dan Eosin adalah metode pewarna yang banyak digunakan untuk pewarna jaringan sehingga diperlukan dalam diagnosa medis dan penelitian (BPSDM, 2017).

Hematoksilin bekerja sebagai pewarna basa, artinya zat ini mewarnai inti ini mewarnai unsur basofilik jaringan. Hematoksilin memulas inti dan struktur asam lainnya dari sel (seperti bagian sitoplasma yang kaya dengan RNA dan matriks tulang rawan) menjadi biru. Eosin bersifat asam sehingga akan memulas komponen asidofilik jaringan seperti mitokondria, granula sekretoris dan kolagen. Eosin mewarnai sitoplasma dan kolagen menjadi warna merah muda. Oleh karena itu prinsip dari pewarnaan adalah terjadinya afinitas antara jaringan dengan bahan

pewarna, baik secara langsung, yaitu bahan cat dengan jaringan dapat berikatan secara langsung atau secara tidak langsung, yaitu bahan cat dengan jaringan tidak dapat berikatan secara langsung, kecuali diberi bahan perantara yang biasa disebut sebagai mordan (Setiawan, 2016).

Hasil pewarnaan dengan Hematoxillin Eosin yaitu nukleus berwarna biru/hitam, sitoplasma berwarna nuansa pink, serat otot berwarna pink lebih gelap, sel darah merah berwarna oranye/merah, fibrin berwarna pink gelap. Struktur dan substansi selain nukleus mungkin akan terwarnai oleh Hematoxylin, seperti hifa jamur, dan endapan kalsium yang sering kali berwarna hitam/biru (BPSDM, 2017).



Sumber : (BPSDM, 2017)

Gambar 2.4 Hasil pewarnaan sediaan jaringan dengan Hematoxillin Eosin

## 6. Keuntungan Preparat Apusan dan Blok Sel

Menurut Samari (2018), terdapat beberapa keuntungan antara sediaan blok sel dan apusan sitologi, sebagaimana tabel berikut:

Tabel 2.2. Keuntungan preparat apusan dan blok sel

| <b>Keuntungan apusan sitologi</b>   | <b>Keuntungan blok sel</b>   |
|---|--|
| Mudah, cepat dan sederhana  | Sediaan sitologi lebih mudah di nilai oleh ahli patologi                                 |
| Dapat dilakukan pada beberapa pasien dalam waktu singkat                        | Ketersediaan blok sel memungkinkan untuk dilakukan pembedahan berulang yang lebih banyak |
| Dapat dilakukan sebagai tindakan massal   | Memanfaatkan sisa material yang menggumpal seperti fragmen jaringan                      |
| Efektif untuk diagnosa tumor saluran pencernaan, paru, sauran kemih dan lambung | Penyimpanan blok sel lebih mudah   |

Lanjutan tabel 2.2

|  |  |
|--|--|
| Dapat memberikan hasil positif meskipun pada pemeriksaan langsung dan palpasi tidak menunjukkan kelaian. Karsinoma dapat terdiagnosa meskipun masih dalam staium in situ | Deteksi mikroorganisme seoerti jamur dan bakteri |
|--|--|

## 7. Penilaian Kualitas Pewarnaan

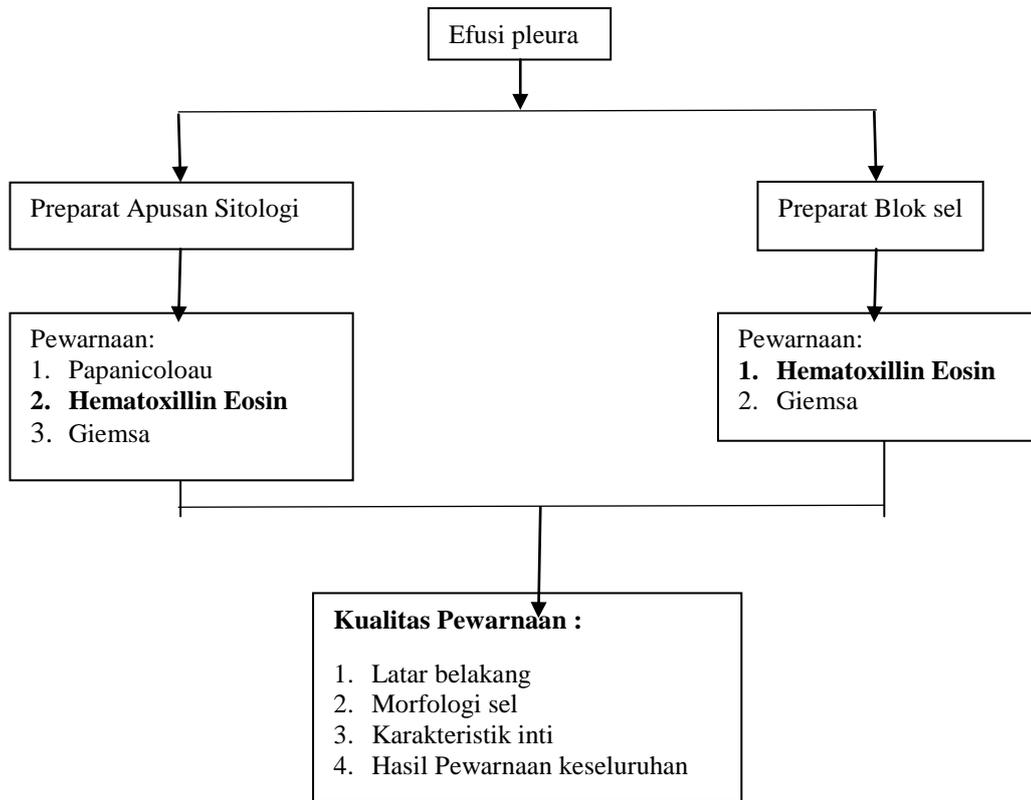
Menurut Thakur tahun 2017, kualitas pewarnaan dinilai dari 4 parameter, dan masing-masing diberikan skor. Skor maksimum yang mungkin diperoleh untuk satu kasus dengan mempertimbangkan keempat faktor adalah 8. Sediaan dinilia baik apabila rerata skor  $> 4$ . Adapun parameter penilaian dapat di lihat pada tabel 2.3 berikut:

Tabel 2.3 Penilaian Kualitas Sediaan

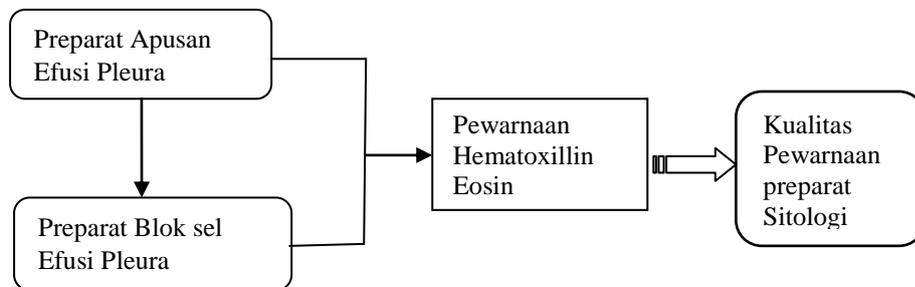
| No | Parameter penilaian                         | Skor |
|----|---|------|
| 1. | Background/latar belakang Hemorrhagic       | 1    |
|    | Bersih                                      | 2    |
| 2  | Penampilan Morfologi sel Tidak baik         | 1    |
|    | Baik  | 2    |
| 3  | Karakteristik inti sel inti sel tidak jelas | 1    |
|    | inti sel jelas                              | 2    |
| 4  | Hasil Akhir Pewarnaan Tidak baik            | 1    |
|    | Baik  | 2    |

Sumber : (Thakur, 2017) dengan modifikasi

## B. Kerangka Teori



## C. Kerangka Konsep



## D. Hipotesis

H0: Tidak ada perbedaan kualitas sediaan apusan dan blok sel sitologi pleura dengan pewarnaan Hematoxillin dan Eosin.

H1: Ada perbedaan kualitas sediaan apusan dan blok sel sitologi pleura dengan pewarnaan Hematoxillin dan Eosin