

## **BAB II**

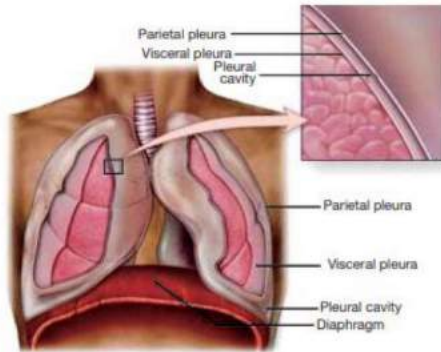
### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tinjauan Teori**

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

Pleura adalah membran serosa yang terlipat dipermukaan paru sehingga membentuk struktur membranosa dua lapis. Pleura dibagi menjadi pleura parietalis (melekat pada dinding dada) dan pleura viseralis (melekat pada paru dan struktur lain) dimana akan terbentuk ruang diantara keduanya yang disebut kavitas pleura yang berisi sedikit cairan pleura (Charalampidis dkk, 2014). Pada keadaan normal rongga pleura berisi sekitar 10 – 20 ml cairan yang berfungsi sebagai pelicin agar paru dapat bergerak dengan leluasa saat bernapas. Akumulasi cairan melebihi volume normal dan menimbulkan gangguan jika cairan yang diproduksi oleh pleura parietalis dan viseralis tidak mampu diserap oleh pembuluh limfe dan pembuluh darah mikropleura viseral atau sebaliknya yaitu apabila produksi cairan melebihi kemampuan penyerapan. Akumulasi cairan pleura melebihi normal dapat disebabkan oleh beberapa kelainan, antara lain infeksi dan kasus keganasan di paru atau organ luar paru (Syahrudin dkk, 2009).

Efusi pleura adalah suatu keadaan dimana terjadi penumpukan cairan melebihi normal didalam rongga pleura diantara pleura parietalis dan viseralis (Halim, 2014). Efusi pleura abnormal sering kali mencerminkan penyakit di tempat lain yang menyebar ke rongga pleura dengan proses infeksi, inflamasi, metastasis atau edema. Cairan masuk atau keluar dari rongga pleura terjadi karena perbedaan tekanan yang timbul akibat gerakan pernapasan dan aliran darah. Namun, banyaknya proses seluler yang aktif menyebabkan cairan masuk ke rongga pleura secara berlebihan. Penyebabnya dapat secara genetik, lingkungan, dan infeksi yang menyebar ke pleura (Puspita dkk, 2015).



Sumber: (Charalampidis dkk, 2014)

Gambar 2.1 Anatomi rongga pleura.

Efusi pleura terjadi dikarenakan penumpukan cairan tidak normal di rongga pleura yang diakibatkan oleh transudasi atau eksudasi yang berlebihan dari permukaan pleura (Khairani dkk, 2012). Efusi pleura dibedakan menjadi transudat dan eksudat berdasarkan penyebabnya. Efusi pleura transudat terjadi saat faktor sistemik berperan dalam perubahan pembentukan atau eliminasi cairan pleura. Efusi pleura eksudat terjadi saat faktor permukaan pleura atau pembuluh kapiler di pleura mengalami perubahan. (Pratomo dkk, 2017)

Menurut Puspita dkk, (2015) Cairan pleura memiliki konsentrasi protein yang lebih rendah dari paru-paru dan kelenjar getah bening perifer. Cairan pleura dapat menumpuk karena hal-hal berikut:

- a. Peningkatan tekanan hidrostatik disirkulasi mikrovaskular. Studi mengatakan bahwa peningkatan tekanan pada pembuluh kapiler adalah pemicu penting dalam terjadinya efusi pleura pada penderita gagal jantung.
- b. Penurunan tekanan onkotik dalam sirkulasi mikrovaskular karena hypoalbuminemia yang meningkatkan penumpukan cairan dalam rongga pleura.

- c. Peningkatan tekanan negatif pada rongga pleura juga membuat meningkatnya akumulasi cairan pada rongga pleura. Hal ini dapat terjadi pada atelektasis
- d. Peningkatan permeabilitas kapiler akibat mediator inflamasi. Hal tersebut mengakibatkan lebih banyak protein dan cairan yang masuk dalam rongga pleura, contohnya pada pneumonia.
- e. Gangguan drainase limfatik dari permukaan pleura karena penyumbatan oleh tumor dan fibrosis.

## 2. Preparat Apusan Sitologi

Karakteristik klinis pasien efusi pleura sangat penting diketahui untuk menegakkan etiologi dari efusi pleura, menegakkan diagnosis, progresifitas untuk pencegahan penyakit, tatalaksana yang efektif dan prognosis suatu penyakit. Efusi pleura memiliki etiologi yang beragam, tergantung dari penyakit yang mendasarinya. Etiologi efusi pleura yang paling sering ditemui adalah tuberkulosis dan keganasan. Pemeriksaan sitologi merupakan salah satu metode diagnosis yang baik dalam mendeteksi pertumbuhan kanker dan pemeriksaan sel kanker. Karakteristik klinis dari efusi pleura merupakan instrumen yang penting untuk mengetahui penyebab penyakitnya. (Yosefany dkk, 2019)

Prinsip kerja apusan sitologi adalah setetes cairan pleura dipulas diatas kaca objek lalu dicat dan diperiksa menggunakan mikroskop. Sediaan apusan harus dibuat dan dipulas dengan baik untuk mendapatkan hasil pemeriksaan yang baik (Budiawanty, 2017). Pengolahan preparat apus diawali dengan proses centrifuge, yaitu bahan yang diambil untuk preparat apus yang dipakai adalah cairan pleura oleh karena cairan pleura itu encer serta mengandung sedikit sel, maka dilakukan centrifuge dalam waktu tertentu sehingga tampak endapan dengan cairan yang jernih. Kemudian cairan pleura tersebut secara hati-hati dibuang. Endapannya dipisahkan ke objek gelas dengan pipet atau alat yang serupa kemudian dilakukan apusan dengan menggunakan salah satu objek gelas yang lain kemudian dilakukan fiksasi. Sebelum dilakukan fiksasi sediaan preparat tidak boleh terlalu kering karena akan merusak sel dan hilangnya afinitas pada pewarnaan.

Fiksasi digunakan untuk memeriksa struktur sel dengan jelas (Astuti, 2017).

Menurut Kristian (2017), pada proses pembuatan sediaan sitologik dapat dilakukan dengan menggunakan metode smear (oles) dan metode cytospin.

#### 1. Metode *Smear* (oles)

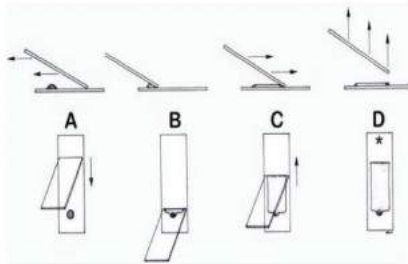
Metode *smear* atau yang sering disebut dengan metode oles merupakan suatu metode pembuatan sediaan sitologi dengan cara mengoles atau membuat lapisan tipis diatas objek gelas. Pada metode *smear* sampel yang digunakan berupa cairan yang memiliki viskositas rendah. Adapun prosedur kerja yang dapat dilakukan untuk membuat sediaan sitologik dengan metode *smear* adalah sebagai berikut :

- a. Perhatikan tampilan dari spesimen cair dan deskripsikan dalam formulir permintaan
- b. Tuangkan spesimen ke dalam tabung centrifuge sebanyak 15-50 ml, kemudian diputar tabung selama 10 menit dengan kecepatan 1.800-2.500 rpm.
- c. Setelah selesai di centrifuge, tuangkan cairan supernatant (posisi yang di atas) kembali ke wadah spesimen asal. Ketika spesimen memiliki endapan yang tebal sisakan supernatant kurang lebih 1/3 bagian dari sedimen atau ketika endapan sangat tipis bahkan hampir tidak terlihat maka supernatant diusahakan terbuang hingga tidak ada tetesan kurang lebih 2-3 tetes
- d. Homogenkan kembali spesimen yang sudah di pisahkan endapan dengan supernatannya dengan cara mengetukkan tabung atau dapat menggunakan vortex hingga terlihat lagi larutan yang bercampur.
- e. Ambil specimen yang sudah dihomogenkan lalu teteskan satu atau dua tetes pada sisi kaca objek (kurang lebih 2 cm dari tepi luar), untuk membuat sediaan.
- f. Pembuatan sediaan sitologik metode smear dapat dilakukan dengan teknik *pull-apart* dan *sliding smear*

### 1) Teknik *pull-apart*

Teknik *pull-apart* merupakan teknik pembuatan sediaan dengan cara tarik dan dorong, hingga specimen menyebar merata pada permukaan. Adapun langkah-langkah yang dapat dilakukan.

- Tetaskan 1-2 tetes specimen pada tepi obyek glass.
- Kemudian ambil obyek glass bersih lalu letakan diatas obyek gelas disisi yang bersebrangan dengan specimen, kemudian miringkan obyek glass sampai kemiringan 45°.
- Tarik obyek glass sampai menyentuh specimen, kemudian dorong sampai specimen menyebar merata diatas obyek glass.



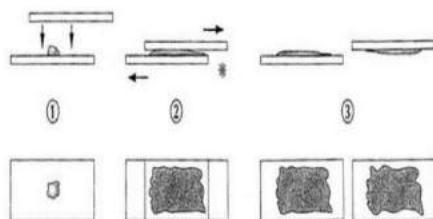
Sumber: (Khristian, 2017)

Gambar 2.2 Teknik pembuatan preparat apusan metode "*pull-apart*"

### 2) Teknik *sliding smear*

Teknik *sliding smear* merupakan teknik pembuatan sediaan dengan cara menekan tetesan specimen dengan obyek glass hingga specimen menyebar merata pada permukaan. Adapun langkah-langkah yang dapat dilakukan.

- Tetaskan 1-2 tetes specimen ditengah obyek glass.
- Kemudian ambil obyek glass bersih, posisikan obyek glass diatas obyek glass yang terdapat specimen.
- Tekan specimen secara perlahan kemudian putar kedua obyek glass hingga menjadi sejajar.
- Setelah itu tarik secara perlahan kedua obyek glass dengan arah berlawanan sampai specimen menyebar merata diatas obyek glass.



Sumber: (Khristian, 2017)  
Gambar 2.3 Teknik pembuatan preparat apusan metode "sliding smear"

- g. Simpan sisa sedimen di tabung centrifuge hingga diagnosis nya terlaporkan
- h. Lanjutkan dengan tahap fiksasi (kering atau basah) tergantung dari formulir permintaan.

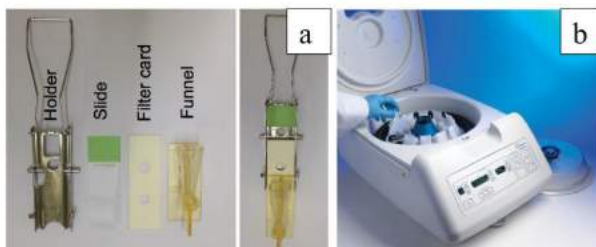
## 2. Metode *Cytospin*

Pembuatan sediaan sitologi juga dapat dilakukan dengan metode *Cytospin*. Teknik *Cytospin* merupakan teknik pembuatan sediaan sitologik yang menggunakan instrumen khusus untuk mengkonsentrasikan sejumlah kecil sel pada suatu area tertentu.

Teknik ini menggunakan gaya sentrifugal untuk memutar suspensi sel dan mengkonsentrasikan ke kaca objek dengan tambahan kertas saring. Adapun prosedur kerja yang dapat dilakukan untuk membuat sediaan sitologik dengan metode *Cytospin* adalah sebagai berikut :

- a. Buka tutup *Cytospin*, dan angkat bagian kepala keluar dari instrument sebelum memasukkan spesimen.
- b. Keluarkan kepala dari *Cytospin* dengan menarik tombol tengah atau ditekan terlebih dahulu. Klip geser kemudian dilepaskan dari rakitan kepala.
- c. Pipet perlahan suspensi kedalam tabung *Cytospin*.
- d. Siapkan obyek glass kemudian posisikan kaca objek ke tempat tabung *Cytospin* yang sebelumnya dibatasi dengan kertas saring. Pastikan lubang tabung *Cytospin* tidak tertutup oleh kertas saring dan penjepit kaca objek dengan tabung *Cytospin* menjepit dengan kuat.

- e. Masukkan tabung *Cytospin* ke wadahnya dan putar dengan kecepatan 1800 – 2500 rpm selama 10 menit.
- f. Jika sudah keluarkan kepala dari alat *cytospin*, kemudian keluarkan objek glass.
- g. Tunggu sampai sampel mengering dan lakukan pewarnaan.



Sumber: : (Khristian, 2017)

Gambar 2.4 Teknik pembuatan preparat sitologi metode “*cytospin*” (a) Komponen tabung sitospin yang terdiri dari penjepit (holder), kaca objek, kertas saring dan tabung sitospin. Tahapan pemasangan dari sitospin mulai dari kiri ke kanan., (b) alat *cytospin*

### 3. Pewarnaan Sediaan Sitologi *Diff-Quick*

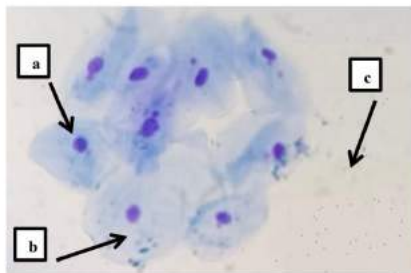
Pewarnaan *Diff-Quick* merupakan pewarnaan cepat yang biasa digunakan dalam pewarnaan histologis dengan cepat dan untuk membedakan smear, dan dari aspirasi jarum halus, pewarnaan ini menggunakan alkohol dan giemsa fiksasi yang digunakan pada pewarnaan *Diff-Quick* adalah fiksasi kering, sediaan harus dikeringkan di udara terbuka dan tidak dimasukkan kedalam cairan fiksasi. Prinsip *Diff-Quick* adalah salah satu teknik pencelupan rapid untuk smear sitologi yang dikeringkan di udara, teknik pencelupan ini digunakan untuk melihat sel sel tumor dan untuk mendiagnosis sampel sel. Hasil pewarnaan inti sel berwarna biru, sitoplasma merah jambu, dan bakteri berwarna biru (Astuti, 2017).

Pada tahap *staining* digunakan waktu yang berbeda-beda antara satu proses dengan proses lainnya. Waktu baku yang digunakan sesuai dengan literatur (buku atau jurnal) yang digunakan sebagai pedoman *staining*. Namun pada aplikasinya, waktu baku tidak dapat dijadikan pedoman pada

semua jenis jaringan yang diwarnai (Ellyawati, 2018). Faktor waktu pewarnaan menjadi salah satu yang mempengaruhi pewarnaan, dikarenakan waktu perendaman yang terlalu lama atau tidak sesuai dapat menyebabkan preparat menjadi gelap dan akan sulit diamati dibawah mikroskop (Kusumawati, 2020).

Cat utama yang digunakan dalam pewarnaan *Diff-Quick* diantaranya :

- a. Reagensia I: berisi *Metanol*
- b. Reagensia II: berisi *Eosin*
- c. Reagensia III: berisi *Methylen Blue*



Sumber : (Mutoharoh, dkk 2020)

Gambar 2.5 Hasil Pewarnaan *Diff-Quick* dengan sampel kerokan mukosa mulut, (a) inti sel, (b) sitoplasma dan (c) latar belakang sediaan

#### 4. Keunggulan Pewarnaan *Diff-Quick*

Terdapat beberapa keunggulan dari pewarnaan *Diff-Quick* diantaranya, prosedur pembuatan sediaan hapus untuk pulasan *Diff-Quick* lebih praktis dibandingkan dengan pulasan pap karena tidak memerlukan fiksasi basah dengan *alcohol*, pulasan *Diff-Quick* memberikan gambaran yang lebih kontras dari pada pulasan pap, sel-sel limfosit lebih mudah dikenal dengan pewarnaan *Diff-Quick* (Astuti, 2017)



## 5. Penilaian Kualitas Pewarnaan

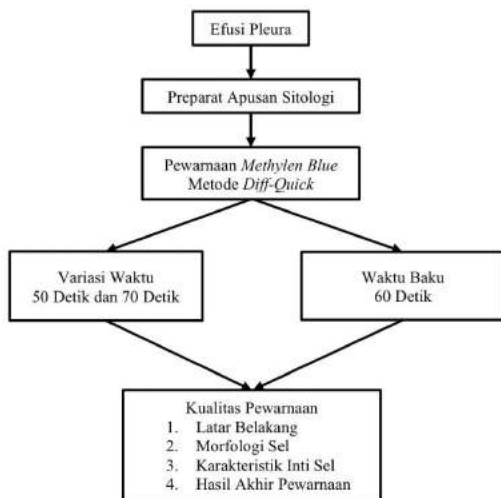
Menurut Thakur (2017), kualitas pewarnaan sediaan dinilai dari 4 parameter dan masing-masing diberikan skor 1-2, dengan skor total dikatakan baik apabila mencapai skor 80%, yaitu 4,0-6,9 kategori tidak baik dan 7,0-8,0 kategori baik. Berikut parameter penilaian dapat dilihat pada tabel dibawah.

Tabel 2. 1 Penilaian Kualitas Sediaan

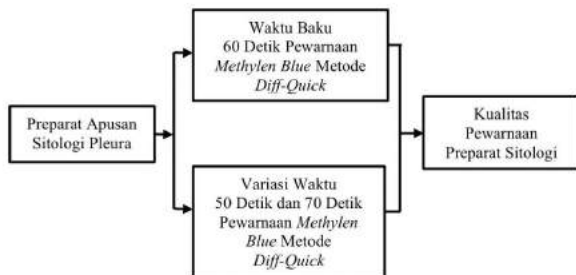
No.	Parameter Penilaian	Skor
1.	Background/Latar Belakang Hemoragik	1
	Bersih	2
2.	Penampilan Morfologi Sel Tidak baik	1
	Baik	2
3.	Karakteristik Inti Sel Inti sel tidak jelas	1
	Inti sel jelas	2
4.	Hasil Akhir Pewarnaan Tidak baik	1
	Baik	2

Sumber : Thakur (2017)

## B. Kerangka Teori



### C. Kerangka Konsep



### D. Hipotesis

- H0 : Tidak ada perbedaan kualitas sediaan apusan sitologi pleura variasi waktu 50 detik, 70 detik dan waktu baku 60 detik pada pewarnaan *Methylen Blue* metode *Diff-Quick*.
- H1 : Ada perbedaan kualitas sediaan apusan sitologi pleura variasi waktu 50 detik, 70 detik dan waktu baku 60 detik pada pewarnaan *Methylen Blue* metode *Diff-Quick*.