

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Sitologi

Sitologi merupakan salah satu cabang ilmu biomedis yang mempelajari morfologi sel khususnya yang berasal dari berbagai cairan tubuh manusia seperti urin, sputum, cairan serebrospinal, dan efusi rongga tubuh. Melalui pemeriksaan sitologi, dapat dilakukan identifikasi terhadap karakteristik morfologi sel untuk menilai kondisi fisiologis maupun patologis suatu jaringan atau organ (Permatasari *et al.*, 2022).

Pemeriksaan sitologi bertujuan untuk mengidentifikasi perubahan seluler yang mencerminkan kondisi fisiologis maupun patologis suatu jaringan. Proses pemeriksaan sitologi dilakukan melalui tahapan laboratorium yang meliputi fiksasi untuk mempertahankan struktur sel, dilanjutkan dengan proses sentrifugasi untuk memisahkan endapan sel, hingga pembuatan preparat apusan (*smear*) di atas kaca ojek. Preparat tersebut kemudian diwarnai dan diamati menggunakan mikroskop untuk menilai morfologi serta mendeteksi adanya perubahan seluler yang signifikan (Nurhilalayah *et al.*, 2024).

Menurut Plyth (2022) ada dua metode pengumpulan sel untuk analisis sitopatologi yaitu:

1. Sitologi Eksfoliatif

Metode ini bertujuan untuk memperoleh sel-sel yang terlepas secara alami dari permukaan epitel (eksfoliasi spontan) atau

yang dilepaskan melalui proses mekanis. Misalnya, pada eksfoliasi spontan dapat ditemukan pada berbagai jenis cairan tubuh, seperti sputum, urin, sekret vagina. Sedangkan pada pemeriksaan eksfoliasi mekanis diperoleh dengan cara pengikisan atau penyapuan permukaan jaringan.

2. Sitologi Intervensi

Metode ini diperlukan prosedur medis untuk memperoleh sampel sel secara langsung dari jaringan tubuh pasien dengan tujuan diagnostik. Misalnya, Sitologi Asprasi Jarum Halus (Fine Needle Aspiration Cytology atau FNAC) yang proses pengambilan sampelnya menggunakan jarum yang terpasang pada spuit.

B. Sitologi Eksfoliatif

Sitologi eksfoliatif merupakan metode pemeriksaan sitologi yang bersifat cepat, sederhana, dan non-invasif. Dalam sitologi eksfoliatif, sel diperoleh dari permukaan jaringan tubuh yang memiliki lapisan epitel kaya sel, seperti mukosa rongga mulut, sekret vagina, dan organ epitel lainnya, untuk kemudian dianalisis secara mikroskopis (Nurhilaliyah *et al.*, 2024).

Pemeriksaan sitologi eksfoliatif digunakan untuk menilai kondisi morfologis sel dalam mendeteksi adanya kelainan, baik yang bersifat fisiologis maupun patologis. Sitologi eksfoliatif berperan penting dalam mendeteksi proses keganasan, perubahan mikrobiologis, serta dalam analisis kadar hormon yang berhubungan dengan aktivitas seluler tertentu (HS *et al.*, 2021).

Metode pengambilan sampel sitologi mukosa oral dapat dilakukan dengan beberapa teknik, yaitu kerokan (*scraping*), sikatan (*brushing*), dan usapan (*swabbing*). Teknik kerokan dapat dilakukan secara lembut maupun kuat tergantung pada lokasi dan kondisi area mukosa yang akan diambil. Teknik usapan (*swab*) merupakan salah satu metode pengambilan sampel sitologi mukosa oral yang sederhana dan non-invasif. Prinsip dari teknik usapan (*swab*) ini adalah mengumpulkan sel sel epitel yang terlepas secara mekanis melalui proses gesekan lembut dan berulang antara alat *swab* dan permukaan mukosa yang akan diambil. Salah satu area yang dapat dijadikan lokasi pengambilan sampel adalah palatum durum (langit-langit mulut keras) karna memiliki epitel skuamosa berlapis pipih terkeratinisasi dan melekat kuat pada jaringan dibawahnya (Sabirin Indah Puti, 2015).

C. Sediaan Sitologi

Sediaan sitologi dapat diperoleh dari berbagai sumber dalam tubuh, misalnya urin, sputum, sekret vagina, dan cairan lainnya. Sediaan sitologi yang dapat diperoleh dari hasil kerokan, seperti kerokan mukosa bukal, lambung, dan saluran pernafasan. Pengumpulan sampel ini mencakup penarikan efusi cairan dari rongga serosa (perikardium, peritoneum, serta pleura) hingga ekstraksi cairan dari massa atau nodul yang teraba atau terlihat (Permatasari *et al.*, 2022).

Menurut Nurhilaliyah *et al* (2024) hal-hal yang harus diperhatikan sebelum pembuatan sediaan sitologi yaitu:

1. Pastikan kaca objek dalam keadaan bersih dan bebas dari kotoran agar tidak mengganggu penempelan dan pewarnaan sel.
2. Hindari teknik penyemprotan tanpa penyebaran, karena dapat menyebabkan penumpukan sel sehingga morfologi menjadi sulit diinterpretasikan.
3. Lakukan pembuatan apusan dengan tekanan yang lembut untuk mencegah kerusakan atau deformasi sel.
4. Segera lakukan proses fiksasi setelah apusan dibuat untuk mencegah terjadinya autolisis dan artefak.

D. Mukosa Mulut

Lapisan lendir yang melapisi bagian dalam rongga mulut dikenal sebagai mukosa mulut, yang tersusun atas epitel skuamosa (epitel oral) dan lapisan jaringan ikat pendukung (lamina propia). Keadaan mukosa ini kerap dijadikan parameter awal kondisi tubuh secara umum karena rentan menampilkan manifestasi dari suatu gangguan kesehatan. Selain itu, mukosa mulut berfungsi sebagai benteng pertahanan primer yang melindungi jaringan internal dari serangan mikroba patogen serta paparan senyawa karsinogenik (zat pemicu kanker) (Pehan Laurensia Rivoniarti *et al.*, 2024).

Struktur epitel dibentuk oleh beberapa strata seluler, mulai dari sel basal, prabasal, intermediet, sampai sel superfisial. Setiap tingkatan sel ini secara teratur mengalami fase pembelahan, proses pendewasaan sel, hingga akhirnya lepas atau meluruh dari jaringannya (Rahmawati *et al.*, 2018).

Lapisan terdalam epitel oral ini dibentuk oleh selapis sel kubus yang memiliki kapasitas pembelahan (mitosis) dan sintesis materi genetik secara aktif guna pembentukan sel-sel anyar. Di antara seluruh strata epitelium rongga mulut, sel pada lapisan basal berada pada tahap diferensiasi yang paling minimal (Wardana Refangga, 2022).

Karena letaknya di strata epitel paling dasar, sel basal dan parabasal umumnya tidak terangkat saat pengambilan sampel dilakukan dengan usapan sikat ringan. Meskipun demikian, kemunculan kedua jenis sel ini pada sediaan sitologi dapat dijumpai sewaktu terjadi kelainan jaringan, seperti pada kasus ulserasi mukosa maupun karies gigi (Rahmawati *et al.*, 2018).

Dibandingkan sel basal dan superfisial, kapasitas proliferasi terbesar justru dimiliki oleh sel intermediet. Keseimbangan dinamis antara pembelahan selular dan pemusnahan sel pada jaringan normal memegang peranan vital dalam memelihara keseimbangan fisiologis (homeostasis) pada epitel (Primasari & Cynthia, 2018).

E. Fiksasi

Fiksasi merupakan tahap awal yang sangat menentukan dalam pemeriksaan sitologi. Tujuan fiksasi adalah untuk mempertahankan sel dan jaringan agar tidak mengalami perubahan morfologi akibat pengeringan, autolisis, atau reaksi kimia lingkungan (Nurhilaliyah *et al.*, 2024).

Menurut Nurhilaliyah *et al.* (2024) fiksasi sediaan sitologi terbagi menjadi beberapa bagian yaitu :

1. Fiksasi Basah

Fiksasi basah merupakan fiksasi sediaan sitologi yang harus segera dimasukkan kedalam larutan fiksatif setelah pengambilan spesimen.

2. Fiksasi Kering

Fiksasi kering merupakan fiksasi sediaan sitologi yang sediaanannya dikeringkan terlebih dahulu sebelum dimasukkan kedalam larutan fiksatif.

3. Fiksasi *coating*

Fiksasi *coating* merupakan metode fiksasi yang digunakan sebagai alternatif fiksasi basah. Prosedur ini dilakukan dengan menyemprotkan larutan fiksatif pada sediaan sitologi. Fiksatif ini sangat praktis untuk situasi dimana sediaan sitologi harus dikirim ke laboratorium yang berlokasi jauh dari tempat pengambilan spesimen.

Kriteria yang harus diperhatikan dalam proses fiksasi sitologi menurut Nurhilalayah *et al.* (2024) yaitu :

1. Kemampuan fiksatif untuk menembus sel dengan cepat.
2. Mempertahankan keutuhan komponen dan struktur sel (kimiawi, enzim, imunologi) menyerupai kondisi hidup.
3. Mematikan metabolisme selular serta mencegah degradasi mandiri (autolisis)
4. Menghambat mikroorganisme dan menghentikan pembelahan sel.
5. Meningkatkan kontras visual agar hasil pewarnaan struktur sel lebih tajam.

Menurut Khristian & Inderiati (2017) faktor-faktor yang mempengaruhi fiksasi yaitu :

1. Suhu

Peningkatan suhu pada larutan fiksatif dapat mempercepat proses degenerasi jaringan, sehingga dapat menyebabkan kerusakan morfologi.

2. Volume

Volume larutan fiksatif merupakan faktor penting yang harus diperhatikan dalam proses fiksasi. Jumlah fiksatif yang dibutuhkan ditentukan oleh ukuran dan volume sediaan yang akan difiksasi, sedangkan ketebalan sediaan berpengaruh terhadap lamanya waktu fiksasi yang diperlukan agar larutan dapat menembus seluruh bagian sediaan secara optimal.

3. Tingkat Keasaman/pH

Tingkat keasaman suatu larutan (pH) merupakan parameter dalam proses fiksasi, khususnya apabila larutan fiksatif yang digunakan mengandung formaldehida. Nilai pH larutan fiksatif berkisar 6,8-7,2 agar struktur seluler tetap stabil dan tidak mengalami perubahan morfologi.

4. Konsentrasi

Konsentrasi larutan fiksatif berperan penting dalam menentukan efektivitas proses fiksasi. Peningkatan konsentrasi fiksatif dapat memberikan efek positif dengan mempercepat laju reaksi antara molekul fiksatif dan komponen seluler, sehingga proses penstabilan struktur jaringan berlangsung lebih cepat dan efisien.

F. Metanol

Metanol dikenal juga sebagai *carbinol* atau lebih umum disebut alkohol kayu, merupakan senyawa alkohol paling sederhana dengan rumus kimia CH_3OH . Metanol digunakan sebagai bahan dasar dalam sintesis berbagai senyawa kimia yang lebih kompleks, seperti asam asetat dan dimetil eter (Utama Naufal *et al.*, 2024).

Metanol merupakan larutan fiksatif yang umum digunakan pada sediaan sitologi berbasis cairan. Penggunaan metanol sebagai bahan fiksasi dinilai efektif karena mampu mempertahankan morfologi sel dengan baik.

Metanol yang sering digunakan untuk fiksasi sediaan sitologi adalah metanol absolut (Khristian & Inderiati, 2017).

G. Alkohol

Alkohol merupakan senyawa organik yang mengandung gugus fungsi hidroksil (-OH) dan umumnya berbentuk etanol atau *ethyl alcohol* (Atmaningsih Dewi, 2020).

Alkohol dengan konsentrasi 95-96% merupakan larutan fiksatif yang ideal dan banyak digunakan di laboratorium sitologi. Fiksasi menggunakan alkohol pada konsentrasi 95-96% mampu menghasilkan morfologi inti sel yang jelas dan optimal. Alkohol 95-96% bersifat sebagai larutan dehidrasi yang bekerja dengan menggantikan air di dalam sel, sehingga dapat menyebabkan penyusutan sel. Pemberian alkohol 95-96% dapat membuat sel merekat lebih kuat dengan kaca sediaan (Khristian & Inderiati, 2017).

H. Pewarnaan Sediaan Sitologi

Teknik pewarnaan sitologi merupakan salah satu tahap penting dalam pemeriksaan sitologi yang berfungsi untuk mengidentifikasi, memperjelas, serta menonjolkan struktur inti dan sitoplasma sel. Proses pewarnaan yang optimal akan menghasilkan kontras warna yang jelas antara inti dan sitoplasma, sehingga mempermudah interpretasi morfologi sel secara menyeluruh. Beragam metode pewarnaan dapat digunakan, seperti pewarnaan wright, diff-quick, giemsa, dan papanicolaou. Setiap

teknik pewarnaan memiliki komposisi larutan kimia dan tahapan kerja yang berbeda (Nurhilaliyah *et al.*, 2024).

Metode Giemsa menjadi pilihan pewarnaan yang umum diterapkan dalam pemetaan morfologi seluler serta pelacakan parasit pada bidang histopatologi dan evaluasi sitogenetik. Teknik ini mampu menampilkan struktur inti sel (nukleus) dan sitoplasma dengan kontras yang jelas. Prosedur pewarnaan giemsa tergolong sederhana, ekonomis, serta efisien dengan waktu pelaksanaan berkisar antara 25-30 menit (Sari, Bastian, & Realita, 2021).

Pewarnaan giemsa merupakan teknik pewarnaan mikroskopis yang namanya diambil oleh seorang peneliti malaria Gustav Giemsa. Pewarnaan ini menggunakan campuran zat warna eosin dan methil azur, zat warna eosin memberikan warna merah muda pada sitoplasma dan methylene blue pada inti (Nurjanah *et al.*, 2020).

Pevaluasi kualitas hasil pewarnaan mengacu pada sistem penilaian Shabeeba & Geetha. K, 2023 yang mencakup 3 indikator. Setiap indikator diberi poin 1 untuk kriteria yang optimal dan poin 0 untuk hasil yang tidak memenuhi standar. Kelayakan sediaan tergolong baik apabila mengumpulkan total poin 2–3, sementara akumulasi nilai 0–1 menunjukkan sediaan yang tidak baik.

Tabel 2.1 Kualitas Pewarnaan

No	Parameter Penilaian	Skor
1.	Background atau latar belakang	
a.	Latar belakang kotor, terdapat endapan pewarna, debris/artefak yang mengganggu pengamatan morfologi sel.	0
b.	Bidang pandang bersih, tidak ada endapan pewarna, butiran pewarna, atau debris/artefak.	1
2.	Kontras Inti dan Sitoplasma	
a.	Inti sel dan Sitoplasma tidak dapat dibedakan.	0
b.	Inti sel dan Sitoplasma dapat dibedakan dengan baik.	1
3.	Keseragaman Pewarnaan	
a.	Pewarnaan tidak merata, ada bagian terlalu pekat/pucat, atau sel di area tertentu tidak terwarnai sempurna.	0
b.	Warna merata di seluruh area preparat, baik pada inti maupun sitoplasma, tanpa perbedaan intensitas antar sel.	1

Sumber : Shabeeba & Geetha. K, 2023.

