

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

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

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

Pleura adalah bagian dari membran serosa yang melapisi permukaan bagian dalam dinding dada disisi kanan maupun kiri. Ruang sempit di antara dua lapisan pleura ini disebut rongga pleura, yang biasanya berisi sedikit cairan pleura. Cairan ini berada di rongga pleura yang dikelilingi oleh dua lapisan mesotelium pleura yaitu lapisan viseralis yang melapisi paru-paru dan lapisan parietalis yang melapisi rongga dada. Cairan pleura berfungsi sebagai pelumas agar kedua lapisan ini tidak saling bergesekan. Rongga pleura hanya berisi sekitar 10-20 ml cairan dalam keadaan normal (Syahrudin dkk, 2009). Cairan pleura ini kemudian diserap kembali melalui saluran limfatik dan venula di pleura viseralis. Ketidakseimbangan antara jumlah cairan yang diproduksi dan kemampuan tubuh untuk menyerapnya, cairan tersebut akan menumpuk dan kondisi ini disebut efusi pleura. (Simanjuntak, 2014).

Efusi pleura adalah kondisi dimana terjadi penumpukan cairan yang berlebihan dalam rongga pleura. Kelebihan cairan pleura ini disebabkan oleh peningkatan produksi cairan atau penurunan penyerapan cairan antara pleura parietal dan pleura viseral. Penumpukan cairan ini biasanya terkait dengan berbagai penyakit infeksi serta keganasan, baik di paru-paru maupun diluar organ paru-paru (Syahrudin dkk, 2009). Gejala yang dialami pasien efusi pleura meliputi sesak napas yang terus-menerus, perasaan berat saat bernapas, dan nyeri dada, yang dapat menghambat aktivitas sehari-hari pasien (Simanjuntak, 2014).

Efusi pleura ganas adalah salah satu komplikasi umum yang terjadi pada pasien dengan kanker, terutama disebabkan oleh kanker payudara dan kanker paru. Pasien dengan kanker pleura metastatik atau primer sekitar 50-60% menunjukkan manifestasi klinis efusi pleura. Mesotelioma (kanker pleura primer) juga sering disertai efusi pleura,

dan sekitar 50% pasien dengan kanker payudara akhirnya mengalami efusi pleura. Dokter biasanya melakukan wawancara medis, pemeriksaan medis, pemeriksaan fisik, pemeriksaan radiologi, serta analisis cairan pleura sebagai pemeriksaan tambahan untuk mendiagnosis efusi pleura (Puspita dkk, 2013).

## **2. Preparat Apusan Sitologi**

Pemeriksaan sitologi adalah cara untuk melihat struktur sel dengan tujuan mendeteksi kanker serta gangguan genetik dan hormonal. Pemeriksaan cairan pleura sangat penting untuk menentukan tindak lanjut atau terapi yang akan diberikan. Nilai dengan sensitivitas 91-94%, spesifisitas 93%, dan akurasi 87% pemeriksaan sitologi sangat berguna dalam membantu diagnosis (Djanah, 2020).

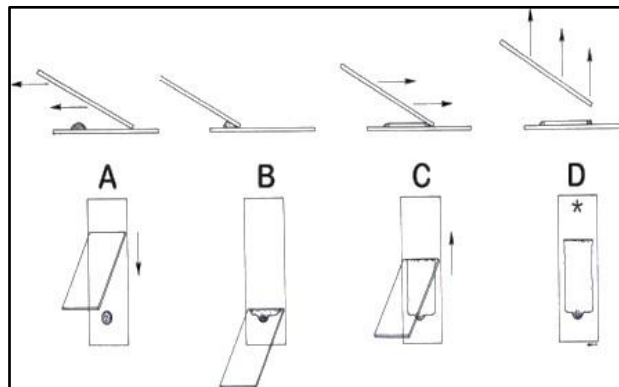
Prinsip kerja apusan sitologi adalah dengan meletakkan satu tetes cairan pleura diatas kaca objek, kemudian dipulas, dicat, dan diperiksa dengan mikroskop. Apusan harus dipersiapkan dengan hati-hati agar hasilnya maksimal. Langkah pertama adalah memisahkan supernatan dari endapan cairan dengan cara sentrifugasi, diikuti dengan fiksasi. Penting untuk memastikan sediaan tidak terlalu kering sebelum proses fiksasi, karena jika terlalu kering, sel bisa rusak dan hasil pewarnaan jadi kurang jelas. Fiksasi sendiri bertujuan untuk membuat struktur sel lebih jelas pada saat diperiksa di mikroskop (Astuti dkk, 2017).

Langkah-langkah yang dilakukan untuk membuat sediaan sitologik dengan teknik oles menurut Khristian (2017) sebagai berikut:

1. Perhatikan bentuk dan kondisi spesimen cairan, lalu catat deskripsinya pada formulir permintaan.
2. Tuangkan spesimen ke dalam 15-50 ml tabung sentrifius (tergantung dari perkiraan jumlah sel berdasarkan kekeruhan), kemudian putar tabung sentrifius selama 10 menit dengan kecepatan berkisar 1.200-1.500 rpm, tunggu sampai selesai.
3. Siapkan dua slide kaca yang sudah diberi label.
4. Tuang cairan supernatan (cairan paling atas) kembali ke wadah spesimen asal. Sisakan supernatan kurang lebih 1/3 bagian ketika

spesimen memiliki endapan yang tebal dari sedimen atau ketika sedimen sangat tipis bahkan hampir tidak terlihat maka supernatan diusahakan terbuang dan tidak ada tetesan kurang lebih 2-3 detik.

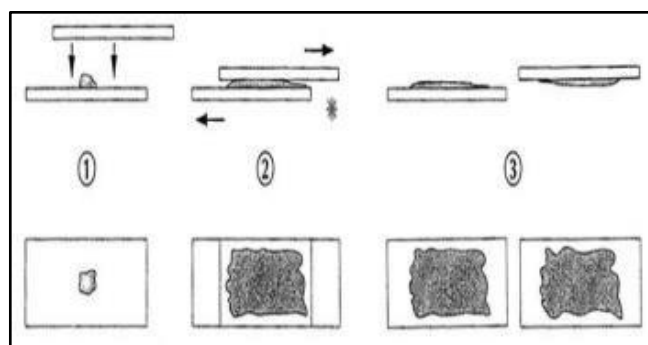
5. Endapan yang terbentuk dihomogenkan dengan mengetukkan tabung menggunakan vortex sampai cairannya kembali tercampur.
6. Teteskan satu atau dua tetes pada sisi objek gelas.
7. Pembuatan sediaan dilakukan dengan salah satu metode (a atau b)
  - a. Metode "*pull-apart*" (tarik dan dorong), lakukan hingga sedimen menyebar merata pada permukaan dengan menggunakan objek gelas yang lain.



Sumber : (Khristian,2017)

Gambar 2.1. Teknik pembuatan preparat apusan metode "*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 metode "*sliding smear*"

8. Endapan yang tersisa di dalam tabung sentrifius disimpan sampai hasil diagnosisnya keluar.

9. Sediaan yang telah jadi dilakukan dengan tahap fiksasi (baik yang kering atau basah) tergantung dari formulir permintaan.

### 3. Keuntungan Apusan Sitologi

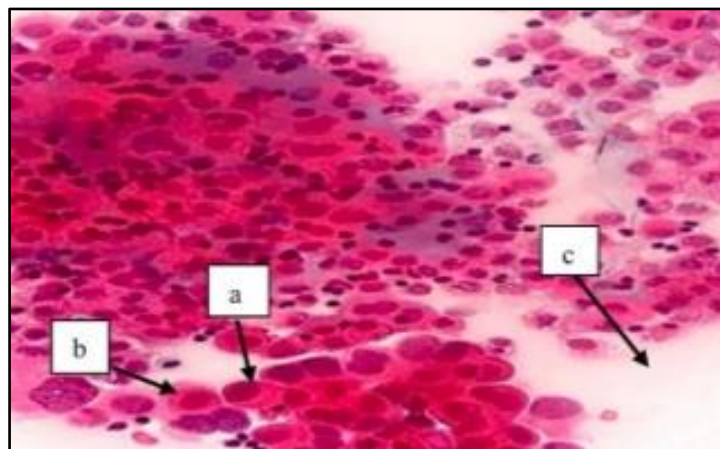
Samari (2018), menyatakan pemeriksaan sitologi memiliki beberapa keunggulan, yaitu:

- a. Prosesnya mudah, cepat, dan sederhana
- b. Cocok untuk pemeriksaan dalam jumlah besar
- c. Efektif dalam mendiagnosis tumor pada saluran pencernaan, paru-paru, saluran kemih, dan lambung
- d. Hasil positif dapat diperoleh dengan pemeriksaan langsung

### 4. Pewarnaan Papanicolaou

Tahap pewarnaan (*staining*) adalah langkah terakhir dalam pembuatan preparat sitologi. Proses pewarnaan dilakukan setelah sediaan difiksasi untuk mempermudah pengamatan mikroskopis dan membedakan bagian-bagian yang akan diperiksa di bawah mikroskop, seperti sitoplasma, inti sel, dan lainnya (Ellyawati, 2018).

Pewarnaan *Papanicolaou* digunakan untuk sediaan sitologi. Hematoksilin memberikan pewarnaan terbaik untuk inti sel, sementara kombinasi pewarna OG 6 dan EA 50 memberikan warna yang halus pada sitoplasma sel (Bancroft, 2008). Metode pewarnaan *Papanicolaou* adalah teknik multikromatik yang umum dalam sitologi, memungkinkan pewarnaan sel dengan fiksasi basah.



Sumber: (Samari, 2018)

Gambar 2.3. 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 diagnosis pemeriksaan apusan sitologi (Astuti dkk, 2017).

a. Cat utama yang digunakan dalam pewarnaan *Papanicolaou*

- 1). Hematoxylin, menggunakan *Harris Hematoxyline* regresif, sel-sel yang *overstained* dan kelebihan *Hematoxyline* dihilangkan dengan ekstraksi diferensial di HCl.
- 2) Eosin-Alkohol (EA-50), memiliki formula yang sama digunakan untuk pengecatan kasus ginekologik/non ginekologik, untuk melihat reaksi pewarnaan sitoplasma.
- 3) Bluing, substitusi kebiruan solusio dapat digunakan untuk memperjelas bentuk atau struktur sel
- 4) Alkohol bertingkat (50%, 70%, 80%, dan 95%) untuk hidrasi dan dehidrasi menghindari terjadinya penyusutan pada sel.

b. Keunggulan Pewarnaan *Papanicolaou* menurut Mukawi (2013)

- 1) Mewarnai sel dengan jelas, sehingga dapat digunakan untuk melihat inti apabila terdapat kemungkinan keganasan.
- 2) Pewarnaan *Papanicolaou* menggunakan pewarna banding yang berbeda dengan pewarna utama untuk mewarnai sitoplasma, sehingga warna inti tampak lebih kontras dan jelas.
- 3) Warna cerah yang dihasilkan oleh sitoplasma memungkinkan dapat dilihatnya sel-sel lain yang saling bertumpuk.

c. Kualitas reagen dalam pewarnaan *Papanicolaou*

- 1) Kualitas reagen harus disesuaikan dengan volume dan sifat bahan yang digunakan. Hematoksin biasanya tetap stabil dalam pewarnaan karakteristik dan jarang perlu diganti jika ditambahkan secara teratur setiap hari.
- 2) Reagen OG-EA perlu diganti lebih sering dibandingkan Hematoksin, biasanya setiap minggu atau segera setelah warna sel tampak abu-abu, kusam, atau kontrasnya tajam.

- 3) Larutan bluing harus diganti setidaknya sekali sehari.
- 4) Alkohol yang digunakan untuk proses rehidrasi dan dehidrasi sebelum pewarnaan sitoplasma harus diperiksa dengan hydrometer dan diganti setiap minggu atau bahkan setiap hari untuk menghindari pencemaran larutan alkohol. Perubahan ini biasanya terjadi setelah pewarnaan sitoplasma.

## 5. Fiksasi

Fiksasi adalah proses yang bertujuan untuk menjaga komponen sel tetap utuh dan mencegah perubahan struktur sel. Proses ini membuat sel menjadi keras, sehingga bisa tahan terhadap bahan kimia yang akan digunakan, dan juga mencegah perubahan struktur protein yang bisa rusak akibat aktivitas bakteri (Tasry, 2018). Fiksasi yang dilakukan dalam pembuatan sediaan sitologi dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu fiksasi kering dan fiksasi basah. Sediaan yang dilakukan dengan fiksasi basah segera direndam dalam larutan fiksasi setelah spesimen diambil dalam kondisi lembab (Khristian, 2017).

Fiksasi pada sediaan sitologi harus memenuhi beberapa kriteria yang sama dengan fiksasi pada sediaan jaringan. Kriteria yang perlu dipertimbangkan dalam fiksasi sediaan sitologi adalah:

- a. Kemampuan fiksatif untuk cepat menembus sel.
- b. Mengurangi kerusakan atau kehilangan komponen sel.
- c. Mempertahankan struktur dan komponen sel.
- d. Menghentikan proses metabolisme autolisis.
- e. Meningkatkan diferensiasi optik serta kualitas pewarnaan struktur dan komponen sel (Khristian, 2017).

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

- a. pH  
pH optimal untuk fiksasi adalah 7,2. Perubahan pH dapat mempengaruhi jumlah ion dan memperlambat reaksi, yang berdampak pada hasil yang terlihat di mikroskop.

a. Perubahan Volume

Penggunaan alkohol untuk fiksasi dalam waktu lama bisa menyebabkan sel menyusut. Volume sel harus tetap normal agar sel tetap terlihat seperti sel hidup.

b. Suhu

Suhu ruangan ideal untuk fiksasi adalah 25-30°C. Lamanya proses fiksasi tergantung pada jenis fiksatif yang digunakan,

c. Konsentrasi

Konsentrasi fiksatif yang tepat dapat mempercepat proses fiksasi dengan mempengaruhi pembentukan molekul.

Proses fiksasi yang efektif harus memenuhi beberapa kriteria berikut:

- a. Fiksasi harus dilakukan dengan cepat dan merata.
- b. Fiksasi harus praktis dan ekonomis.
- c. Fiksasi harus mencegah pembusukan bakteri dan autolisis.
- d. Fiksasi harus menghasilkan gambaran mikroskopik yang jelas.
- e. Fiksasi harus aman, tanpa menyebabkan iritasi, dan toksisitas.
- f. Fiksasi tidak boleh menyebabkan penyusutan, pembengkakan, atau perubahan lain pada sel.
- g. Fiksasi harus membuat jaringan menjadi tahan lama.

## 6. Alkohol

*Alkohol 96%* adalah salah satu larutan fiksatif yang digunakan dalam sitopatologi khususnya pada metode pewarnaan *papanicolaou*. *Alkohol* dipilih karena kemampuannya untuk menembus cepat dan mengkoagulasi protein (Prasetyani, 2017). *Alkohol 96%* sudah lama digunakan sebagai fiksatif standar dalam sitologi untuk mengawetkan morfologi sel. *Alkohol 96%* memiliki kekurangan seperti mudah terbakar dan dapat menyebabkan efek inflamasi pada kulit dan mata. *Alkohol 96%* memiliki efek dehidrasi yang tinggi, yang dapat membuat sel menjadi lebih menyusut (Prasetyani, 2017).

Ahmed dkk (2020), menyatakan bahwa sel yang difiksasi dengan metakarn menunjukkan sedikit atau tidak ada penyusutan dibanding dengan sel yang difiksasi dengan *Alkohol 96%*, terutama dalam sel

endotel dan epitel lebih menonjol dalam jaringan yang difiksasi metakarn daripada dalam jaringan yang difiksasi dengan *Alkohol 96%*. Kelemahan lainnya yang menjadi tantangan bagi ahli sitologi yaitu kurangnya kemampuan *Alkohol 96%* dalam menghemolisis sel darah merah yang terdapat pada latar belakang sediaan sehingga dapat mengganggu dan menyebabkan kesalahan dalam pengambilan interpretasi hasil pemeriksaan (Syamsi dkk, 2012).

## 7. *Carnoy*

Diagnosis sitologi sangat bergantung pada morfologi sel yang terlihat jelas. Analisis cairan tubuh dapat terhambat jika terdapat banyak sisa sel darah merah dalam sediaan. Larutan *Carnoy* adalah larutan fiksatif yang dapat mengurangi sisa-sisa perdarahan dalam sediaan, yang terdiri dari 60 ml etanol, 30 ml kloroform, dan 10 ml asam asetat glasial. Larutan *Carnoy* memiliki keunggulan dalam penetrasi cepat, sehingga proses fiksasi dapat diselesaikan lebih cepat. Fiksasi dengan larutan ini juga baik serta efektif dalam melihat dan mempertahankan detail dari inti serta glikogen (Khristian, 2017). Larutan *Carnoy* sangat cocok untuk spesimen yang hemoragik, karena asam asetat dalam larutan fiksatif ini dapat melisis sel darah merah, erosit, serta lipid. Kelebihan yang dimiliki oleh larutan *Carnoy* selain dapat mengurangi sisa darah pada latar belakang sediaan juga dapat membuat slide lebih bersih dan menghasilkan pewarnaan yang bagus pada sitoplasma dan inti sel tanpa merusak struktur sel tersebut. Larutan *Carnoy* juga lebih efektif untuk mendiagnosis sel yang mengalami peradangan dan mikroorganisme patogen dalam sediaan (Syamsi dkk, 2012).

Ahmed (2020), mengatakan bahwa larutan *Carnoy* juga digunakan untuk mengawetkan jaringan karena dapat mengurangi penyusutan dan distorsi yang sering terjadi pada jaringan yang difiksasi dengan alkohol absolut dan asam asetat. Penelitian yang lain juga menunjukkan bahwa *Carnoy* adalah fiksatif terbaik untuk mengawetkan asam nukleat dalam jaringan. *Carnoy* memberikan hasil yang memuaskan dalam pemrosesan jaringan selanjutnya. Penggantian etanol dengan metanol



dalam fiksatif *Carnoy* menghasilkan metakarbon, yang terbukti sangat efektif untuk mengawetkan RNA jaringan. Cairan *Carnoy* juga disarankan untuk digunakan dalam pewarnaan protein berserat dan karbohidrat dalam teknik pewarnaan histokimia dan pewarnaan khusus.

## **8. Penilaian Kualitas Sediaan**

Akurasi pemeriksaan sitologi dari bagian-bagian tubuh sangat tergantung pada kualitas sediaan, persiapan, pewarnaan dan interpretasi hasil dari sediaan. Hasil pemeriksaan dapat terganggu jika ada kekurangan disalah satu tahap ini. Pendidikan yang terus-menerus, sertifikasi dan akreditasi laboratorium, serta penerapan jaminan kualitas dan pengendalian mutu adalah upaya untuk meningkatkan kualitas sediaan sitologi. Penggunaan teknologi canggih, seperti komputerisasi dan otomatisasi dalam proses pembuatan sediaan, juga membantu dalam pembuatan sediaan sitologi tersebut (Khristian dkk, 2017).

Faktor-faktor yang perlu diperhatikan agar hasil interpretasi dari sediaan sitologi akurat yaitu:

- a. Cara pengambilan spesimen.
- b. Proses fiksasi dan jenis fiksatif yang digunakan.
- c. Teknik pembuatan sediaan sitologik.
- d. Proses pewarnaan dan penutupan sediaan.

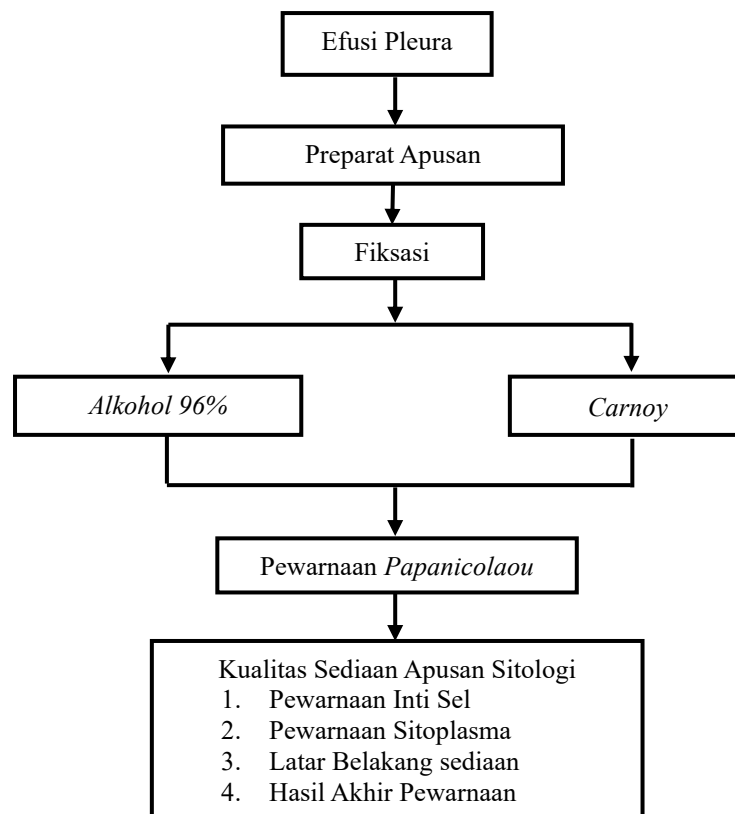
Kualitas pewarnaan dinilai dari 4 parameter, dan masing-masing diberikan skor dengan skor 1-2 pada setiap parameter. Skor 1 diberikan jika didapatkan hasil tidak baik dan skor 2 diberikan jika didapatkan hasil baik. Kualitas sediaan dikatakan baik jika mendapatkan skor 7-8 dengan presentase minimal 80% dan dikatakan tidak baik apabila total skor 4-6 (Shastri 2020 yang dimodifikasi BPMPPi).

Tabel 2.1. Parameter Penilaian

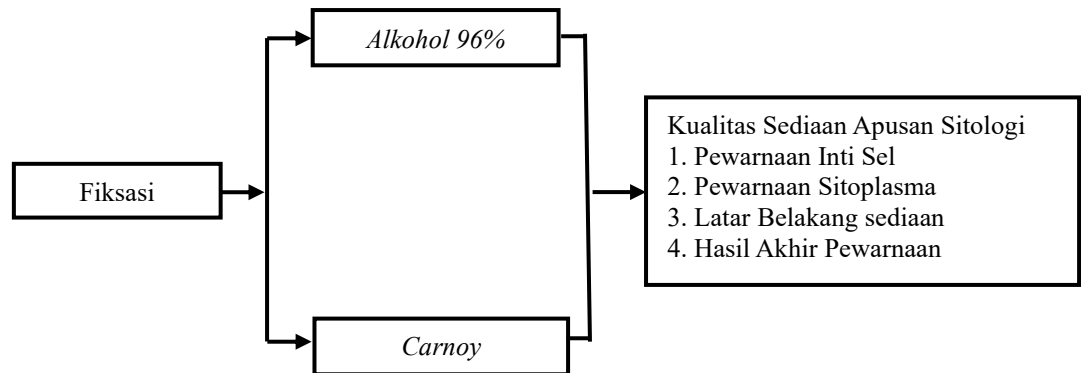
No	Parameter Penilaian	Skor
1.	Karakteristik Inti Sel	
	Inti sel tidak jelas	1
	Inti sel jelas	2
2.	Pewarnaan Sitoplasma	
	Tidak baik	1
	Baik	2
3.	Latar Belakang	
	Hemoragic	1
	Bersih	2
4.	Hasil Akhir Pewarnaan	
	Tidak baik	1
	Baik	2

Sumber: (Shastri, 2020) yang dimodifikasi BPMPPPI

## B. Kerangka Teori



### C. Kerangka Konsep



### D. Hipotesis

$H_0$  : Tidak ada perbedaan kualitas sediaan apusan sitologi pleura hemoragik berdasarkan pewarnaan inti sel, pewarnaan sitoplasma, latar belakang sediaan, dan hasil akhir pewarnaan.

$H_1$  : Ada perbedaan kualitas sediaan apusan sitologi pleura hemoragik berdasarkan pewarnaan inti sel, pewarnaan sitoplasma, latar belakang sediaan, dan akhir pewarnaan.