

# **Teknik Pengelolaan Sediaan Sitologi**

( Dibacakan pada Simposium Prosedur dan Analisis FNAB yang Tepat dalam Meningkatkan Akurasi Diagnosis )

Oleh : Bethy S. Hernowo, dr., Sp.PA(K), Ph.D

Sitologi adalah ilmu yang mempelajari morfologi sel-sel cairan tubuh. Cairan itu bisa kita dapat dengan dua cara tergantung pada tujuan pemeriksaan :

1. Cairan-cairan yang sudah keluar lepas dari organ tubuh dan sewaktu-waktu bisa kita siapkan dengan mudah.

Contoh : Urine, Sputum.

2. Cairan-cairan yang didapat secara aspirasi pada organ tubuh yang dicurigai.

Contoh : FNAB, C.ascites, C.pleura, Pap smear dll.

Pemeriksaan sitologi merupakan cara yang mudah, murah, sederhana dan hasilnya cukup akurat.

## **Faktor-faktor yang perlu diperhatikan untuk keberhasilan pemeriksaan sitologi**

1. Ketepatan pengambilan
2. Metode fiksasi yang benar
3. Cara pengepakan dan pengiriman sampel
4. Prosesing sitologi terutama pewarnaan sel.

No. 1. dilaksanakan oleh dokter.

No. 2-4 dilaksanakan oleh teknisi laboratorium.

## **Hal-hal yang harus diperhatikan dalam pembuatan sitologi dan fiksasinya.**

1. Kaca objek harus benar-benar bersih, diberi label supaya tidak tertukar.
2.  $\frac{3}{4}$  dari luas kaca objek memanjang, kita isi apusan yang rata tidak terlalu tebal atau terlalu tipis.
3. Lakukan fiksasi sesuai dengan prosedur pewarnaan yang dikehendaki ( Papanicolaou dan Giemsa ).
4. Larutan yang telah digunakan untuk pewarnaan Papanicolaou sebaiknya diganti setiap 2 minggu atau tergantung banyaknya sediaan.
5. Tanda larutan pewarna rusak, yaitu apabila warna menjadi keruh.
6. Larutan pewarna harus selalu ditutup rapat untuk mencegah penguapan.

7. Larutan Haematoxylin Harris sebaiknya disaring setiap hari.
8. Pada pemasangan kaca penutup kaca objek cairan xylol terlebih dahulu di buang karena dapat terjadi rongga-rongga udara
9. Supaya kaca melekat dengan erat dapat dilakukan pemanasan ditempat penghangat atau oven temperatur 37 oC

### **Metode fiksasi**

Fiksasi adalah usaha manusia untuk mempertahankan elemen-elemen sel atau jaringan agar tetap pada tempatnya dan tidak mengalami perubahan bentuk maupun ukuran.

Bahan/larutan fiksatif yang sering digunakan dalam sitologi antara lain Alkohol ( Etanol ) dan Metanol ( Methyl Alkohol ).

Cara fiksasi ada 2 :

#### 1. Fiksasi langsung

Ialah fiksasi pada sediaan smear / apusan

Contohnya : - Pap smear

- FNAB yang langsung dibuat smear / apusan.

- Apusan endapan cairan yang sudah disentrifuge.

#### 2. Fiksasi tidak langsung

Ialah fiksasi yang dilakukan pada bahan/cairan yang tidak segera di buat sediaan.

Contohnya : C. ascites, C.pleura dsb difiksasi dengan alkohol 50 % perbandingan 1:1, kecuali untuk sputum difiksasi dengan alkohol 70 % perbandingan 1:1.

Fiksasi dasar untuk pemeriksaan Sitologi :

#### a. Pewarnaan Papanicolaou

Preparat apus difiksasi langsung ke alkohol 95 % tanpa menunggu kering. Untuk Pap smear dan FNAB minimal 15 menit, sedangkan untuk apusan cairan minimal 1 jam.

#### b. Pewarnaan Giemsa

Preparat apus harus benar-benar kering, kemudian difiksasi minimal 5 menit.

## **Biopsi aspirasi jarum halus / FNAB**

Pemeriksaan FNAB dapat dilakukan di unit rawat jalan setiap rumah sakit maupun praktek. Walaupun akurasi hasil pemeriksaan FNAB masih di bawah pemeriksaan histopatologi dari biopsi terbuka, tetapi dengan panduan data dari pemeriksaan klinis, radiologi dan laboratorium diharapkan hasil pemeriksaan yang cukup baik dengan biaya yang relatif lebih murah.

### **Alat yang diperlukan untuk FNAB**

Peralatan dasar yang diperlukan untuk melakukan FNAB sederhana terdiri dari :

- Sebuah syringe holder atau syring pistol / Terumo syring : 3 cc, 5 cc, 10 cc
- Jarum / Needle disposable ukuran 21- 25 G
- Kaca objek untuk pembuatan preparat apus dari aspirat jaringan dan telah diberi nomor / kode sitologi
- Kapas alkohol
- Botol / kotak kaca berisi alkohol 95 % ( untuk fiksasi )
- Sarung tangan steril
- Botol penampung cairan aspirat
- Plester
- Ethyl chloride spray
- Tissue

### **Pembuatan sediaan apus hasil FNAB**

Untuk pembuatan preparat apus, digunakan kaca objek yang bersih yang sudah diberi label nomor /kode sitologi sesuai dengan nomor yang ada di formulir permintaan FNAB.

Prosedur pembuatan apusan hasil aspirasi adalah sebagai berikut :

- Setiap kaca objek yang sudah di beri nomor di tetesi dengan 1-2 tetes aspirat
- Aspirat diapuskan dengan merata pada kaca objek dengan menggunakan kaca objek yang lainnya.
- Sediaan apus tersebut segera difiksasi dalam alkohol 95 % untuk pewarnaan Papanicolaou, sedangkan untuk pewarnaan Giemsa difiksasi dalam metanol setelah dikeringkan terlebih dahulu.

## Teknik Pewarnaan

Pewarnaan pada sediaan apus/smear untuk pemeriksaan sitologi bertujuan untuk identifikasi morfologi sel, inti sel maupun sitoplasma sel, sehingga bisa memberikan gambaran menyeluruh kondisi morfologi sel yang diperiksa.

Teknik pewarnaan untuk standar pemeriksaan sitologi, yaitu :

### 1. Pewarnaan Papanicolaou

Terdapat lima langkah utama dalam metode pewarnaan Papanicolaou, yaitu :

- a. Fiksasi
- b. Pewarnaan Inti
- c. Pewarnaan sitoplasma
- d. Penjernihan ( Clearing )
- e. Mounting

### 2. Pewarnaan Giemsa.

Langkah-langkah dalam pewarnaan Giemsa :

- a. Fiksasi
- b. Pewarnaan dengan larutan Giemsa
- c. Mounting

### Prosedur pewarnaan Papanicolaou:

- |   |                    |
|---|--------------------|
| 1. Sediaan apusan difiksasi dengan alkohol 95 % | 15 menit (minimal) |
| 2. Alkohol 80 %                                 | 10 celup           |
| 3. Alkohol 70 %                                 | 10 celup           |
| 4. Alkohol 50 %                                 | 10 celup           |
| 5. Aquadest                                     | 10 celup           |
| 6. Harris Haematoxylin                          | 3-5 menit          |
| 7. Cuci dengan air mengalir                     |                    |
| 8. HCL 0,25 %                                   | 3-4 celup          |
| 9. Cuci dengan air mengair                      |                    |
| 10. Lithium 0,5 %                               | 10 celup           |
| 11. Cuci dengan air mengalir                    |                    |
| 12. Alkohol 50 %                                | 10 celup           |
| 13. Alkohol 70 %                                | 10 celup           |
| 14. Alkohol 80 %                                | 10 celup           |

15. Alkohol 95 %	10 celup
16. OG 6	3-5 menit
17. Alkohol 95 %	10 celup
Alkohol 95 %	10 celup
Alkohol 95 %	10 celup
18. EA 50	3-5 menit
19. Alkohol 95 %	10 celup
Alkohol 95 %	10 celup
Alkohol 95 %	10 celup
Keringkan di udara	
20. Xylol	3 menit
21. Tutup dengan Entelan	

Keuntungan yang diperoleh dari metode pewarnaan Papanicolaou ini menurut Mukawi ( 1989) adalah :

1. Mewarnai inti sel dengan jelas, sehingga dapat dipergunakan untuk melihat inti apabila terdapat kemungkinan keganasan.
2. Menggunakan pewarna banding yang berbeda dengan pewarna utama untuk mewarnai sitoplasma , sehingga warna inti tampak lebih kontras.
3. Warna yang cerah dari sitoplasma memungkinkan dapat dilihatnya sel-sel lain di bagian bawah yang saling bertumpuk.

### **Prosedur pewarnaan Giemsa**

1. Sediaan apus setelah benar-benar kering fiksasi dengan metanol selama 5 menit, angkat dan biarkan kering di udara.
2. Masukkan ke dalam larutan Giemsa yang telah diencerkan selama 30 menit, angkat, cuci dengan air mengalir, keringkan di udara.
3. Masukkan ke dalam Xylol selama 3 menit.
4. Tambahkan 1-2 tetes entelan
5. Tutup dengan cover gelas
6. Bersihkan sisa entelan yang melekat pada kaca objek sehingga siap di beri label.

# **PENGANTAR PRAKTEK PREPARASI DAN PEWARNAAN SITOLOGI**

TIM SITOLOGI

Bagian Patologi Anatomi

FK UNPAD/RSUP DR.HASAN SADIKIN BANDUNG

2011







