

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. SITOLOGI

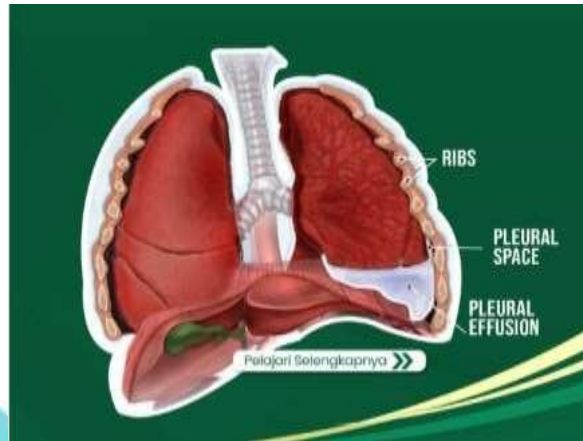
1. Definisi Sitologi

Sitologi adalah metode pemeriksaan diagnostik yang berfokus pada analisis sel-sel yang berasal dari cairan tubuh maupun permukaan jaringan untuk mengidentifikasi adanya kelainan, seperti proses peradangan atau keganasan. Pada kasus efusi pleura, pemeriksaan sitologi memiliki peranan penting karena mampu mendeteksi keberadaan sel-sel tumor, sel inflamasi, serta perubahan morfologi sel yang dapat memberikan petunjuk terhadap penyebab terjadinya efusi tersebut (Aulia Utami et al., 2024)

2. EFUSI PLEURA

Efusi pleura merupakan kondisi patologis yang ditandai oleh penumpukan cairan secara abnormal di dalam rongga pleura, yaitu ruang sempit antara pleura viseral dan parietal yang menyelimuti paru-paru. Secara fisiopatologis, efusi pleura terjadi akibat ketidakseimbangan antara produksi dan absorpsi cairan pleura, yang dapat disebabkan oleh peningkatan tekanan hidrostatik, penurunan tekanan onkotik, peningkatan permeabilitas kapiler, atau gangguan drainase limfatik. Akumulasi cairan ini dapat berbentuk transudat atau eksudat, dengan etiologi yang beragam seperti gagal jantung kongestif infeksi termasuk tuberkulosis dan pneumonia, serta keganasan seperti kanker paru dan metastasis pleura. Penanganan efusi pleura fokus pada terapi penyebab utama sekaligus perawatan simptomatik seperti drainase

cairan pleura untuk mengurangi beban klinis.



Komplikasi serius yang dapat muncul antara lain empiema dan fibrosis pleura, sementara prosedur pleurodesis sering diperlukan pada kasus efusi berulang, khususnya yang berkaitan dengan keganasan, untuk mencegah re-akumulasi cairan. Konsep ini penting dalam memahami pendekatan diagnosis, terapi, dan manajemen klinis pasien dengan efusi pleura (Supriantarini & Afifah, 2025)

Pemeriksaan sitologi pada cairan efusi pleura dilakukan dengan tujuan mendeteksi adanya sel atipikal atau sel ganas serta sel inflamasi yang dapat memberikan informasi tentang etiologi efusi tersebut. Keakuratan diagnosis melalui pemeriksaan sitologi sangat dipengaruhi oleh kualitas sediaan yang dihasilkan, di mana tahap penting yang harus dilakukan dengan teliti meliputi proses fiksasi dan pewarnaan preparat. Dengan pemrosesan sediaan yang optimal, pemeriksaan sitologi dapat memberikan kontribusi yang

signifikan dalam menentukan diagnosis dan strategi penanganan klinis efusi pleura berdasarkan karakter seluler yang ditemukan dalam cairan tersebut (Vansugisti, 2025)

3. PEWARNAAN SITOLOGI

Pewarnaan dalam sitologi memiliki peran penting dalam memvisualisasikan morfologi seluler yang menjadi dasar penentuan diagnosis sitopatologis. Dalam praktik laboratorium sitologi modern, teknik pewarnaan tidak hanya bertujuan untuk memperjelas struktur inti dan sitoplasma, tetapi juga harus memperhatikan kesesuaian dengan metode preparasi seperti apusan konvensional, cytospin, atau liquid-based cytology. Selain itu, teknik pewarnaan harus mendukung kebutuhan pemeriksaan cepat (ROSE) dan memungkinkan penggunaan sampel untuk pemeriksaan lanjutan seperti imunositokimia dan analisis molekuler. Standarisasi protokol pewarnaan serta pemrosesan pra-analitik, termasuk kondisi pengiriman dan fiksasi, menjadi faktor penting untuk menjamin konsistensi hasil dan keakuratan diagnosis pada sampel efusi pleura maupun sampel sitologi lainnya. (Shidham, 2022)

Pewarnaan Papanicolaou (Pap) tetap menjadi standar utama dalam penilaian detail nukleus dan rasio nukleus–sitoplasma, sehingga sering dipilih sebagai pewarna utama pada sediaan sitologi cairan tubuh, termasuk efusi pleura, khususnya ketika tujuan utamanya adalah mendeteksi keganasan. Prosedur Pap menggunakan kombinasi hematoksilin untuk pewarnaan nukleus dan campuran pewarna sitoplasma, seperti Orange G

untuk keratinosit atau sel skuamosa, serta Eosin-Azure untuk sel non-keratin, yang memberikan kontras yang cukup untuk menilai heterokromasia, kontur nukleus, dan inklusi nukleolus. Penggunaan teknik Pap juga didukung oleh penelitian serta pedoman terbaru yang membahas optimasi preparasi dan adaptasi pada sistem liquid-based cytology guna meningkatkan kelengkapan sampel dan kualitas sediaan.(Koomen et al., 2021)

Pewarnaan Giemsa, yang termasuk dalam kelompok Romanowsky, umum digunakan untuk sediaan yang dikeringkan di udara, seperti aspirat jarum halus dan beberapa apusan efusi. Prinsip kerja pewarnaan Giemsa didasarkan pada interaksi pewarna basa (azure/methylene blue) dengan asam nukleat serta pewarna asam (eosin) dengan komponen sitoplasma, sehingga menghasilkan tampilan inti yang berwarna biru-ungu dan variasi warna sitoplasma yang sensitif terhadap pH buffer. Literatur dan penelitian terkini menunjukkan bahwa pewarnaan Giemsa tetap unggul dalam penilaian morfologi sitoplasma, identifikasi granula pada leukosit, serta deteksi mikroorganisme. Beberapa studi juga membahas penggunaan campuran atau koktail, seperti Leishman–Giemsa, sebagai alternatif yang dapat meningkatkan kontras pada lesi tertentu. Sediaan Giemsa sangat berguna sebagai pelengkap dalam pemeriksaan diagnostik yang memerlukan detail sitoplasma dan identifikasi organisme (Andini et al., 2024)

Diff-Quik merupakan modifikasi cepat dari pewarnaan Romanowsky yang dikembangkan untuk evaluasi di lokasi (ROSE) dan penentuan kecukupan sampel. Dengan menggunakan tiga larutan singkat (fixative berupa

metanol, larutan eosinofilik, dan larutan basofilik/thiazine), Diff-Quik mampu menghasilkan pewarnaan dalam hitungan detik hingga menit, sehingga sangat cocok untuk pemeriksaan cepat selama prosedur aspirasi jarum halus (FNA) atau pengambilan cairan (*Diff Quik® Staining Protocol*, n.d.)

B. FIKSASI

Fiksasi dalam sitologi bertujuan untuk segera menembus sel, mempertahankan morfologi serta struktur komponen seluler agar tetap menyerupai keadaan hidup, serta menghentikan proses autolisis (degradasi diri) dan pembusukan. Fiksasi yang tepat merupakan syarat mutlak untuk mendapatkan diagnosis sitologi yang akurat. Secara umum, jenis-jenis fiksasi yang umum dipakai di laboratorium sitologi diklasifikasikan berdasarkan metode penerapannya, yang biasanya terkait erat dengan jenis pewarnaan yang akan digunakan.

a. Fiksasi Basah

Fiksasi ini merupakan metode standar utama dalam sitologi ginekologi. Definisi fiksasi basah adalah proses di mana sediaan apusan sitologi, seperti Pap smear, langsung direndam dalam larutan fiksatif saat masih dalam kondisi basah atau lembab, sebelum apusan mengalami pengeringan. Tujuannya adalah untuk mempertahankan detail nuklear secara optimal serta mencegah artefak pengeringan udara yang dapat menyebabkan pembengkakan sel dan distorsi pada inti. Larutan fiksatif yang umum digunakan meliputi alkohol etil (etanol) 95%–96% sebagai larutan paling ideal dan direkomendasikan, campuran eter dan alkohol

95% dengan perbandingan 1:1 sebagai metode fiksasi tradisional, serta metanol absolut yang digunakan dalam sistem sitologi berbasis cairan (Liquid-Based Cytology/LBC). Penerapan fiksasi ini mutlak diperlukan dalam prosedur pewarnaan Papanicolaou (Hulimane & Shaila, 2020)

Larutan fiksasi basah dapat terdiri dari :

1. Alkohol 95-96%

Alkohol 95–96% merupakan fiksatif standar emas (gold standard) yang paling banyak digunakan dalam pemeriksaan sitologi, termasuk pada sediaan Pap smear maupun cairan tubuh seperti efusi pleura. Alkohol bekerja dengan cara mengendapkan protein dan menggantikan air di dalam sel, sehingga menghambat proses autolisis dan pembusukan sel. Keunggulannya adalah menghasilkan inti sel yang jelas dan detail, dengan sitoplasma transparan dan homogen. Namun, karena sifatnya sebagai agen dehidrasi kuat, alkohol murni dapat menyebabkan penyusutan sel, sehingga waktu fiksasi harus diperhatikan (biasanya 15–30 menit) (Quintana et al., 2020).

2. Metanol Absolut

Metanol absolut (100%) juga termasuk fiksatif alkohol yang sering digunakan pada pemeriksaan hematologi dan sitologi. Zat ini bekerja dengan cara mengkoagulasi protein sel. Metanol memiliki kelebihan berupa penetrasi cepat ke dalam jaringan, namun lebih toksik dibandingkan etanol. Hasil pewarnaan Pap menggunakan metanol dapat menunjukkan warna inti yang baik, tetapi kadang sitoplasma tampak pucat jika waktu fiksasi terlalu lama. Metanol lebih sering digunakan

bila etanol tidak tersedia atau pada sediaan berbasis cairan (liquid-based cytology) (Shabeeba & Geetha, 2023)

3. Eter- Alkohol 95%

Campuran eter dan alkohol (biasanya dalam perbandingan 1:1) merupakan fiksatif kombinasi yang ideal untuk sediaan basah. Eter berfungsi melarutkan lemak, sedangkan alkohol bertugas mengendapkan protein. Kombinasi ini memberikan hasil morfologi yang sangat baik karena inti tampak tajam dan sitoplasma bersih, serta mencegah terjadinya penyusutan sel berlebihan. Fiksatif ini juga mengering lebih cepat, sehingga cocok untuk fiksasi cepat (rapid fixation) pada preparat apusan efusi pleura (Menteri Kesehatan, 2024).

4. Propanol dan Isopropanol 80%

Propanol dan isopropanol merupakan alternatif fiksatif jika etanol tidak tersedia. Dengan konsentrasi 80%, kedua senyawa ini memiliki daya dehidrasi yang lebih rendah dibanding etanol absolut, sehingga lebih lembut terhadap sel. Fiksasi menggunakan propanol atau isopropanol menghasilkan inti yang cukup baik, namun warna sitoplasma cenderung lebih kabur pada pewarnaan Papanicolaou. Kelebihannya adalah lebih murah dan lebih aman dari segi toksisitas dibanding methanol

5. Denaturasi Alkohol

Denaturasi alkohol adalah etanol yang telah ditambahkan zat kimia tertentu (seperti metil etil keton atau benzena) agar tidak layak dikonsumsi, tetapi tetap efektif sebagai fiksatif. Kinerja fiksatif ini hampir sama dengan alkohol murni, namun terkadang dapat menyebabkan artefak atau pewarnaan tidak seragam karena adanya zat aditif. Dalam laboratorium sitologi, denaturasi alkohol digunakan sebagai alternatif ekonomis, terutama di laboratorium dengan keterbatasan bahan kimia (Mizan et al., 2021)

b. Fiksasi kering

Fiksasi ini biasanya digunakan untuk sel-sel yang relatif lebih tahan terhadap pengaruh lingkungan. Definisi fiksasi kering adalah proses fiksasi yang dilakukan dengan mengeringkan sediaan sitologi (apusan) di udara terbuka atau menggunakan pemanasan sebelum dilakukan pewarnaan. Tujuannya adalah untuk melakukan fiksasi secara cepat dan cocok bagi jenis pewarnaan dengan prinsip sederhana atau yang memerlukan penyusutan sel minimal agar inti sel lebih terlihat jelas. Fiksasi kering secara rutin diterapkan pada pewarnaan berbasis Romanowsky, seperti pewarnaan Giemsa atau Diff-Quik, yang sering digunakan dalam sitologi hematologi, sumsum tulang, serta beberapa aspirasi biopsi jarum halus (Fine Needle Aspiration/FNA) (Sari et al., 2021)

c. Faktor yang mempengaruhi fiksasi

1. Ph pH optimal untuk dilakukan fiksasi adalah 6-8 jika Ph diluar rentang nilai tersebut maka secara garis besar dapat menyebabkan perubahan pada

struktur jaringan, menjadi rusak akibat presipitasi sel. Perubahan pH akan mempengaruhi jumlah ion sehingga akan terjadi peningkatan atau penurunan laju reaksi yang memberikan efek pada pengamatan mikroskopik.

2. Suhu Fiksasi yang akan dilihat dengan mikroskopis electron lebih baik disimpan pada suhu 0-4 °C.

3. Perubahan Volume Selama fiksasi, volume jaringan biasanya mengalami perubahan.

Hal ini disebabkan oleh penghambatan respirasi intraseluler, perubahan permeabilitas, dan perubahan transport ion. Fiksasi dengan alkohol yang berkepanjangan akan membuat sel menyusut. Volume sel harus dijaga dalam batas normal agar saat pengamatan terlihat seperti sel yang hidup. Volume cairan fiksasi 5-10x sampel.

4. Konsentrasi Konsentrasi memberikan efek positif yaitu dengan mempercepat proses fiksasi melalui layaknya molekul yang terbentuk

C. RUMUS KIMIA & LAMBANG KIMIA

Fiksatif eter-alkohol merupakan campuran dari dua senyawa kimia utama, yaitu dietil eter ($C_4H_{10}O$) dan etanol (C_2H_5OH). Campuran ini bekerja secara sinergis dalam proses fiksasi sitologi. Dietil eter bertindak sebagai pelarut lemak yang membantu menghilangkan lipid dari membran sel, sehingga mempermudah penetrasi alkohol ke dalam struktur sel. Sementara itu, etanol berfungsi sebagai agen dehidrasi yang mengkoagulasi protein dan mengendapkan zat inti sel tanpa merusak detail morfologinya. Kombinasi

kedua senyawa ini memberikan efek fiksatif yang kuat dan cepat, sehingga mampu menjaga integritas nukleus dan menghasilkan pewarnaan Papanicolaou yang jelas serta kontras (Bhat & Hussein, 2021).

Alkohol 96% atau etanol 96% (C_2H_5OH) merupakan fiksatif tunggal yang paling sering digunakan dalam pemeriksaan sitologi modern. Kandungan 96% menunjukkan bahwa dalam setiap 100 mL larutan terdapat 95 mL etanol murni dan 5 mL air. Kehadiran sedikit air ini berfungsi untuk mencegah pengerutan sel yang terlalu cepat akibat dehidrasi yang ekstrem, sehingga morfologi inti dan sitoplasma tetap terjaga dalam kondisi stabil. Fiksasi menggunakan etanol 95% menghasilkan pewarnaan yang halus dan seragam serta aman digunakan di laboratorium karena memiliki volatilitas dan risiko kebakaran yang lebih rendah dibandingkan fiksatif eter-alkohol (Haque et al., 2020)

D. SEDIAAN SITOLOGI

Sediaan sitologi adalah preparat yang didapatkan dari bahan biologis berupa sel-sel yang terlepas dari jaringan tubuh, baik melalui proses pengelupasan alami, aspirasi jarum halus, atau dari cairan tubuh seperti efusi pleura, asites, dan cairan serebrospinal. Tujuan pembuatan sediaan ini adalah untuk memungkinkan pengamatan morfologi sel secara maksimal di bawah mikroskop setelah melalui proses fiksasi dan pewarnaan (Rekhi et al., 2020)

1. Metode pull-apart

Salah satu metode dengan mengoles atau membuat lapisan tipis dari spesimen.

Adapun langkah dari metode pull-apart sebagai berikut :

1. Teteskan 1-2 tetes spesimen pada sisi objek glass (sekitar 2 cm dari tepi luar)
2. Letakkan objek glass dengan sudut 30-45°
3. Dorong objek glass ke belakang sehingga menyentuh tetesan specimen
4. Tarik objek glass sehingga terbentuk hapusan pada objek glass.

2. Sliding smear

Suatu metode pembuatan sediaan dengan mengoles atau membuat lapisan tipis dari spesimen. Adapun langkah dari metode sliding smear sebagai berikut:

1. Tetesan spesimen 1-2 tetes pada objek glass
2. Ditekan dengan kaca objek dan putar kedua objek hingga sejajar dan ditarik perlahan ke arah yang berlawanan atau yang disebut dengan “sliding smear”

E. PENILAIAN KUALITAS SEDIAAN

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

1. Metode pengumpulan spesimen
2. Fiksasi
3. Teknik pembuatan sediaan sitologi
4. Pewarnaan dan penutupan sediaan sitologi

Tabel 2.1 Penilaian Kualitas Sediaan

Aspek yang Dinilai	Kriteria ' Baik '	Kriteria ' Tidak Baik '
Kontras Inti–Sitoplasma	Inti dan sitoplasma dapat dibedakan dengan jelas.	Inti dan sitoplasma dapat dibedakan dengan jelas.
Kebersihan Zona Sediaan	Latar belakang bersih, bebas debris, presipitasi, atau artefak pewarna.	Banyak debris atau endapan pewarna; artefak mengganggu pembacaan.
Keseragaman Pewarnaan	Warna merata di seluruh area apusan, tidak ada bagian terlalu gelap atau pucat.	Pewarnaan tidak merata; terdapat bagian terlalu gelap atau terlalu pucat.

Tabel 2.2 Penilaian Preparat

No	Kode Preparat	Konsentrasi Alkohol		Kebersihan Latar (1/0)	Keseragaman (1/0)	Total Skor	Kategori (Baik/ Tidak Baik)	Catatan Pengamat
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								

Petunjuk Penilaian

- Beri skor **1** jika aspek memenuhi kriteria **Baik**, **0** jika **Tidak Baik**.
- Jumlahkan skor tiap preparat (maksimal 3).
- Interpretasi:
 - Skor 2 - 3 = Baik
 - Skor 0 - 1 = Tidak Baik (Grace et al., 2024)