

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

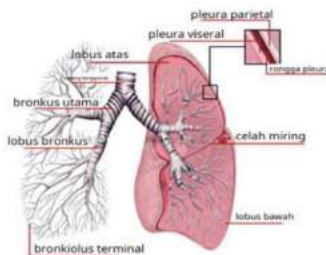
A. Tinjauan Teori

1. Efusi Pleura

Efusi pleura adalah suatu keadaan dimana terjadi penumpukan cairan berlebih di dalam rongga pleura. Penumpukan dan berlebihnya cairan pleura disebabkan produksi cairan yang meningkat, atau absorpsi cairan yang menurun di antara *pleura parietal* dan *pleura viseral*. Penumpukan ini disebabkan karena adanya beberapa kelainan penyakit infeksi dan kasus keganasan baik di paru maupun di luar organ paru (Syahrudin dkk, 2009). Gejala yang ditimbulkan pada pasien efusi pleura yaitu pasien mengeluhkan sesak napas yang berlangsung secara terus menerus, terasa berat saat bernapas dan nyeri pada bagian dada sehingga pasien sulit untuk melakukan aktivitas sehari-hari (Simanjuntak, 2014).

Rongga pleura berisi sekitar 10-20 ml cairan yang memiliki fungsi sebagai pelicin atau pelumas sehingga paru dapat bergerak dengan baik saat bernapas dan untuk mencegah pemisahan paru dan thorax yang akan saling melekat jika ada air (Syahrudin dkk, 2009). Pleura berbentuk lapisan tipis yang terdiri dari dua lapisan yaitu lapisan *viseralis* yang membungkus paru-paru dan pleura *parietalis* yang melapisi rongga dada.

Efusi pleura ganas merupakan salah satu komplikasi yang biasa ditemukan pada penderita keganasan terutama disebabkan oleh kanker payudara dan kanker paru. Manifestasi klinik pada efusi pleura dijumpai sekitar 50-60% penderita keganasan pleura metastatik atau primer. Sementara kasus mesotelioma (keganasan pleura primer) dapat disertai efusi pleura dan sekitar 50% penderita kanker payudara akhirnya akan mengalami efusi pleura. Efusi pleura dapat ditegakkan melalui anamnesis, pemeriksaan fisik, pemeriksaan radiologis dan pemeriksaan tambahan seperti analisis cairan pleura (Puspita dkk, 2013).



Sumber : (Charalampidis dkk, 2014)

Gambar 2.1 Anatomi Rongga Pleura

Secara umum efusi pleura diklasifikasikan sebagai transudat dan eksudat.

- a) Transudat, cairan pleura jernih kekuningan, mengandung protein kurang dari 3gr/100cc, kandungan LDH < 200 IU, dapat disebabkan oleh kegagalan jantung kongestif (gagal jantung kiri), sindroma nefrotik, asistes (oleh karena serosis hepatis), tumor, sindroma meig.
- b) Eksudat, cairan pleura kuning – kehijauan, kadar protein > 3 gr/100 cc, kandungan LDH > 200 IU, dapat disebabkan oleh infeksi seperti tuberkulosis, pneumonia, dapat pula disebabkan oleh tumor, dan infark paru.

Analisis sitologi cairan pleura di laboratorium Patologi Anatomi berperan sangat penting dalam deteksi dini keganasan. Metode apusan yang paling sering digunakan adalah membuat pulasan cairan pleura konvensional langsung. Metode ini dapat dilakukan dengan cepat dan memungkinkan diagnosis dalam rentang waktu 1-3 hari. Metode lain dari analisis sitologi cairan pleura adalah blokade sitologi. Metode ini membutuhkan waktu minimal 3 hari kerja untuk diagnosis terjadi. Keuntungan dari metode ini bahwa sediaan dapat diproduksi ulang dan dapat disimpan untuk pemeriksaan lebih lanjut, yang dapat digunakan untuk pewarnaan konvensional (Prasetyani dkk, 2017).

2. Preparat Apusan Sitologi

Pemeriksaan sitologi merupakan pemeriksaan yang dilakukan untuk mencari serta menilai setiap struktur sel yang ditemukan untuk mendeteksi

kanker serta kelainan genetik dan hormonal. Sitologi cairan pleura terkadang sulit menggambarkan penyebab dari efusi pleura. Akan tetapi, pemeriksaan sitologi sangat penting dalam menentukan monitoring lanjutan atau terapi yang akan diberikan dengan nilai sensitivitas 91-94%, spesifisitas 93% dan akurasi 87% berperan penting untuk membantu diagnosa (Djanah, 2020).

Prinsip kerja apusan sitologi ini adalah dengan meneteskan satu tetes cairan pleura, kemudian dipulas diatas gelas objek lalu dicat dan diperiksa menggunakan mikroskop. Untuk mendapatkan hasil pemeriksaan yang baik sediaan apus harus dibuat dan dipulas dengan baik. Tahap awal yang dilakukan adalah melalui proses sentrifus untuk memisahkan antara supernatant dan endapan, kemudian dilakukan fiksasi. Sebelum dilakukan fiksasi sediaan preparat tidak boleh terlalu kering karena dapat merusak sel dan hilangnya afinitas pada pewarnaan. Fiksasi digunakan untuk memeriksa struktur sel dengan jelas (Astuti dkk, 2017).

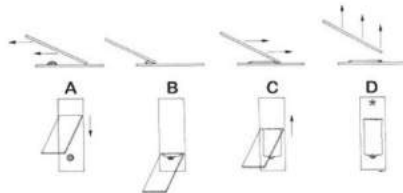
Adapun langkah yang dilakukan untuk membuat sediaan sitologik sebagai berikut:

1. Melakukan pengamatan tampilan dari spesimen cair dan deskripsikan dalam formulir permintaan.
2. Menuangkan ke dalam 15-50 ml (tergantung dari perkiraan jumlah sel berdasarkan kekeruhan), tabung sentrifus dan melakukan pemusingan selama 10 menit dengan kecepatan 1.800-2.500 rpm.
3. Melakukan sentrifugasi dan menyiapkan dua gelas objek yang telah diberi label.
4. Menuangkan cairan supernatant (cairan paling atas) kembali ke wadah spesimen asal. Jika spesimen memiliki endapan yang tebal sisakan supernatant kurang lebih 1/3 bagian dari sedimen atau ketika sedimen sangat tipis bahkan hampir tidak terlihat maka supernatant diusahakan terbuang hingga tidak ada tetesan kurang lebih 2-3 detik.
5. Melakukan homogenisasi kembali hasil no. 4 dengan mengetukkan tabung secara perlahan atau dapat menggunakan *vortex* hingga terlihat lagi larutan yang bercampur.

6. Mengambil larutan pada tabung no. 5 dan meneteskan satu atau dua tetes pada sisi gelas objek (kurang lebih 2 cm dari tepi luar).
7. Pembuatan sediaan sitologi dapat dilakukan metode sebagai berikut:
 - a. Metode *Pull Apart* (Tarik dan Dorong)

Metode *Pull Apart* atau biasa disebut metode oles merupakan suatu metode pembuatan sediaan sitologi dengan membuat lapisan tipis dari spesimen berbentuk cairan diatas gelas objek.

- 1) Menyiapkan gelas objek dan pastikan dalam keadaan bersih dan kering.
- 2) Meneteskan sedimen kurang lebih 1-2 tetes diatas gelas objek.
- 3) Menyiapkan gelas objek lainnya yang bersih dan kering digunakan untuk menarik dan mendorong sampel.
- 4) Melakukan teknik tarik dan dorong, hingga sedimen menyebar merata pada permukaan gelas objek.



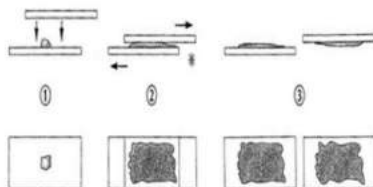
Sumber : (Khristian dkk, 2017)
Gambar 2.2 Teknik pembuatan preparat apusan metode "pull-apart"

- b. Metode *Sliding Smear* (Tekan)

Metode *Sliding Smear* atau biasa disebut metode tekan merupakan metode yang hampir sama dengan metode oles, namun pada teknik ini dilakukan penekanan terhadap spesimen. Penekan ini dilakukan dengan lembut agar tidak terjadi kerusakan pada komponen sel.

- 1) Menyiapkan gelas objek dan pastikan dalam keadaan bersih dan kering.
- 2) Meneteskan sedimen kurang lebih 1-2 tetes diatas gelas objek.

- 3) Menyiapkan gelas objek lainnya yang bersih dan kering digunakan untuk menekan.
- 4) Melakukan penekanan dengan kaca objek lainnya yang bersih.
- 5) Melakukan putaran pada gelas objek hingga kedua gelas objek menjadi sejajar dan tarik ke arah atas.



Sumber : (Khristian dkk, 2017)

Gambar 2. 3 Teknik pembuatan preparat apusan metode "sliding smear"

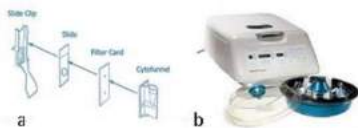
c. Metode *Cytospin* (Otomatis)

Metode *Cytospin* merupakan teknik pembuatan sitologik yang menggunakan instrument khusus untuk mengkonsentrasikan sejumlah kecil sel pada suatu area tertentu. Teknik ini menggunakan gaya sentrifugal untuk memutar suspensi sel dan mengkonsentrasikan gelas objek dengan tambahan kertas saring.

- 1) Menyiapkan dan pasang gelas objek, kertas saring, *cytofunnel* pada *cytoclip*.
- 2) Memipet sampel sebanyak 1cc dan masukkan ke dalam *cytofunnel*.
- 3) Membuka penutup dari *cytospin* dengan menarik tombol tengah atau ditekan terlebih dahulu. Geser klip kemudian dilepaskan dari rakitan penutup.
- 4) Meletakkan gelas objek pada klip slide yang ada pada rotor, kemudian meletakkan kertas saring (permukaan penyerap menyentuh gelas objek) dan memposisikan corong *cytofunnel* disebelah kertas saring. Pastikan penempatan gelas objek dan corong *cytofunnel* harus seimbang, lubang

tabung *cytospin* tidak tertutup oleh kertas saring dan penjepit kaca objek dengan tabung *cytospin* menjepit dengan kuat.

- 5) Masukkan rotor kedalam alat *cytospin*, kemudian tutup dan sentrifus dengan kecepatan 1.000-2.500 rpm selama 5-10 menit.
- 6) Ketika alat sudah berhenti, mengeluarkan rotor dari alat *Cytospin*, kemudian mengeluarkan gelas objek dari rotor.
- 7) Tunggu sampai sampel mengering dan lakukan pewarnaan.



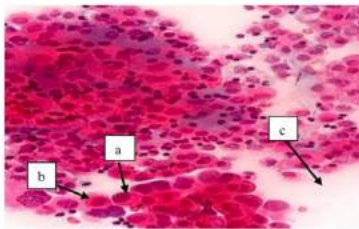
Sumber : (Maestre, 2023)

Gambar 2.4 Teknik pembuatan preparat sitologik metode “*Cytospin*”
(a) Persiapan slide dalam kedudukan rotor yang akan dimasukkan kedalam alat *Cytospin*, (b) alat *Cytospin* dan rotor.

8. Menyiapkan sisa sedimen di tabung sentrifugal hingga diagnosis nya terlaporkan.
9. Melanjutkan pada tahap fiksasi (kering atau basah) tergantung dari formulir permintaan (Khristian dkk, 2017).

3. Pewarnaan *Papanicolaou*

Pewarnaan sediaan sitologi yang digunakan adalah pewarnaan *Papanicolaou* yang berfungsi untuk pemeriksaan cairan pleura, jaringan, dan berbagai jenis organ. Pewarnaan *Papanicolaou* (PAP) pertama kali dijelaskan oleh *Papanicolaou* pada tahun 1943 dan digunakan secara luas sebagai tes skrining meskipun memakan waktu dan membutuhkan alkohol dalam jumlah besar. Kebutuhan akan waktu penyelesaian minimal untuk menilai apusan aspirasi jarum halus (FNAB) telah mendorong inovasi dalam teknik pewarnaan yang membutuhkan waktu pewarnaan yang lebih singkat dengan morfologi sel yang tegas (Astuti dkk, 2017).



Sumber : (Samari, 2018)
 Gambar 2.5 Gambaran mikroskopis pewarnaan *Papanicolaou*
 (a) Inti sel, (b) Sitoplasma, dan (c) Latar belakang sediaan.

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 diagnosa (Astuti dkk, 2017).

- 1) Cat utama yang digunakan dalam pewarnaan *Papanicolaou*
 - a) *Hematoxylin*, digunakan untuk melihat pewarnaan inti sel berwarna biru.
 - b) *Eosin-Alkohol* (EA-50), memiliki komposisi sama yang digunakan untuk melihat pewarnaan sitoplasma berwarna merah.
 - c) *Bluing*, substitusi kebiruan solusian dapat digunakan untuk memperjelas bentuk atau struktur sel.
 - d) Alkohol bertingkat (70%, 96%, dan alkohol absolut) hidrasi dan dehidrasi berguna untuk menghindari terjadinya penyusutan pada sel.
- 2) Jadwal penggantian reagen dalam pewarnaan *Papanicolaou*, disesuaikan pada sifat dan volume bahan olahan.
 - a) *Hematoxylin* relatif konstan dalam pewarnaan karakteristik dan jarang terbuang, jika sering ditambahkan setiap hari untuk menggantikan fiksatif.
 - b) *OG-EA* harus diganti setiap minggu atau setelah sel nampak abu-abu kusam, atau warna kontras yang tajam.
 - c) *Solution bluing*, setidaknya sehari sekali harus diganti.

- d) Alkohol harus diganti setiap minggu atau dibuang setiap hari untuk menghindari adanya penyaringan alkohol *solutions*, biasanya setelah pewarnaan sitoplasma berubah dan alkohol harus diperiksa dengan hydrometer.
- e) *Xylo* harus sering diganti, jika tidak akan mengganggu proses *clearing* dan pada slide yang dilihat secara mikroskopis terlihat tetes kecil air.

3) Keunggulan Pewarnaan *Papanicolaou*

Keuntungan yang diperoleh dari metode pewarnaan *Papanicolaou* ini menurut Mukawi (2013) adalah:

- a) Mewarnai inti sel dengan jelas, sehingga dapat digunakan untuk melihat inti apabila terdapat kemungkinan keganasan.
 - b) Menggunakan pewarna banding yang berbeda dengan pewarna utama untuk mewarnai sitoplasma, sehingga warna inti tampak lebih kontras.
 - c) Warna cerah yang dihasilkan oleh sitoplasma memungkinkan dapat dilihatnya sel-sel lain dibagian bawah yang saling bertumpuk.
- 4) Prosedur pewarnaan *Papanicolaou* (SOP Klinik Morotai Patologi, 2019).
1. Sampel slide difiksasi dengan alkohol 96% selama 30 menit
 2. Setelah difiksasi angkat dan dimulai pewarnaan
 3. Slide dimasukkan ke dalam alkohol 70% selama 1 menit
 4. Slide direndam dengan *Aquadest* sebanyak 1 menit
 5. Slide dimasukkan ke dalam *Harris-Hematoxylin* selama 7-10 menit
 6. Slide direndam atau bilas dengan air mengalir selama 1 menit
 7. Slide dimasukkan ke dalam alkohol 70% sebanyak 1 menit
 8. Slide dimasukkan ke dalam *Orange-G* (OG 6) selama 3 menit
 9. Slide dimasukkan kedalam alkohol 70% sebanyak 1 menit
 10. Slide dimasukkan kedalam *Eosin Alkohol* (EA-50) selama 3 menit

11. Slide dimasukkan ke dalam alkohol 96% sebanyak 1 menit
12. Slide dimasukkan ke dalam alkohol 96% sebanyak 1 menit
13. Slide dimasukkan ke dalam alkohol absolut sebanyak 1 menit
14. Slide dimasukkan ke dalam alkohol absolut sebanyak 1 menit
15. Slide dimasukkan ke dalam *Xylo I* selama 5 menit
16. Slide dimasukkan ke dalam *Xylo II* selama 5 menit
17. Sampel dikeringkan, ditetesi dengan entelan (*mounting*) secukupnya dan ditutup dengan *cover glass*
18. Slide siap dibaca oleh Dokter Spesialis Patologi Anatomi

4. *Clearing* (Penjernihan)

Penjernihan (*clearing*) merupakan suatu proses penjernihan yang bertujuan untuk menjadikan morfologi sel, inti sel maupun sitoplasma sel lebih jernih, transparan, dan jelas, pada proses *clearing* dilakukan perendaman selama 5 menit di dalam larutan *xylo*. Kualitas sediaan sitologi meliputi keutuhan kualitas sediaan apusan, kejernihan, dan kualitas pewarnaan. Kualitas sediaan yang baik dinilai dari kejernihan, semakin jernih maka semakin mudah untuk diamati struktur dari morfologi selnya, kualitas warna juga harus sesuai dengan warna aslinya (Hidayani, 2018).

Pada umumnya *clearing* menggunakan bahan *xylo*, akan tetapi bahan lain juga dapat digunakan pada proses *clearing* antara lain dengan bahan *Toluene*, *acetone* dan minyak cengkeh (Lael dkk, 2018).

5. Larutan *Xylo* (*Xylene*)

Xylo merupakan hidrokarbon aromatik. Bahan kimia yang memiliki rumus atom $C_6H_4(CH_3)_2$. *Xylo* memiliki berat molekul 106,17 gram/mol dengan komposisi karbon (C) sebesar 90,5% dan hidrogen (H) 9,5%. *Xylo* memiliki tiga isomer yaitu *ortho-xylene*, *meta-xylene* dan *para-xylene*.

Xylo secara luas digunakan dalam bidang industri percetakan, karet, dan kulit selain itu *xylo* merupakan komponen umum dari tinta, karet, dan perekat, dalam teknologi medis *xylo* digunakan sebagai pelarut (*National Occupational Health and Safety Commission*, 2002). *Xylo* dapat

digunakan dalam proses *clearing agent* pada pembuatan preparat karena sifatnya yang dapat menjernihkan sampel, *xylol* murni fungsinya sebagai zat untuk menjernihkan atau *clearing* suatu spesimen atau preparat sehingga memudahkan dalam pengamatan.

Perendaman *xylol* bila terlalu lama bisa merapuhkan struktur sampel sehingga tidak disarankan penggunaan *xylol* dalam waktu yang lama atau lebih dari waktu yang ditentukan. Perendaman *xylol* jika terlalu lama menyebabkan struktur sampel menjadi kering dan rapuh sehingga hasil akhir dari pembuatan preparat tidak akan bertahan lama.

Xylol memiliki kelebihan yaitu dapat diperoleh dengan mudah karena banyak dijual di toko bahan kimia dan kekurangan *xylol* yaitu harga lebih mahal daripada *toluol* dan sifatnya mudah terbakar.

6. Larutan *Toluol* (*Toluena*)

Toluol merupakan bahan kimia yang memiliki rumus atom $C_6H_5CH_3$, yang disebut juga *Toluena* atau Methylbenzene. *Toluol* adalah senyawa hidrokarbon aromatik yang tidak berwarna. Karakteristik spesifik lainnya dari senyawa ini diantaranya adalah mudah terbakar, mudah terurai, sedikit larut dalam air, beraroma manis dan tajam (Jayanti dkk, 2015). *Toluol* berasal dari pohon tolu yang banyak ditemukan pada daerah Colombia Amerika Serikat bagian selatan. *Toluol* banyak digunakan dalam produk rumah tangga antara lain sebagai aerosol zat yang biasanya ditemukan pada produk obat semprot serangga, cat kuku, cat dinding, penghilang karat, dan larutan pembersih (Lael dkk, 2018).

Toluol dapat dijadikan larutan yang digunakan pada proses *clearing agent* karena bersifat sama dengan larutan pembanding *clearing* yaitu *xylol* karena mengandung senyawa hidrokarbon yang mampu menjadikan struktur dari morfologi sel sitologi menjadi jelas, jernih dan transparan. *Toluol* memiliki keunggulan dibandingkan dengan *xylol* yaitu sedikit lebih ramah lingkungan karena terbuat dari minyak bumi mentah yang berasal dari pohon tolu, harganya lebih terjangkau, dan hasil pembuatan preparat lebih jernih.

Tabel 2.1 Persamaan *Clearing Agent*
Clearing Agent

| <i>Xylol</i> | <i>Toluol</i> |
|--|--|
| 1. Cairan berwarna bening | 1. Cairan berwarna bening |
| 2. Memiliki kandungan karbon yang sama, berfungsi untuk menjernihkan | 2. Memiliki kandungan karbon yang sama, berfungsi untuk menjernihkan |

Tabel 2.2 Perbedaan *Clearing Agent*
Clearing Agent

| <i>Xylol</i> | <i>Toluol</i> |
|-------------------------------|--------------------------------|
| 1. Memiliki aroma lebih tajam | 1. Memiliki aroma kurang tajam |
| 2. Harga lebih mahal | 2. Harga lebih terjangkau |
| 3. Tidak ramah lingkungan | 3. Lebih ramah lingkungan |

7. Penilaian Kualitas Sediaan

Akurasi pemeriksaan sitologi dari bagian-bagian tubuh sangat tergantung pada kualitas sediaan, persiapan, pewarnaan dan interpretasi hasil dari sediaan. Kekurangan dalam setiap langkah-langkah ini akan mempengaruhi kualitas sediaan sitologik. Peningkatan kualitas sediaan sitologik dilakukan dengan peningkatan pendidikan berkelanjutan, sertifikasi dan akreditasi laboratorium, pengenalan jaminan kualitas dan tindakan pengendalian mutu, komputerisasi, perbaikan teknik persiapan spesimen, teknik kuantitatif dan analitik sediaan sitologik serta penggunaan teknologi canggih termasuk otomatisasi sediaan (Khristian dkk, 2017).

Interpretasi yang akurat dari spesimen sitologik tergantung pada faktor-faktor berikut:

- a) Metode pengumpulan spesimen
- b) Fiksasi dan fiksatif
- c) Teknik pembuatan sediaan sitologik
- d) Pewarnaan dan penutupan sediaan sitologik

Menurut Shastri (2020) kualitas pewarnaan dinilai dari 4 parameter, dan masing-masing diberikan skor dengan skor 1-2 pada setiap parameter.

Tabel 2.3 Parameter Penilaian

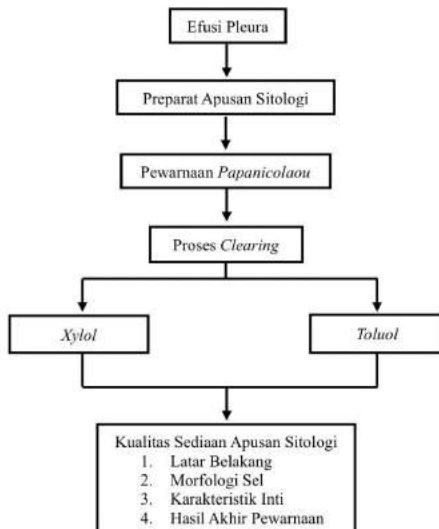
| No | Parameter Penilaian | Skor |
|----|---------------------------|------|
| 1. | Background/latar belakang | |
| | Hemoragic | 1 |
| | Bersih | 2 |
| 2. | Penampilan morfologi sel | |
| | Tidak baik | 1 |
| | Baik | 2 |
| 3. | Karakteristik inti sel | |
| | Inti sel tidak jelas | 1 |
| | Inti sel jelas | 2 |
| 4. | Hasil akhir pewarnaan | |
| | Tidak baik | 1 |
| | Baik | 2 |

Sumber : (Shastri, 2020)

Keterangan:

- 4-6 : Tidak Baik
- 7-8 : Baik

B. Kerangka Teori



C. Kerangka Konsep



D. Hipotesis

- H₀** : Tidak ada perbedaan kualitas sediaan apusan sitologi pleura berdasarkan latar belakang sediaan, morfologi sel, karakteristik inti sel dan hasil akhir pewarnaan.
- H₁** : Ada perbedaan kualitas sediaan apusan sitologi pleura berdasarkan latar belakang sediaan, morfologi sel, karakteristik inti sel dan hasil akhir pewarnaan.