

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Umum Tentang Tuberkulosis (TB)

1. Definisi Tuberkulosis (TB)

Tuberkulosis adalah suatu penyakit kronik menular yang disebabkan oleh bakteri *mycobacterium tuberculosis*. Bakteri ini berbentuk batang dan bersifat tahan asam sehingga sering dikenal dengan Basil Tahan Asam (BTA). Sebagaimana besar kuman TB sering ditemukan menginfeksi parenkim paru dan menyebabkan TB paru, namun bakteri ini juga memiliki kemampuan menginfeksi organ tubuh lainnya (TB Ekstra Paru) seperti pleura, kelenjar limfe, tulang, dan organ ekstra paru lainnya (Daksa, 2023).

Tuberkulosis biasanya menyerang paru, kemudian menyerang semua bagian tubuh. Infeksi biasanya terjadi 2-10 minggu, setelah 10 minggu penderita TB akan muncul gejala penyakit gangguan dan ketidakefektifan respons imun. Proses aktivasi dapat berkepanjangan ditandai dengan remisi panjang ketika penyakit dicegah, hanya diikuti oleh periode aktivitas yang diperbarui (Daksa, 2023). Penyakit TB ini dapat menyerang siapa saja terutama usia produktif (15-50 tahun) dan anak-anak. Apabila tidak diobati dengan tuntas, maka TB dapat menyebabkan kematian (Kristiana, 2022).

Penyakit TB merupakan penyakit kronis atau menahun yang telah lama dikenal oleh masyarakat luas. Penemuan Robbert Kock pada tahun 1882 secara meyakinkan telah dapat memberikan bukti bahwa tuberkulosis adalah suatu penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri yang diberi nama *mycobacterium tuberculosis* (Aini dkk, 2017). Penyakit ini ditularkan oleh penderita BTA positif yang menyebar melalui *droplet nuclei* yang keluar saat penderita batuk ataupun bersin. Bakteri yang menyebar diudara dapat dihirup oleh orang sehat sehingga dapat menyebabkan infeksi (Daksa, 2023).

2. **Epidemiologi Tuberkulosis**

Tuberkulosis paru merupakan masalah global, dimana *World Health Organization* (WHO) memperkirakan setiap tahun masih terdapat sekitar sembilan juta penderita TB paru dengan 3 juta kematian akibat TB diseluruh dunia. Diperkirakan 95% kasus TB dan 98% kematian akibat TB di dunia, terjadi di negara-negara berkembang (Widyastuti dkk, 2018).

Di dunia, penyakit TB masih menjadi fokus perhatian masing masing negara dengan angka kejadian morbiditas dan mortalitas yang tinggi. Meskipun terdapat kemajuan mengenai diagnosa dan terapi, secara global TB menyerang sekitar 10 juta manusia dan 1,3 juta meninggal karena TB pada tahun 2017, sampai sekarang TB merupakan salah satu dari 10 penyebab utama kematian yang diakibatkan dari agen infeksi bakteri (Mahendra, 2020).

Berdasarkan data dari WHO bahwa setiap tahun terdapat 10 juta orang terserang TB kasus baru di seluruh dunia. Diperkirakan mortalitas yang diakibatkan dari penyakit TB sejumlah 1,3 juta kematian ditambah dengan 1,7 juta kematian akibat TB dengan bawaan HIV. Dimana tercatat pada tahun 2017, jumlah kasus TB yang ditemukan sebesar 425.089 kasus, dan pada tahun 2018 ditemukan sebesar 543.874 kasus. Sedangkan, pada tahun 2019 jumlah kasus TB yang ditemukan sebanyak 566.623 kasus. Hasil survey prevalensi TB akibat dari bakterologis di Indonesia sebanyak 759/100.000 penduduk dengan usia 15 tahun keatas, serta prevalensi TB BTA positif sebanyak 257/100.000 penduduk dengan usia 15 tahun keatas (Daksa, 2023).

3. **Etiologi Tuberkulosis**

Penyebab penyakit tuberkulosis (TB) adalah bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Bakteri ini mempunyai ukuran 0,5-4 mikron x 0,3- 0,6 mikron dengan bentuk batang tipis, lurus atau agak bengkok, bergranular atau tidak mempunyai selubung, tetapi mempunyai lapisan luar tebal yang terdiri dari lipoid (terutama asam mikloat). Bakteri ini

mempunyai sifat istimewa, yaitu dapat bertahan terhadap pencucian warna dengan asam dan alkohol, sehingga disebut Basil Tahan Asam (BTA), serta tahan terhadap zat kimia dan fisik (Daksa, 2023).

Penyakit menular TB disebabkan oleh bakteri *mycobacterium tuberculosis* dan disebut sebagai Bakteri Tahan Asam (BTA). Terdapat beberapa spesies *mycobacterium* yang juga termasuk BTA yaitu *M. pinnipedi*, *M. Caprae*, *M. microti*, *M. africanum*, *M. bovis*, dan *M. Mungi*, *M. Cannedi* yang disebut sebagai *mycobacterium tuberculosis complex*. Bakteri ini termasuk bakteri aerob yang bentuk morfologinya berbentuk batang. Terdapat kelompok bakteri *mycobacterium* selain *mycobacterium tuberculosis* yang bisa menimbulkan gangguan pada saluran napas dikenal sebagai *Mycobacterium Other Than Tuberculosis* (MOTT) (Mahendra, 2020).

4. Gejala Tuberkulosis

Gejala penyakit TB tergantung pada lokasi lesi, sehingga dapat menunjukkan manifestasi klinis sebagai berikut:

- 1) Batuk berdahak lebih dari 2 minggu.
- 2) Batuk berdahak dapat bercampur darah.
- 3) Disertai nyeri dada.
- 4) Sesak napas.

Dengan gejala lain meliputi :

- 1) Melaise.
- 2) Berat badan menurun.
- 3) Nafsu makan menjadi menurun.
- 4) Demam disertai menggigil.
- 5) Serta berkeringat di malam hari (Burham dkk, 2020).

5. Penularan Tuberkulosis

Penyakit Tuberkulosis (TB) yang disebabkan oleh kuman *mycobacterium tuberculosis*, sumber utama penularan TB paru adalah pasien dengan BTA positif. Pada waktu batuk atau bersin, pasien TB paru dapat menyebarkan kuman ke udara dalam bentuk percikan dahak

(*droplet nuclei*) sekali batuk dapat menghasilkan sekitar 3000 percikan dahak. Transmisi atau penularan bakteri penyebab TB paru dapat terjadi dalam ruangan karena percikan dahak berada dalam waktu yang lama. Percikan dapat bertahan selama beberapa jam dalam keadaan yang gelap dan lembab. Hal ini menunjukkan bahwa kondisi lingkungan tempat tinggal keberadaan penderita TB paru menjadi salah satu faktor risiko penyebaran TB paru (Aja dkk, 2022). Setiap satu BTA positif akan menularkan kepada 10-15 orang lainnya, sehingga kemungkinan setiap kontak untuk tertular TB adalah 17%. Seorang penderita BTA (+) yang derajat positifnya tinggi berpotensi menularkan penyakit ini. Sebaliknya, penderita BTA (-) dianggap tidak menularkan (Masriadi, 2017).

6. **Diagnosis Tuberkulosis**

Diagnosis TB dapat ditegakkan berdasarkan gejala klinik, pemeriksaan fisik atau jasmani, pemeriksaan bakteriologik, radiologik dan pemeriksaan penunjang lainnya. Pemeriksaan bakteriologik dapat dilakukan dengan cara mikroskopik dan biakan. Pemeriksaan dahak secara mikroskopis dengan pewarnaan BTA masih merupakan pemeriksaan standar diagnosis BTA, paling efisien, mudah dan murah, dan hampir semua unit laboratorium dapat melaksanakannya untuk mendukung diagnosis penyakit TB serta untuk menilai kemajuan pengobatan (Latifah, 2021).

Diagnosis awal dengan ditemukannya *mycobacterium tuberculosis* pada saat pemeriksaan gejala klinis dari biakan dahak atau kultur dahak. Uji kultur ini memiliki sensitivitas dan spesifisitas tinggi namun diperlukan waktu yang cukup lama untuk mendapatkan hasilnya yang bisa sampai lebih dari satu minggu. Serta dalam pengerjaannya diperlukan tenaga dengan keahlian khusus. Sehingga dibutuhkan alternatif lain yaitu dengan metode yang cepat, sensitif dan spesifik untuk mendiagnosis TB (Daksa, 2023).

Menurut Daksa (2023) penegakan diagnosis TB dapat dilakukan melalui pemeriksaan:

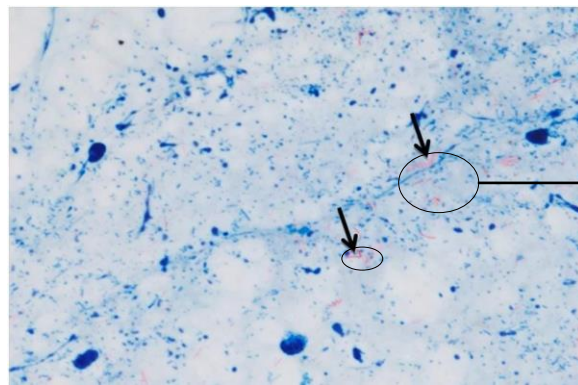
- a. Kultur sputum: yang menunjukkan hasil positif untuk bakteri *mycobacterium tuberculosis* pada stadium aktif.
- b. Ziehl neelsen (*Acid-fast stain applied to smear of body fluid*): positif untuk Bakteri Tahan Asam (BTA).
- c. Skin test (PPD, *Mantoux, Tine, Vollmer Patch*): reaksi positif (area indurasi 10 mm atau lebih, timbul 48-72 jam setelah injeksi antigen intradermal) mengindikasikan infeksi lama dan adanya antibodi tetapi tidak mengindikasikan penyakit yang sedang aktif.
- d. Foto rontgen dada (*chest x-ray*): dapat memperlihatkan infiltrasi kecil pada lesi awal dibagian paru-paru bagian atas, deposit kalsium pada lesi primer yang membaik atau cairan pada efusi. Perubahan mengindikasikan TB yang lebih berat, dapat mencakup area berlubang dan fibrosa.
- e. Sitologi dan histologi atau kultur jaringan (termasuk kubah lambung, urine dan CSF, serta biopsy kulit): menunjukkan hasil positif untuk *mycobacterium tuberculosis*.
- f. *Needle biopsy of lung tissue*: positif untuk granuloma TB, adanya sel-sel besar yang mengindikasikan nekrosis.
- g. Elektrolit: mungkin abnormal bergantung pada lokasi beratnya infeksi, misalnya hiponatremia mengakibatkan retensi air, mungkin ditemukan pada TB paru kronik lanjutan.
- h. ABGs: mungkin abnormal, bergantung pada lokasi, berat dan sisa kerusakan paru.
- i. Bronkografi: merupakan pemeriksaan khusus untuk melihat kerusakan bronkus atau kerusakan paru karena TB.
- j. Darah: leukositosis, laju endap darah (LED) meningkat.
- k. Tes fungsi paru: VC menurun, dead space meningkat, TLC meningkat, dan saturasi oksigen menurun yang merupakan gejala

sekunder dari fibrosa atau infiltrasi parenkim paru dan penyakit pleura.

B. Tinjauan Umum Tentang *Mycobacterium Tuberculosis*

1. Definisi *Mycobacterium Tuberculosis*

Mycobacterium tuberculosis merupakan bakteri penyebab dari penyakit tuberkulosis (TB). Bakteri ini berbentuk batang dan bersifat tahan asam sehingga sering dikenal dengan Basil Tahan Asam (BTA). Sebagian besar kuman TB sering ditemukan menginfeksi parenkim paru dan menyebabkan TB paru (Handriani & Lalengaya, 2023).



Pada lingkaran ini menunjukkan BTA positif

Gambar 1. Bakteri *Mycobacterium Tuberculosis* (Sumber: Zingue dkk, (2018)).

Mycobacterium tuberculosis merupakan basil tahan asam berukuran 0,5-3 μm . *Mycobacterium tuberculosis* ditularkan melalui droplet udara yang disebut sebagai *droplet nuclei* yang dihasilkan oleh penderita TB paru ataupun TB laring pada saat batuk, bersin, berbicara, ataupun menyanyi. Droplet ini akan tetap berada di udara selama beberapa menit sampai jam setelah proses ekspektorasi (Amanda, 2018).

Mycobacterium tuberculosis berbentuk batang lurus atau sedikit melengkung, tidak berspora dan tidak berkapsul. Bakteri ini berukuran lebar 0,3-0,6 μm dan panjang 1-4 μm . Dinding *mycobacterium tuberculosis* sangat kompleks, terdiri dari lapisan lemak cukup tinggi (60%). Penyusun utama dinding sel *mycobacterium tuberculosis* adalah asam mikolat merupakan asam lemak berantai panjang yang

dihubungkan dengan arabinogalaktan oleh ikatan glikolipid dan peptidoglikin oleh jembatan fosfodiester. Unsur lain yang terdapat pada dinding sel bakteri adalah polisakarida. Struktur dinding sel yang kompleks tersebut menyebabkan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* bersifat tahan asam, yaitu apabila sekali diwarnai akan tahan terhadap upaya penghilangan zat warna tersebut dengan larutan asam alkohol (Daksa, 2023).

2. **Klasifikasi *Mycobacterium Tuberculosis***

Menurut Murwani dkk, (2017) klasifikasi dari bakteri *Mycobacterium tuberculosis* adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Bacteria*
Filum : *Actinobacteria*
Ordo : *Actinomycetales*
Subordo : *Corynebacterineae*
Famili : *Mycobacteriaceae*
Genus : *Mycobacterium*
Spesies : *Mycobacterium tuberculosis*.

Mycobacterium tuberculosis tidak diklasifikasikan sebagai gram positif maupun gram negatif karena dinding sel bakteri ini tidak memiliki karakteristik membrane luar bakteri gram negatif. Namun, *Mycobacterium tuberculosis* memiliki struktur peptidoglikan-arabinogalaktan-asam mikolat sebagai barier permeabilitas eksternal. *Mycobacterium tuberculosis* diklasifikasikan sebagai bakteri acid-fast. Jika pewarnaan gram dilakukan pada *Mycobacterium tuberculosis* warna gram positif yang muncul sangatlah lemah atau tidak berwarna sama sekali. Namun ketika terwarnai, sebagai bakteri acid fast maka *Mycobacterium tuberculosis* akan mempertahankan pewarna saat dipanaskan dan diberi komponen asam organik. Pada penggunaan metode *ziehl neelsen stain* terhadap *Mycobacterium tuberculosis*, bakteri ini akan menunjukkan warna merah muda (Kristiana, 2022).

3. Jenis-Jenis *Mycobacterium Tuberculosis*

Mycobacteria merupakan mikroba tahan asam, bakteri ini lebih mirip dengan bakteri nocardia. Tingkat ketahanan bakteri ini terhadap asam alkohol sangat bervariasi, tergantung spesiesnya. Beberapa jenis dari mycobacteria ini ada yang tidak patogen dan sering ditemukan pada manusia dan lingkungan tempat tinggal. Beberapa jenis mycobacteria yang sering ditemukan pada manusia dan lingkungan tempat tinggal antara lain *mycobacterium tuberculosis*, *mycobacterium bovis*, *mycobacterium leprae*, *mycobacterium fortuitumchelonaecomplex* (Barru, 2016).

Dari sudut pandang kecepatan tumbuh dan jenis pigmen, mycobacterium dapat dibagi atas:

1) *Photochromogen* dengan koloni berpigmen kuning

Bakteri golongan ini koloninya akan berwarna jika inkubasi dilakukan dengan pencahayaan. Bakteri mycobacterium yang termasuk golongan ini adalah *M. kansasii*, *M. marinum*, *M. simiae*, *M. asiticum*.

2) *Non Photochromogen*

Bakteri golongan ini koloninya tidak berpigmen. Bakteri mycobacterium yang termasuk golongan ini adalah *M. tuberculosis*, *M. gastrii*, *M. malmoense*, *M. haemophilum*, *M. xenopi*.

3) *Scotochromogen* dengan koloni berpigmen kuning atau orange

Bakteri golongan ini koloninya akan berwarna jika inkubasi dilakukan dalam keadaan gelap. Bakteri mycobacterium yang termasuk golongan ini adalah *M. szulgai*, *M. flavesens*, *M. gordonae*, *M. scrofulaceum*.

4) *Rapid grower*

Bakteri golongan ini merupakan mycobacterium yang pertumbuhannya cepat. Bakteri mycobacterium yang termasuk golongan ini adalah *M. fortuitum-chelonaecomplex*.

Bakteri yang tidak termasuk golongan *rapid grower* mempunyai waktu pembelahan puluhan jam. Oleh karena itu koloni yang diisolasi dari spesimen biasanya mulai tampak setelah dua minggu. Sementara bakteri yang termasuk golongan *rapid grower* biasanya akan tampak dalam waktu satu minggu (Barru, 2016).

4. Sifat-Sifat *Mycobacterium Tuberculosis*

- a. *Mycobacterium tuberculosis* tidak tahan panas, akan mati pada suhu 20°C selama 15-20 menit.
- b. Dalam suhu kamar, biakan basil ini dapat hidup selama 6-8 bulan dan dapat disimpan dalam lemari dengan suhu 6°C selama 2 tahun.
- c. Biakan dapat mati jika terkena sinar matahari langsung selama 2 jam.
- d. Dalam dahak, bakteri ini dapat bertahan selama 20-30 jam.
- e. Basil yang berada dalam percikan bahan dapat bertahan hidup 8-10 hari.
- f. Bakteri ini tahan terhadap berbagai khemikalia dan disinfektan, antara lain phenol 5%, asam sulfat 15%, asam sitrat 3%, NaOH 4%.
- g. Basil ini dapat dihancurkan oleh jodium tincture dalam waktu 5 menit, sementara alkohol 80% akan hancur dalam 2-10 menit kemudian (Daksa, 2023).

C. Tinjauan Umum Tentang Teknik Sitologi Diagnosis Tuberkulosis (TB)

Sitologi merupakan salah satu bidang yang berkaitan dengan ilmu yang mempelajari tentang morfologi sel-sel secara individual atau sel yang berasal dari fragmen jaringan yang diamati secara mikroskopis (Mutoharoh dkk, 2020). Pemeriksaan apusan sitologi dapat menunjukkan gambaran perubahan sel, baik pada stadium prakanker maupun kanker (Agelica, 2022). Sediaan sitologi dapat dibuat dari berbagai sumber dalam tubuh seperti urin, dahak (sputum), sinus, cairan pleura, dan lain-lain (Mutoharoh dkk, 2020).

Pemeriksaan sitologi digunakan untuk mempelajari dan melihat morfologi sel cairan tubuh yang melalui proses fiksasi dan pemberian pewarna lalu dilakukan pembacaan dengan bantuan mikroskop. Sediaan yang baik diharuskan mampu memberikan gambaran dari sel maupun jaringan

layaknya seperti ketika sel atau jaringan masih di dalam tubuh. Tindakan fiksasi biasa digunakan untuk memperkecil kejadian kerusakan pada sel atau jaringan ketika sudah dikeluarkan dari tubuh (Dila, 2023).

Tahapan teknik pembuatan sediaan dengan teknik sitologi adalah sebagai berikut :

1. Pengumpulan spesimen

Spesimen yang diambil adalah sampel sputum penderita tuberkulosis paru, pada pemeriksaan sitologi sampel sputum yang diambil adalah sputum sewaktu yang dikumpulkan pada wadah bermulut besar serta tidak membutuhkan fiksasi. Sampel sputum yang didapatkan harus dari batuk yang dalam dan segera dibawa ke laboratorium. Batuk yang dalam adalah batuk yang dapat mengeluarkan sputum atau dahak dari paru, bukan hanya air liur. Namun, jika pengiriman sampel sputum ke laboratorium harus tertunda maka bisa dilakukan fiksasi dengan alkohol 70% atau dengan metode *Saccomano*, dengan cara sampel sputum dimasukkan ke dalam campuran alkohol 50% dengan 2% polietilen glikol (carbowax). Batas waktu yang diperbolehkan untuk pemeriksaan sampel sputum segar tanpa fiksasi adalah sebelum 24 jam sejak sampel tersebut dikumpulkan dan disimpan di dalam lemari es dengan suhu 4°C (Hardian dkk, 2023).

2. Teknik Pembuatan Sediaan Sitologi

Teknik-teknik dasar pembuatan sediaan sitologik pada umumnya terbagi menjadi beberapa bagian, yaitu teknik manual dan otomatis (sitospin). Teknik manual dalam pembuatan sediaan sitologi adalah teknik yang dilakukan dengan menggunakan tenaga manusia dalam menempelkan dan menyebarkan sel diatas kaca objek, sedangkan teknik otomatis adalah teknik yang menggunakan instrumen khusus untuk menempelkan dan menyebarkan sel ke atas kaca objek (Khristian & Inderiati, 2017).

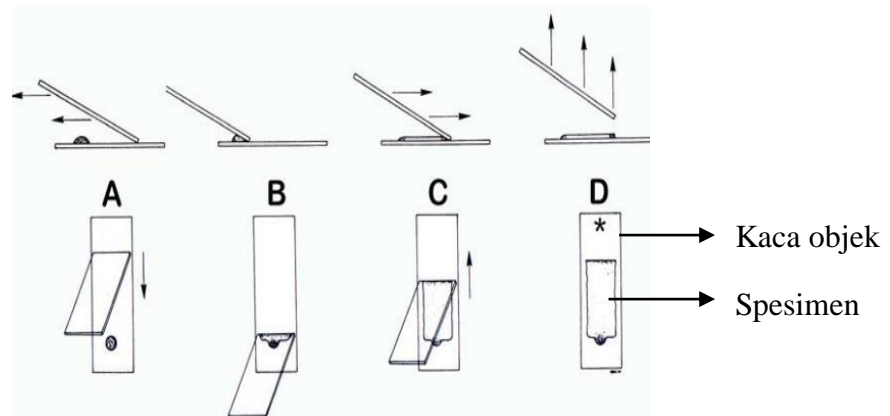
Adapun teknik manual dari pembuatan sediaan sitologi adalah sebagai berikut:

a. Metode *Smear/Oles*

Metode oles atau yang sering disebut dengan metode *smear* merupakan suatu metode pembuatan sediaan sitologi dengan cara mengoles atau membuat lapisan tipis dari spesimen berbentuk cairan diatas kaca objek spesimen yang masuk kedalam kategori untuk dilakukan pembuatan sediaan oles antara lain urin, *Cerebro Spinal Fluid* (CSF) dan spesimen lainnya yang memiliki viskositas rendah. Namun terkadang spesimen sputum yang masuk kedalam laboratorium kadang kala sudah dicampur dengan alkohol 50% atau dengan larutan fiksasi Sarkomano (Khristian & Inderiati, 2017).

Berikut adalah dua teknik pembuatan sediaan sitologi metode oles atau smear :

- 1) Metode "*pull-apart*" (tarik dan dorong), sedimen menyebar merata pada permukaan kaca objek (Khristian & Inderiati, 2017).



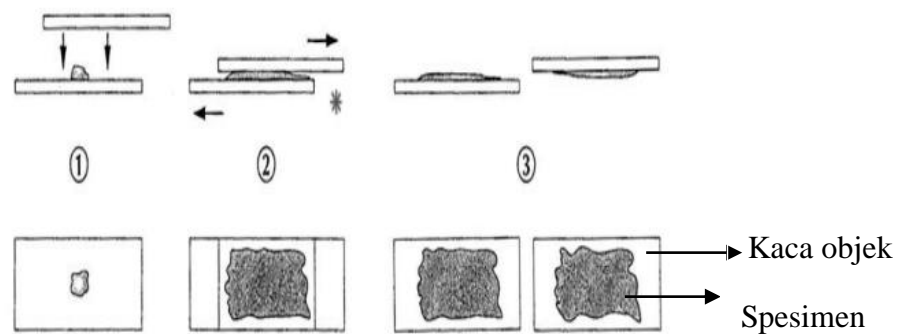
Gambar 2. Teknik pembuatan sediaan sitologik metode oles atau *smear* (Sumber: Khristian & Inderiati, 2017).

Keterangan gambar pembuatan sediaan metode oles atau *smear* :

- a) Kode huruf A = Spesimen diletakkan diatas kaca objek.
- b) Kode huruf B = Satu buah kaca objek diperlakukan untuk mendorong spesimen.

- c) Kode huruf C = Tarik dan dorong spesimen dengan sudut 45° secara cepat ke arah berlawanan.
- d) Kode huruf D = Sediaan dibiarkan hingga kering.

2) Metode tekan (*sliding smear*)



Gambar 3. Metode *Sliding Smear*
(Sumber: Khristian & Inderiati, 2017).

Keterangan gambar pembuatan sediaan metode *sliding smear* :

- a) Kode nomor 1 = Spesimen diletakkan diatas kaca objek.
- b) Kode nomor 2 = Satu kaca objek diperlakukan memutar hingga sejajar dan tarik perlahan dengan arah berlawanan.
- c) Kode nomor 3 = Sediaan dibiarkan hingga kering.

b. Metode Tekan (*Squash*)

Metode tekan merupakan metode yang hampir sama dengan metode oles, namun pada teknik ini terdapat perlakuan menekan pada spesimen. Penekanan dilakukan dengan lembut agar tidak terjadi kerusakan pada komponen sel. Teknik ini dilakukan untuk spesimen yang memiliki viskositas tinggi seperti sputum. Teknik tekan pada pembuatan sediaan sitologik kadang kala disebut dengan teknik “*Pick and Smear*” (Khristian & Inderiati, 2017).

3. Fiksasi Sediaan Sitologi

Fiksasi pada sediaan sitologi terbagi menjadi beberapa bagian yaitu fiksasi kering, lembab, dan fiksasi basah. Pada jenis fiksasi basah, sediaan sitologik harus direndam dalam larutan fiksasi terpilih segera setelah pengambilan spesimen sitologi masih dalam kondisi yang lembab. Fiksasi spesimen sitologi yang dilakukan dengan segera dilakukan guna mencegah pengeringan dan perubahan bentuk sel akibat luar. Hasil dari fiksasi tersebut akan memungkinkan pewarnaan menjadi jelas dan tentunya menghasilkan diagnosis yang benar. Perbedaan lain ketika fiksasi sitologi dilakukan dengan teknik pengeringan, metode ini dilakukan untuk sel-sel yang relatif kuat dari faktor lingkungan dan digunakan untuk jenis pewarnaan yang memiliki prinsip sederhana. Idealnya fiksasi yang dilakukan pada sediaan sitologik hampir sama kriteria dengan fiksasi yang dilakukan pada sediaan jaringan. Meningkatkan diferensiasi optik dan meningkatkan pewarnaan struktur dan komponen sel (Orno dkk, 2022).

Seperti yang telah disebutkan di atas, fiksasi dari sediaan sitologik terbagi menjadi beberapa bagian yaitu :

a. Fiksasi basah

Fiksasi basah merupakan tindakan fiksasi dimana sediaan sitologik masih dalam kondisi basah atau lembab. Metode ini adalah metode yang ideal untuk menjaga suatu sediaan sitologi baik sitologi ginekologi maupun sitologi non-psikologi. Menurut Orno dkk, (2022) larutan fiksasi basah dapat terdiri atas :

1) Alkohol 95-96%

Larutan ini merupakan larutan fiksatif yang ideal yang dianjurkan di sebagian besar laboratorium sitologi. Hasil dari fiksasi ini menghasilkan karakteristik inti yang ideal. Alkohol 95% ini adalah larutan terhidrasi dan dapat menyebabkan penyusutan sel karena akan menggantikan udara di dalam sel. Penggunaan etanol absolut pun sebenarnya dapat dilakukan, namun biaya yang dikeluarkan relatif lebih besar. Dalam teori lain menyebutkan bahwa dengan pemberian alkohol

95-96% ini akan membuat sel menjadi lebih kuat merekat dengan kaca sediaan dibandingkan ketika sediaan basah dimasukkan ke dalam konsentrasi yang lebih rendah. Dalam praktik laboratorium patologi anatomi, alkohol 96% diperuntukkan bagi sampel non ginekologi (Orno dkk, 2022).

2) Metanol absolut

Metanol absolut ini merupakan larutan fiksasi yang digunakan untuk sediaan berbasis cairan seperti thin prep, sure prep dan lain sebagainya. Dalam praktik laboratorium patologi anatomi, alkohol 96% diperuntukkan bagi sampel ginekologi (Orno dkk, 2022).

3) Formalin Based

Formalin based yang digunakan untuk sediaan sitologik yang ditargetkan pada pemeriksaan Imunologi (IHC) (Orno dkk, 2022).

b. Fiksasi “Coating”

Fiksatif coating merupakan fiksasi yang dilakukan untuk pengganti basah. Fiksasi ini dilakukan dengan memberikan aerosol (penyemprotan) pada spesimen sitologi yang dibuat secara konvensional maupun dengan metode berbasis cairan. Fiksasi ini terdiri dari alkohol dan polietilen glicol yang berfungsi sebagai pelapis dari sediaan sitologik. Fiksasi dengan menyemprotkan lapisan diaphine (Hairspray) dengan kandungan alkohol yang tinggi dan minimal lanolin atau minyak juga dapat menjadikannya fiksatif yang efektif (Orno dkk, 2022).

Sebagian besar agen-agen ini memiliki aksi ganda dalam fungsinya yaitu dengan menjaga sel dari kerusakan (fiksasi) dan pada saat kering akan membentuk lapisan tipis sebagai pelindung di atas sediaan sitologik itu. Fiksatif ini praktis untuk situasi di mana sediaan sitologik harus dikirim ke laboratorium sitologi yang jaraknya jauh dari tempat pengambilan spesimen. Namun metode ini tidak dianjurkan untuk sediaan berbasis cairan dan jika tempat pengambilan spesimen tidak jauh dari laboratorium sitologi. Jarak semprotan antara sediaan dengan

larutan fiksatif aerosol akan mempengaruhi hasil dari sediaan sitologik. Jarak yang ideal dalam penyemprotan adalah 10-12 inci (25-30 cm) (Orno dkk, 2022).

Fiksasi “coating” ini tidak dianjurkan untuk sediaan sitologik yang banyak mengandung darah, hal ini dikarenakan akan terjadi penggumpalan eritrosit. Lilin dan minyak dari larutan fiksasi itu harus dibuang ketika hendak pewarnaan dengan cara perendaman di larutan alkohol 95% selama semalam (Orno dkk, 2022).

c. Fiksasi kering

Fiksasi kering merupakan fiksasi yang dilakukan pada sediaan sitologik yang dilakukan dengan mengeringkan sediaan tersebut di udara terbuka (udara kering) atau dengan bantuan pemanasan hingga kering (penggunaan hotplate dengan suhu maksimal 50°C). Sediaan sitologik harus diproses dan dikeringkan dengan segera untuk menghindari munculnya artefak. Salah satu keuntungan dari fiksasi ini adalah pembuatan dan pewarnaan yang cepat (2-3 menit). Pewarnaan cepat berguna dalam penilaian awal dari kelayakan spesimen sebelum pasien diperkenankan untuk meninggalkan ruang pengambilan spesimen. Untuk sediaan yang menargetkan koloid, musin, butiran sitoplasma endokrin dan lain-lain akan lebih baik jika dilakukan fiksasi kering. Hal ini juga berguna pada pasien dengan indikasi keganasan hematologi seperti limfoma atau leukemia (Orno dkk, 2022).

4. Pewarnaan Sediaan Sitologi

Pewarnaan rutin yang paling umum digunakan di laboratorium sitologi adalah pewarnaan papanicolaou dan giemsa (Hardian dkk, 2023). Namun pewarnaan papanicolaou masuk pada pemeriksaan sitologi genokologi yakni pada pemeriksaan yang berasal dari organ reproduksi manusia contohnya pemeriksaan pap smear, sedangkan pada pewarnaan giemsa masuk pada pemeriksaan sitologi non genokologi contohnya pada pemeriksaan dahak (sputum), pemeriksaan efusi pleura, urine, sikatan bronkus, dan lain-lain (Kemenkes, 2022).

Pewarnaan giemsa adalah teknik pemeriksaan untuk pemeriksaan mikroskopis yang namanya diambil dan seorang peneliti malaria yaitu Gustav Giemsa (Sari dkk, 2021). Metode pewarnaan giemsa merupakan kombinasi dari eosin yang bersifat asam dan azure A untuk membuat cat netral memberikan warna merah muda pada sitoplasma dan methylene blue yang bersifat basofilik berfungsi sebagai warna dasar dan memberi warna inti. Dengan pewarnaan giemsa dapat memperlihatkan morfologi sel inti dan sitoplasma yang dapat bermanfaat untuk diagnosis pasti (Dila dkk, 2023).

Prinsip pewarnaan giemsa adalah presipitasi hitam yang terbentuk dari penambahan larutan methylen blue dan eosin yang dilarutkan di dalam metanol yaitu, dua zat warna yang berbeda Azur B (Trimethylionn) yang bersifat basa dan eosin y (Tetrabromofluorescin) yang bersifat asam seperti kromatin DNA dan RNA (Dila, 2023). Eosin y akan mewarnai komponen sel yang bersifat basa seperti granula, eosinofil dan hemoglobin. Ikatan eosin y pada azur B yang beragregasi dapat menimbulkan warna ungu dan keadaan ini dikenal dengan efek romanowsky giemsa (Sari & Masrillah, 2022).

Kelebihan pewarnaan metode giemsa digunakan dalam pemeriksaan histologi dan sitologi karena dinilai kualitasnya baik dalam waktu pengerjaannya cukup cepat untuk mewarnai kromatin dan membran inti. Beberapa komponen seluler terwarnai ungu (reaksi matakromasi), dan warna sitoplasma akan berbeda bergantung pada tipe sel (Dila dkk, 2023).