

BAB II

TINJUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Teori

1. Efusi Pleura

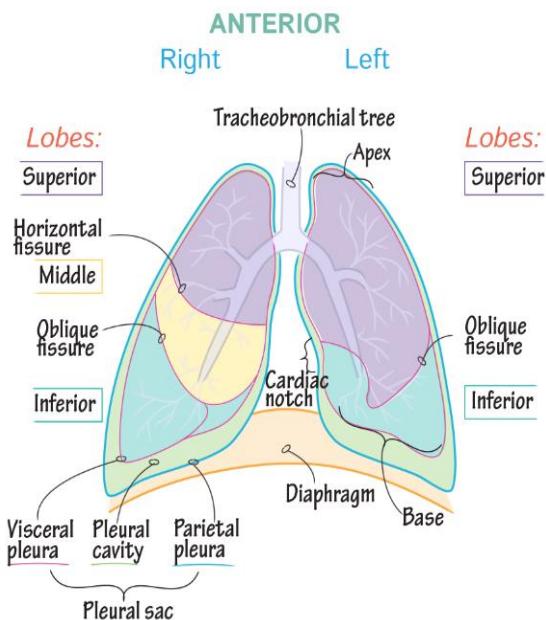
Pleura adalah lapisan tipis jaringan yang terdiri dari sel mesotelium, yang membungkus paru-paru dan melapisi bagian dalam dinding rongga dada. Rongga pleura adalah ruang yang terletak di antara paru-paru dan dinding dada. Berbagai penyakit dapat memengaruhi rongga pleura pada orang dewasa maupun anak-anak, seperti pneumonia, kanker payudara, kanker paru-paru, serta gagal jantung. Efusi pleura adalah salah satu indikasi yang paling umum terjadi pada penyakit pleura, serta sering dijumpai pada kondisi gagal jantung dan gagal ginjal (Putu & Pranita, 2020)

Efusi pleura adalah keadaan di mana adanya penumpukan cairan berlebihan pada rongga pleura, yang bisa diakibatkan oleh transudat atau eksudat. Secara normal, rongga pleura mengandung cairan yang berfungsi sebagai pelumas antara paru-paru dan dinding dada (Puspita et al., 2017).

Jumlah cairan pleura yang melebihi batas normal dapat diakibatkan oleh kecepatan produksi cairan dilapisan pleura parietal. Gejala yang sering dialami oleh pasien efusi pleura biasanya sesak napas, nyeri dada termasuk reaksi inflamasi pada pleura parietal terutama pada mesotelioma (keganasan pleura primer), pasien mengalami batuk dan demam. Pemeriksaan fisik menunjukkan beberapa kelainan, seperti suara perkusi yang lemah, penurunan fremitus saat palpasi, serta penurunan suara napas paru ketika cairan efusi melebihi 300 ml (Simanjuntak, 2014).

Efusi pleura ganas (EPG) merupakan kasus yang paling sering disebabkan oleh kanker paru. Efusi pleura yang ganas biasanya ditandai karena adanya sel ganas pada sitologi efusi pleura atau biopsi pleura. Efusi pada rongga pleura bisa disebabkan karena peningkatan permeabilitas pembuluh darah serta dapat juga diakibatkan oleh reaksi inflamasi yang ditimbulkan sel kanker pada pleura parietal dan viseral. Pada pasien EKG sesak napas merupakan gejala yang paling

sering terjadi apalagi ketika volume cairan pleura sangat banyak. Efusi pleura dapat didiagnosis melalui berbagai pendekatan, termasuk anamnesis, pemeriksaan fisik, pemeriksaan radiologi, serta analisis cairan pleura sebagai pemeriksaan tambahan untuk memberikan gambaran lebih jelas mengenai kondisi tersebut (Syahruddin et al., n.d.).



Sumber: (Tupa,2020)

Gambar 2.1 Gambar Anatomi Paru-paru Manusia

Menurut Puspita et al., 2017 ada beberapa hal yang dapat menyebabkan menumpuknya cairan pleura yaitu:

- Peningkatan tekanan cairan pada peredaran darah mikrovaskuler penelitian menunjukkan adanya kenaikan tekanan dalam pembuluh kapiler dapat menjadi faktor utama yang memicu terjadinya efusi pleura pada pasien dengan gagal jantung.
- Tekanan onkotik yang berkurang pada sirkulasi mikrovaskuler akibat hipoalbuminemia dapat menyebabkan peningkatan cairan yang terkumpul dalam rongga pleura. Kondisi ini memperburuk efusi pleura karena kurangnya protein dalam darah yang seharusnya membantu mempertahankan keseimbangan cairan di dalam pembuluh darah.

- c. Peningkatan tekanan negatif pada rongga pleura
dapat menyebabkan penumpukan cairan yang lebih banyak di dalam rongga tersebut, kondisi ini sering dialami penderita atelektasis.
- d. Peningkatan permeabilitas kapiler akibat mediator inflamasi
menyebabkan lebih banyak protein yang masuk ke dalam rongga pleura, seperti yang terlihat pada pneumonia.
- e. Gangguan area limfatik dari permukaan pleura
akibat penyumbatan oleh tumor atau fibrosis dapat menghambat aliran cairan, berkontribusi terhadap penumpukan cairan dalam rongga pleura.

2. Preparat Sediaan Apusan Sitologi

Mengetahui karakteristik pada pasien dengan efusi pleura sangat penting untuk menentukan etiologi dan diagnosis yang tepat. Hal ini juga berperan dalam menilai progresivitas penyakit dan upaya pencegahannya. Etiologi efusi pleura sangat bervariasi, tergantung pada penyakit yang mendasarinya. Pemeriksaan sitologi merupakan salah satu metode diagnostik yang paling efektif untuk mendeteksi pertumbuhan kanker dan sel kanker. Gambaran klinis efusi pleura merupakan alat yang sangat penting dalam menentukan penyebab penyakit (Yosefany et al., 2022).

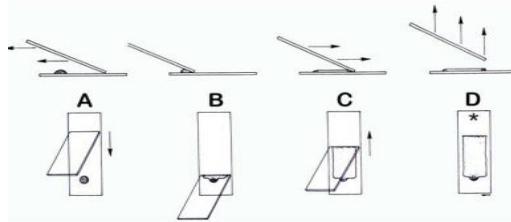
Prinsip dasar dari apusan sitologi adalah dengan meneteskan cairan pleura pada kaca objek, kemudian mengoleskannya untuk membuat lapisan tipis yang siap diperiksa di bawah mikroskop. Proses pembuatan dan pengolesan sediaan harus dilakukan dengan cermat agar hasil pemeriksaan dapat memberikan informasi yang akura (Budiawanty, 2017). Proses pengolahan preparat apusan dimulai dengan sentrifugasi, di mana cairan pleura, yang bersifat cair dan encer serta mengandung sedikit sel, diproses untuk menghasilkan endapan dan cairan jernih. Supernatan yang dihasilkan diambil dengan hati-hati dan kemudian digunakan untuk membuat sediaan. Endapan yang terbentuk dipindahkan ke objek kaca, setelah itu dilakukan fiksasi. Sebelum dilakukan fiksasi, preparat tidak boleh terlalu kering dikarenakan dapat merusak sel dan mengurangi kemampuan dalam menyerap pewarna. Fiksasi ini bertujuan agar struktur sel dapat terlihat dengan lebih jelas saat diperiksa (Astuti, 2017).

Menurut (Kristian, 2017), ada beberapa proses pembuatan sediaan sitologi sediaan sitologi dengan menggunakan beberapa metode :

1). Metode *Pull-Apart*

Berikut prosedur kerja yang dapat dilakukan untuk membuat sediaan sitologi dengan metode *pull-apart* :

- a. Perhatikan penampilan specimen lalu jelaskan dalam formulir permintaan.
- b. Masukan spesimen ke dalam tabung sentrifuge sebanyak 15-50 ml, kemudian diputar tabung selama 10 menit dengan kecepatan 1.800-2.500 rpm.
- c. Setelah proses sentrifugasi selesai, tuangkan kembali cairan supernatan (bagian bening di atas) ke dalam wadah sampel yang semula. Jika sampel mengandung sedimen yang kental, biarkan sekitar sepertiga dari sedimen tetap tertinggal. Namun, jika sedimen sangat tipis atau hampir tidak terlihat, buanglah supernatan hingga tidak ada lagi yang tersisa, yakni sekitar 2-3 tetes.
- d. Campurkan kembali spesimen yang telah dipisahkan antara endapan dan supernatannya dengan cara mengetuk tabung atau menggunakan vortex hingga larutan tercampur merata.
- e. Ambil sampel yang telah dihomogenisasi, lalu letakkan 1-2 tetes di atas kaca objek, Hampir 2 cm dari tepi luar, untuk menyiapkan spesimen.
- f. Pembuatan sediaan sitologi metode smear dilakukan dengan teknik *pull-apart*
 - 1) Teteskan 1-2 tetes spesimen pada objek glas (sekitar 2 cm dari tepi luar)
 - 2) Menggunakan objek glass yang lain Letakkan dengan sudut 30-45
 - 3) Dorong objek glas ke belakang sehingga menyentuh tetesan spesimen
 - 4) Tarik objek glas sampai terbentuk hapusan pada objek glas.



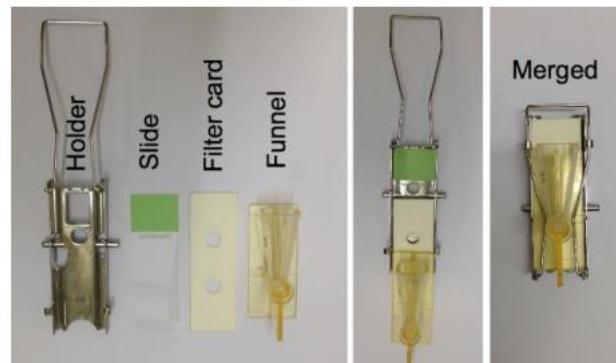
Sumber: (Khristian, 2017)

Gambar 2.2 Metode pembuatan preparat apusan dengan teknik "pull-apart".

2). Metode *Cytospin*

Teknik *cytospin* adalah metode pembuatan preparat sitologi dengan memakai alat yang dikhkususkan untuk mengumpulkan sejumlah sel-sel yang kecil di area tertentu. Adapun langkah dari metode *cytospin* yang dapat dilakukan :

- a) Buka tutup *cytospin*, lalu angkat kepala *cytospin* keluar dari instrumen sebelum memasukkan spesimen sampel.
- b) Lepaskan kepala dari *cytospin* dengan menarik tombol tengah bisa juga dengan cara menekannya terlebih dahulu. Geser klip lalu lepaskan kepala dari rakitan.
- c) Pipet suspensi dengan hati-hati ke dalam tabung *cytospin*.
- d) Siapkan kaca objek dan letakkan di dalam tabung *cytospin* yang telah dilapisi dengan kertas saring. Pastikan lubang pada tabung *cytospin* tidak terhalang oleh kertas saring, serta pastikan klem kaca objek terpasang dengan erat pada tabung *cytospin*
- e) Masukkan tabung *cytospin* pada tempatnya dan senstrifius dengan kecepatan 1800-2500 rpm selama 10 menit.
- f) Jika sudah keluarkan kepala dari alat *cytospin*, kemudian keluarkan objek gelas.
- g) Tunggu sampai sampel mengering dan lakukan pewarnaan.



Sumber : (Khristian, 2017)

Gambar 2.3 Metode pembuatan preparat sitologi dengan menggunakan “*cytospin*” terdiri dari tabung sitospin yang terdiri dari penjepit (holder), kaca objek, kertas saring dan *cytospin*

3. Fiksasi

Fiksasi merupakan upaya agar komponen sel tetap utuh dan tidak mengalami kerusakan atau perubahan (Tasry, 2018). Fiksasi yang tepat pada spesimen sitologi sangat penting agar diagnosis dapat dilakukan dengan akurat. Terdapat dua jenis fiksasi dalam sampel sitologi yaitu fiksasi kering dan fiksasi basah. Untuk fiksasi basah, sampel sebaiknya langsung direndam kedalam larutan fiksasi setelah pengumpulan spesimen ketika sampel masih dalam kondisi lembab (Khristian, 2017).

Fiksasi spesimen sitologi seharusnya memiliki kesamaan dengan fiksasi spesimen jaringan. Ada beberapa kriteria penting yang perlu diperhatikan saat memproduksi sediaan sitologi, di antaranya adalah :

- a. Penetrasi yang cepat ke dalam sel
- b. Melindungi sel dari kerusakan atau kehilangan komponen sel dilakukan hingga sedemikian rupa sehingga sel tampak seolah-olah masih hidup.
- c. Menjaga struktur sel dan komponen sel (kimiawi, enzimatik, immunologi).
- d. Menghentikan proses metabolisme autolisis.
- e. Menghentikan pertumbuhan seluler dan mikroorganisme.
- f. Meningkatnya pewarnaan struktur juga komponen sel.

Menurut (Alwi, 2016) ada beberapa faktor yang mempengaruhi unsur fiksasi :

1. pH

Nilai ideal pH untuk proses fiksasi berkisar antara 6-8. Ketika pH berada di luar kisaran ini, dapat terjadi perubahan pada struktur jaringan. Perubahan pH

tersebut memengaruhi konsentrasi ion, yang selanjutnya dapat meningkatkan atau menurunkan laju reaksi. Dampak dari perubahan ini berpengaruh pada hasil pemeriksaan mikroskopis.

2. Suhu

Fiksasi yang akan diperiksa menggunakan mikroskop elektron baiknya disimpan pada suhu 0-4°C

3. Perubahan volume

Fiksasi yang berkepanjangan dapat menyebabkan sel menyusut.

4. Konsentrasi

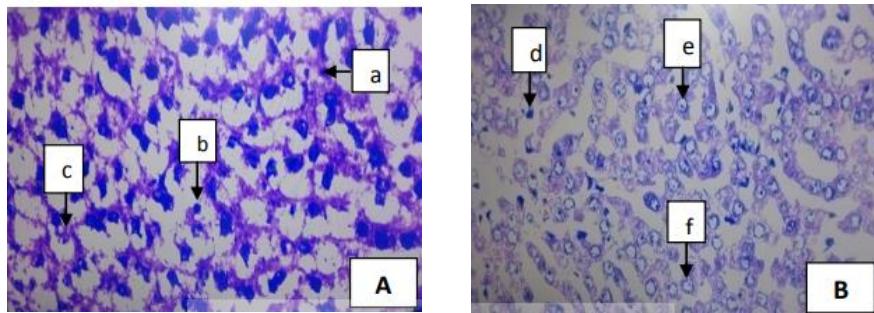
Konsentrasi memberikan dampak positif dengan mempercepat proses fiksasi, berkat pembentukan banyak molekul.

4. Methanol Absolute

Methanol biasa digunakan sebagai pelarut organik. *Methanol* merupakan bentuk alkohol yang paling sederhana (Utami et al., 2020). *Methanol* berinteraksi lebih kuat dengan molekul dibandingkan etanol (Musyarifah dkk, 2018).

Fiksasi menggunakan *metanol absolut* berfungsi untuk merekatkan apusan, serta menghentikan keadaan metabolisme tanpa mengubah struktur sel. Fiksasi dengan *metanol absolut* juga berfungsi agar apusan dapat menyerap warna dengan sempurna dan dapat merekatkan apusan, serta menghentikan keadaan metabolisme tanpa mengubah struktur sel. Fiksasi dengan *methanol Absolute* juga berfungsi agar apusan dapat menyerap warna dengan sempurna (Sholekha, 2018). *Metanol Absolut* ini merupakan fiksasi yang bisa digunakan untuk sediaan berbasis cairan. *Metanol Absolut* ini bisa digunakan karena menghasilkan sediaan yang tidak begitu menyusut jika dibandingkan alkohol 96% (Khristian, dkk).

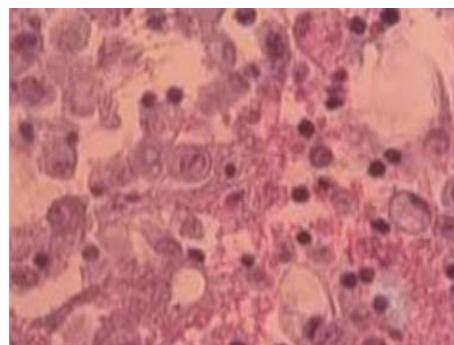
Methanol Absolute juga merupakan fiksasi yang bisa digunakan untuk sediaan berbasis cairan. *Methanol Absolute* baik karena dapat menghasilkan sediaan yang tidak begitu menyusut dibandingkan dengan alkohol 96% (Khristian, dkk).



Sumber : (Utami dkk, 2020)

Gambar 2.4 kualitas sediaan hati dengan fiksasi metanol (a) nekrosis (b) inti (c) sitoplasma dan dengan fiksasi etanol (B sekor 1) (d) sel utuh (e) inti (f) sitoplasma

Tahapan pewarnaan (*staining*) merupakan tahapan terakhir dalam pembuatan sediaan sitologi. Setelah sediaan sudah dibuat lalu diwarnai untuk memudahkan proses pemeriksaan bagian-bagian yang akan diamati seperti inti sel, sitoplasma, menggunakan mikroskop (Ellyawati, 2018). Pewarnaan Papanicolaou atau *PAP stain* adalah pewarnaan sitologi yang dikembangkan oleh George Papanicolaou. Pewarnaan *PAP* dapat digunakan untuk membedakan sel-sel dalam apusan berbagai sekresi tubuh (Samari, 2018)



Sumber : (Hijrawati, 2018)

Gambar 2.5 Sediaan Apusan efusi pleura dengan pewarnaan *Papanicolaou*

Prinsip dari *Papanicolaou staining* adalah melaksakan pewarnaan, hidrasi dan dehidrasi sel. Pengumpulan sediaan yang baik, fiksasi serta pewarnaan yang baik dalam pengamatan mikroskopik yang cermat, merupakan langka yang akan ditempuh dalam menegakkan diagnosa (Astuti dkk, 2017).

a. Cat utama yang dipakai dalam proses pengecatan *Papanicolaou*

- 1) *Hematoxylin*, menggunakan *Harris Hematoxyline* regresif, sel-sel yang *overstrained* dan kelebihan *Harris Hematoxyline* dihilangkan dengan ekstraksi diferensial di HC1.

- 2) *Eosin-Alkohol (EA-50)*, kita dapat menerapkan metode pewarnaan ini pada kasus ginekologi maupun non-ginekologi untuk menganalisis reaksi pewarnaan sitoplasma.
 - 3) *Bluing, Bluing solution* bisa dipakai agar memperjelas bentuk dan struktural sel.
 - 4) Alkohol bertingkat (70%,80%, dan 96%) untuk hidrasi dan dehidrasi berguna untuk menghindari penyusutan pada sel.
- b. Kualitas reagen dalam pengecatan sediaan *Papanicolaou*
- 1) Kualitas reagen disesuaikan pada volume dan sifat bahan olahan. *Hematoxilin* tetap relatif konstan dalam pewarnaan karakteristik, jarang terbuang dan ditambah setiap hari untuk mengganti fiksasi.
 - 2) *OG-EA* adalah larutan yang lebih sering diganti dibandingkan dengan *Hematoxylin*. *OG-EA* perlu dilakukan penggantian setiap minggu atau setelah sel menunjukkan warna abu-abu.
 - 3) *Solution bluing* biasanya harus diganti satu hari sekali.
 - 4) Alkohol digunakan dalam proses rehidrasi dan dehidrasi, alkohol harus diganti setiap hari untuk menghindari adanya penyaringan alkohol *solutions*, ketika sitoplasma berubah setelah pewarnaan maka alkohol harus diperiksa dengan *hydrometer*.
 - 5) *Xylool* harus sering diganti, jika tidak diganti maka dapat menyebabkan gangguan pada slide yang dilihat secara mikroskopis terlihat tetesan air kecil.
- c. Keunggulan Pewarnaan *Papanicolaou*
- Keuntungan yang didapatkan dari metode pewarnaan *Papanicolaou* menurut (Mukawi, 2013)adalah :
- 1) Pewarnaan inti sel dilakukan dengan baik, sehingga memungkinkan pengamatan yang jelas terhadap perubahan yang terjadi jika terdapat keganasan.
 - 2) Sitoplasma diwarnai menggunakan pewarna berbeda dari pewarna utama, sehingga warna inti sel terlihat lebih kontras.
 - 3) Melalui pewarnaan cerah pada sitoplasma, sel-sel lain yang tumpang tindih di bawahnya dapat terlihat dengan jelas.

5. Penilaian Kualitas Sediaan

Menurut (Kristian, 2017) Keakuratan pemeriksaan sitologi pada berbagai bagian tubuh dipengaruhi oleh kualitas persiapan, pewarnaan, dan interpretasi hasil. Adanya kekurangan di setiap tahap prosedur dapat berdampak buruk pada kualitas sediaan sitologi. Namun, kualitas sediaan tersebut dapat ditingkatkan melalui berbagai langkah, seperti pendidikan berkelanjutan, sertifikasi dan akreditasi laboratorium, serta penerapan jaminan dan pengendalian kualitas. Selain itu, penggunaan teknologi komputer, peningkatan teknik persiapan sampel, serta prosedur kuantitatif dan analitis juga berperan penting. Tak ketinggalan, pemanfaatan teknologi canggih, termasuk otomatisasi dalam persiapan, dapat meningkatkan kualitas hasil pemeriksaan.

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

- a) Cara pengambilan spesimen
- b) Fiksasi juga bahan fiksatif
- c) Proses pembuatan preparat sitologi
- d) Pewarnaan dan penutupan preparat sitologi

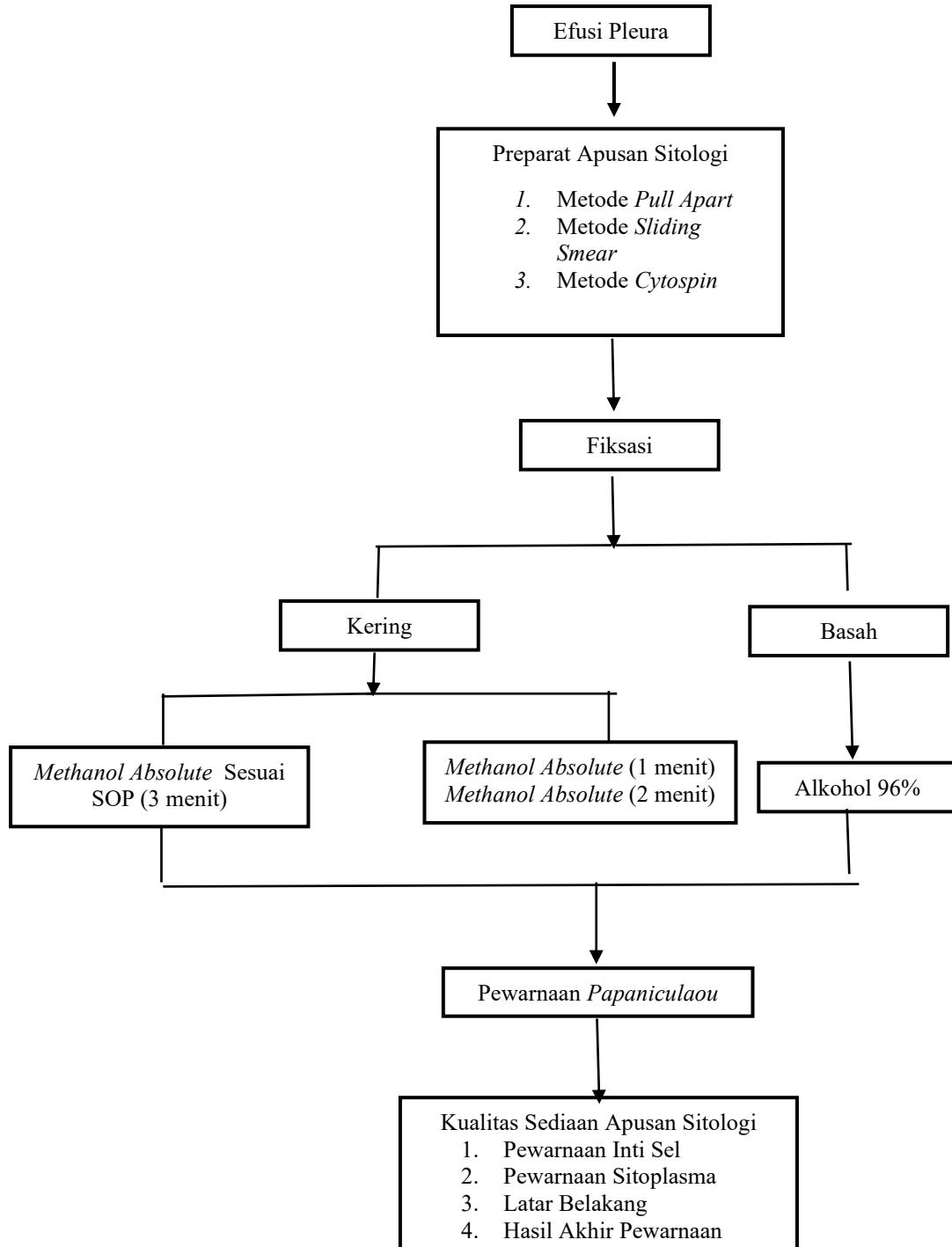
Menurut (Thakur, 2017) yang dimodifikasi, kualitas pewarnaan sediaan dinilai dari 4 parameter dan masing-masing diberi skor 1-2, dengan skor total yang mencapai 80% dapat dikatakan baik. Kualitas sediaan dikatakan baik apabila mendapatkan nilai 6-8, kualitas sediaan dikatakan tidak baik apabila mendapatkan nilai 4-5.

Tabel 2. 1 Parameter Penilaian

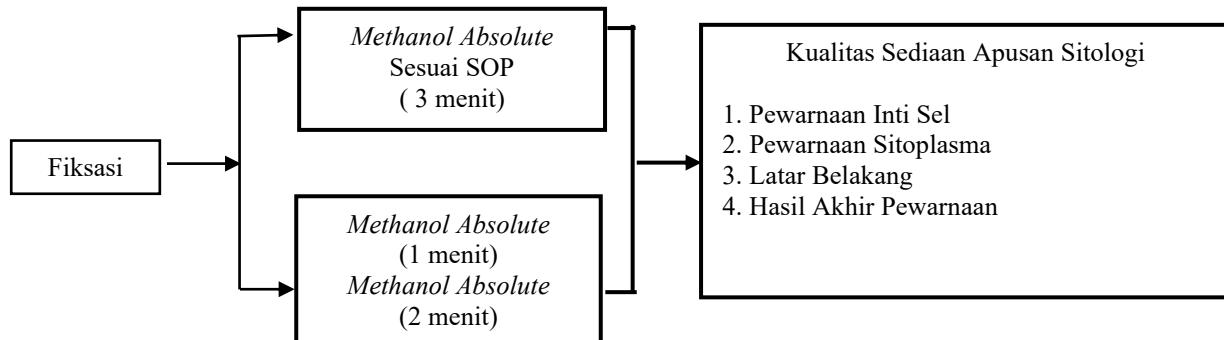
No.	Parameter Penilaian	Skor
1.	Background/Latar Belakang	
	Hemoragik	1
	Bersih	2
2.	Pewarnaan Sitoplasma	
	Tidak Baik	1
	Baik	2
3.	Pewarnaan Inti Sel	
	Inti sel tidak jelas	1
	Inti jelas	2
4.	Hasil Akhir Pewarnaan	
	Tidak Baik	1
	Baik	2

Sumber : Thakur (2017) yang dimodifikasi dengan BPMPI

B. Kerangka Teori



C. Kerangka Konsep



D. Hipotesis

H₀ : Tidak ditemukan perbedaan kualitas sediaan apusan sitologi pleura pada tahapan fiksasi dengan pewarnaan *Papaniculaou*.

H₁ : Ada perbedaan kualitas sediaan apusan sitologi pleura pada tahapan fiksasi dengan pewarnaan *Papaniculaou*.