

Perbandingan Fiksasi Metode Perendaman Dan Penyemprotan Alkohol 96% Terhadap Morfologi Sel Preparat Pap Smear Yang Diwarnai Papanicolaou

¹Sang Ayu Putu Yuliantini, S.Si.,M.Biomed

¹Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

yuliantini@unud.ac.id

²I Gede Wiranatha, S.Si.,M.Si

²Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

wiranatha@unud.ac.id

Abstract— Pap smear merupakan pemeriksaan yang dilakukan untuk mendeteksi kanker serviks uteri. Pemeriksaan Pap smear menggunakan bahan swab yang harus difiksasi sebelum pewarnaan Papanicolaou. Fiksasi memegang peranan penting untuk menghasilkan preparat yang baik dan adekuat. Saat ini fiksasi standar untuk Pap smear adalah dengan perendaman preparat menggunakan alkohol 96%. Banyak upaya yang dilakukan untuk memperoleh metode fiksasi yang lebih praktis atau sederhana, tetapi tetap mempertahankan kualitas preparat Pap smear. Penelitian ini bertujuan membandingkan fiksasi metode perendaman dan penyemprotan alkohol 96% terhadap morfologi sel preparat pap smear yang diwarnai papanicolaou. Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yaitu yang membandingkan proses preanalitik fiksasi preparat apusan Pap smear metode penyemprotan dengan perendaman. Sampel ini diperoleh dari 49 orang pasien wanita, masing masing pasien diambil 2 preparat Pap smear, kemudian 1 preparat difiksasi dengan alkohol 96% metode penyemprotan dan 1 preparat yang lain difiksasi dengan alkohol 96% metode perendaman, lalu dilakukan pewarnaan Papanicolaou. Data hasil pemeriksaan sampel diuji dengan uji statistic program SPSS.

Kata Kunci— Pap smear, fiksasi Alkohol 96%, Papanicolaou, penyemprotan, perendaman.

I. PENDAHULUAN

Pap smear merupakan pemeriksaan yang dilakukan untuk mendeteksi kanker rahim. Deteksi dini dengan Pap smear yang diperkenalkan pertama kali oleh seorang ahli Patologi bernama Dr. George N. Papanicolaou (1832-1962) dapat menurunkan angka kesakitan dan kematian akibat kanker serviks. Teknik fiksasi juga sangat mempengaruhi kualitas dari preparat Pap smear (Fatmasari, 2017).

Fiksasi memegang peranan penting untuk menghasilkan hasil yang adekuat. Tanpa fiksasi yang tepat, sel akan lisis dan tidak bisa terbaca. Untuk membuat suatu sediaan yang baik, sel dan jaringan yang akan diamati diharapkan sangat mirip dengan kondisi ketika sel masih hidup. Mekanisme kerja dari fiksasi pada dasarnya adalah mengawetkan bentuk sel dan organel sehingga mendekati bentuk ketika masih di tubuh (Khristian & Inderati, 2017).

Fiksasi ideal yang disarankan untuk apusan serviks vagina adalah alkohol 96 %. Keterlambatan fiksasi atau cara fiksasi yang tidak tepat dapat menyebabkan munculnya/adanya artefak yang dapat mengganggu proses pemeriksaan mikroskopis. Fiksasi yang tepat merupakan langkah kunci dalam persiapan apusan serviks, karena memastikan bahwa sel dapat terwarnai dengan baik dan terlihat jelas untuk analisis mikroskopis langsung atau untuk evaluasi ulang di masa mendatang (Wiastini *et al.*, 2019).

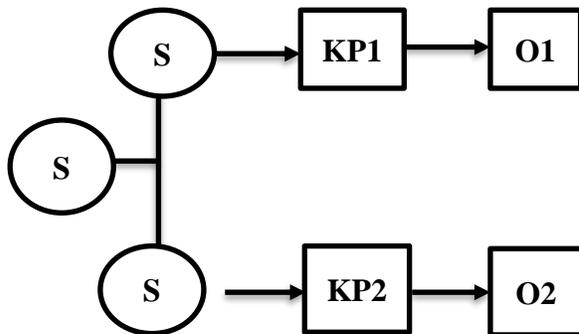
Secara umum metode fiksasi standar untuk preparat apusan/Pap smear yang dilakukan di laboratorium adalah dengan fiksasi basah menggunakan metode perendaman objek glass yang berisi apusan serviks dengan alkohol 96% selama minimal 30 menit (Ajileye *et al.*, 2021). Beberapa penulis menyatakan bahwa dalam situasi khusus untuk mempermudah dan mempercepat proses fiksasi dapat digunakan cara atau alternatif lain yang lebih efektif dan efisien. Alternatifnya adalah menggunakan salah satu semprotan fiksatif yang berbasis alkohol 96%. Metode fiksatif ini dilakukan dengan cara menyemprotkan cairan fiksasi tersebut ke permukaan objek glass yang sudah berisi apusan serviks berjarak 10-15 cm dari obyek glass tersebut sebanyak 2-4 kali semprot (Lestari, 2017).

Selain metode fiksasi, tahapan yang penting dalam pembuatan preparat sitologi adalah *staining*. *Staining* merupakan proses pewarnaan sel/jaringan, dimana kualitas pewarnaan juga dipengaruhi oleh metode fiksasi. Pewarnaan bertujuan untuk memudahkan pengamatan menggunakan mikroskop dan membedakan bagian-bagian jaringan yang akan diamati seperti sel, sitoplasma dan lain-lain. Pewarnaan rutin yang dipakai untuk preparat Pap smear di laboratorium adalah pewarnaan Papanicolaou. Dalam penelitian ini pewarnaan yang akan digunakan adalah *Hematoxylin*, *Orange G-6* (OG) dan *Eosin Azur-50* (EA-50). Pada tahap pewarnaan digunakan waktu yang berbeda-beda antara satu proses dengan proses lainnya (Naqsyabandi, 2022).

II. METODOLOGI DAN PROSEDUR

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yaitu sebuah penelitian yang membandingkan proses preanalitik metode fiksasi preparat apusan Pap smear antara fiksasi penyemprotan alkohol 96% dibandingkan dengan fiksasi metode standar yang digunakan di laboratorium yaitu dengan perendaman alkohol 96%. Disini yang dibandingkan adalah kualitas morfologi sel hasil pewarnaan Papanicolaou terhadap preparat Pap smear dari ke 2 metode fiksasi tersebut.

Bagan rancangan penelitian dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Keterangan:

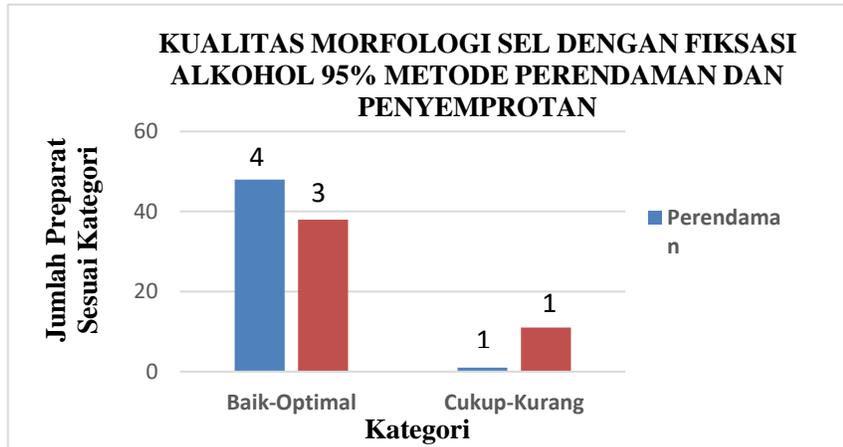
- S = Sampel preparat apusan serviks uteri
- SI = Sampel preparat apusan serviks uteri kelompok I
- SII = Sampel preparat apusan serviks uteri kelompok II
- KP1 = Kelompok fiksasi alkohol 96% metode penyemprotan
- KP2 = Kelompok fiksasi alkohol 96% metode perendaman
- O1 = Kualitas morfologi sel
- O2 = Kualitas morfologi sel
- O1 = Kualitas Morfologi Sel
- O2 = Kualitas Morfologi Sel

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Analisis Deskriptif

Analisis deskriptif meliputi rerata (mean), minimum dan maksimum pada variabel umur. Umur termuda pasien yang ikut Pap smear adalah 23,0 tahun dan pasien tertua adalah 74,0 tahun dengan rerata $45,27 \pm 10,42$ tahun.

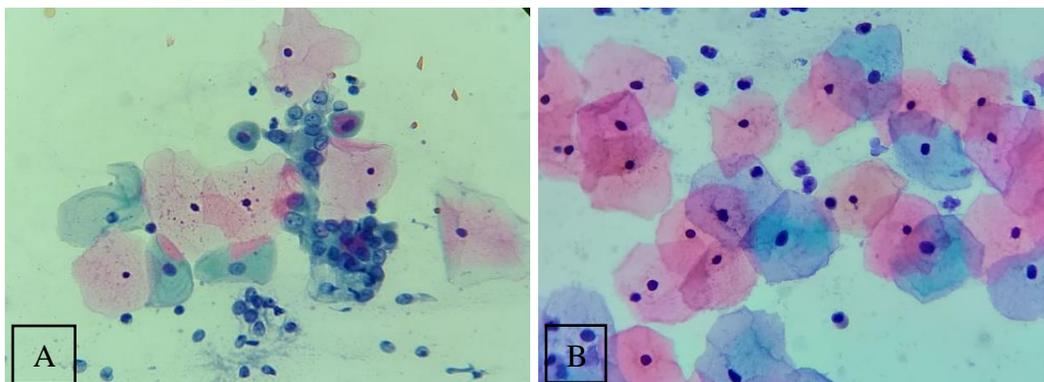
Pada penelitian ini, kualitas hasil mikroskopis morfologi sel yang diklasifikasikan menjadi 4 kategori awal yaitu optimal, baik, cukup dan kurang. Kemudian dikelompokkan lagi menjadi 2 kategori yaitu baik-optimal dan cukup-kurang, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 5.1 sebagai berikut:



Gambar 3.1 Perbandingan Kualitas Morfologi Sel Dengan Fiksasi Alkohol 95% Antara Metode Penyemprotan Dibandingkan Dengan Metode Perendaman Pada Preparat Pap Smear Yang Diwarnai Papanicolaou.

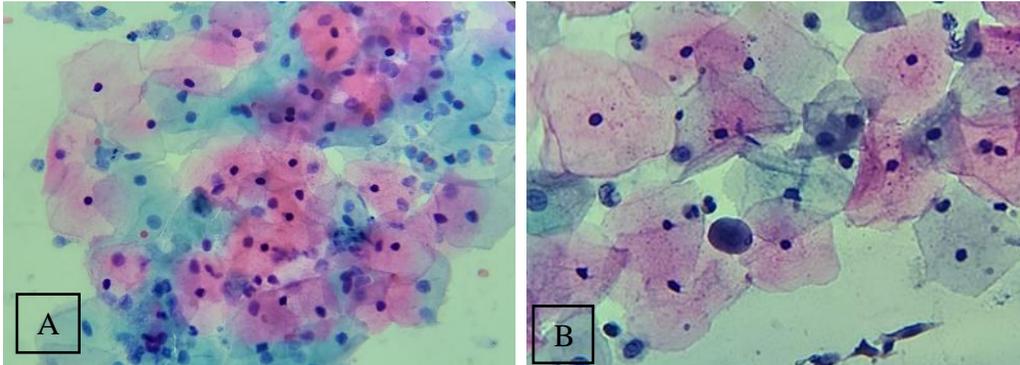
Dari gambar diagram diatas dapat dilihat hasil mikroskopis kualitas morfologi sel dengan fiksasi alkohol 95% metode perendaman preparat Pap smear yang diwarnai Papanicolaou pada kelompok kategori baik-optimal menunjukkan proporsi yang lebih besar yaitu sebanyak 48 preparat dibandingkan dengan kualitas hasil mikroskopis dengan fiksasi alkohol 95% metode penyemprotan yaitu sebanyak 38 preparat. Pada kualitas hasil mikroskopis morfologi sel dengan fiksasi alkohol 95% metode perendaman preparat Pap smear yang diwarnai Papanicolaou pada kelompok kategori cukup-kurang hanya ditemukan 1 preparat, sedangkan pada metode penyemprotan kategori cukup-kurang ditemukan 11 preparat.

Preparat diklasifikasikan kategori optimal, karena menunjukkan detail sitoplasma jelas, seperti *cyanofilia*, *orangefilia*, *eosinophilia*, kontur membran dan granulasi sitoplasma (*keratohyalin*, *nucleoprotein*) serta granulasi nukleus (kromatin, kontur membran *nukleus*) tampak jelas, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 5.2.



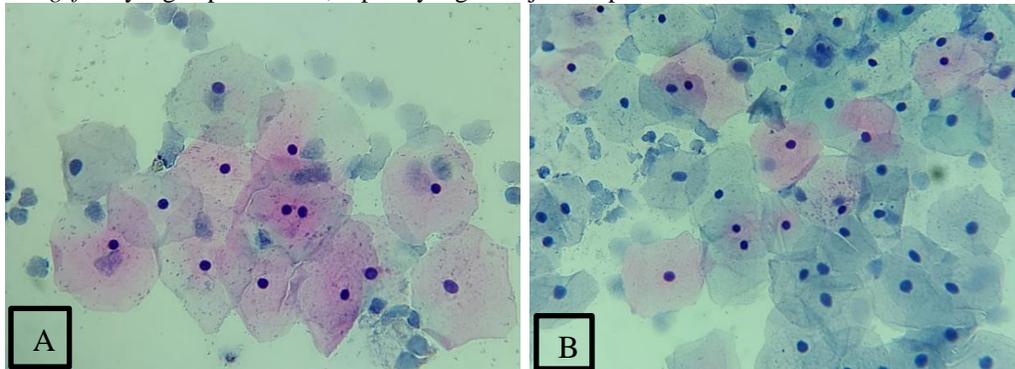
Gambar 3.2 Hasil Mikroskopis Preparat Pap Smear Kategori Optimal. A. Kualitas hasil mikroskopis preparat Pap smear dengan kategori optimal fiksasi metode perendaman (Papanicolaou, 400x). B. Kualitas hasil mikroskopis preparat Pap smear dengan kategori optimal fiksasi metode penyemprotan (Papanicolaou, 400x).

Preparat yang diklasifikasikan kategori baik, karena ditemukan kromatin tampak buram rendah dan kejernihan *sianofilia*, *eosinofilia* dan *orangefilia* (kepadatan lebih rendah) dan kesulitan dalam memvisualisasikan butiran sitoplasma (*keratohyalin*, *nucleoprotein*), seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3.3.



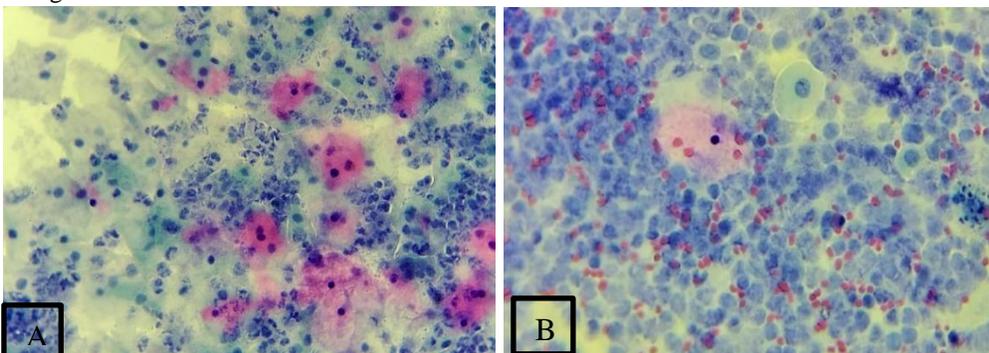
Gambar 3.3 Hasil Mikroskopis Preparat Pap Smear Kategori Baik. A. Kualitas hasil mikroskopis preparat Pap smear dengan kategori baik fiksasi metode perendaman (Papanicolaou, 400x). B. Kualitas hasil mikroskopis preparat Pap smear dengan kategori baik metode penyemprotan (Papanicolaou, 400x).

Preparat yang diklasifikasikan kategori cukup, karena tidak terdapat detail butiran sitoplasma (*keratohyalin*, *nucleoprotein*), kromatin buram, tidak adanya definisi kontur membran *nukleus* dan hampir tidak ada *cyanofilia* atau *orangefilia* yang dapat diamati, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3.4.



Gambar 3.4 Hasil Mikroskopis Preparat Pap Smear Kategori Cukup. A. Kualitas hasil mikroskopis preparat Pap smear dengan kategori cukup fiksasi metode perendaman (Papanicolaou, 400x). B. Kualitas hasil mikroskopis preparat Pap smear dengan kategori cukup fiksasi metode penyemprotan (Papanicolaou, 400x).

Preparat yang diklasifikasikan kategori kurang, karena terdapat urangnya diferensiasi *nukleus* dan sitoplasma dengan hilangnya intensitas kejernihan sitoplasma *cyanofilik*, serta adanya kromatin yang sangat buram, tanpa definisi kontur membran dan tidak adanya kejelasan dalam pewarnaan inti neutrofil dan butiran sitoplasma, seperti yang ditunjukkan pada gambar 3.5.



Gambar 3.5 Hasil Mikroskopis Preparat Pap Smear Kategori Kurang. A. Kualitas hasil mikroskopis preparat Pap smear dengan kategori kurang fiksasi metode perendaman (Papanicolaou, 400x). B. Kualitas hasil mikroskopis preparat Pap smear dengan kategori kurang fiksasi metode penyemprotan (Papanicolaou, 400x).

3.2 Perbandingan Kualitas Morfologi Sel Dengan Fiksasi Alkohol 95% Antara Metode Penyemprotan Dibandingkan Dengan Metode Perendaman Pada Preparat Pap Smear Yang Diwarnai Papanicolaou

Analisis kualitas morfologi sel diuji berdasarkan proporsi kualitas morfologi sel antara metode penyemprotan dan perendaman. Hasil analisis kemaknaan dengan uji *McNemar* disajikan pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1
Perbedaan Kualitas Morfologi Sel Dengan Fiksasi Alkohol 95% Antara Metode Penyemprotan Dibandingkan Dengan Metode Perendaman Pada Preparat Pap Smear Yang Diwarnai Papanicolaou

	Kualitas Morfologi Sel	Metode Perendaman		Jumlah	P*
		Baik-Optimal n (%)	Cukup-Kurang n (%)		
Metode Penyemprotan	Baik-Optimal	38 (77,6)	0 (0,0)	38 (77,6%)	0,002
	Cukup-Kurang	10 (20,4)	1 (2,0)	11(22,4%)	

Ket: Uji *McNemar*

Tabel 3.1 di atas, dengan analisis kemaknaan menggunakan uji *McNemar* menunjukkan bahwa nilai $p = 0,002$. Hal ini berarti bahwa proporsi kualitas morfologi sel dengan fiksasi alkohol 95% antara metode penyemprotan dengan metode perendaman berbeda secara bermakna ($p < 0,05$). Proporsi kualitas morfologi sel dengan katagori baik-optimal pada metode penyemprotan adalah 77,6% (38 dari 49 preparat), sedangkan proporsi kualitas morfologi sel katagori baik-optimal pada metode perendaman adalah 98,0% (48 dari 49 preparat). Proporsi kualitas morfologi sel katagori baik-optimal dengan metode perendaman 20,4% (10 preparat) lebih tinggi dibandingkan metode penyemprotan. Dari 48 sampel katagori baik-optimal pada kelompok fiksasi alkohol 95% metode perendaman, terdapat 10 preparat pada kelompok fiksasi 95% penyemprotan menunjukkan kualitas cukup-kurang. Hal ini bisa disebabkan karena apusan preparat terlalu tebal dan kurang merata, sehingga sel tidak terfiksasi dengan bagus. Terdapat 1 sampel menunjukkan katagori yang cukup-kurang pada metode perendaman, ini disebabkan karena pada apusan preparat tersebut terlalu banyak mengandung darah, sehingga dapat mengaburkan jenis sel pada Pap smear.

IV. KESIMPULAN

4.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa:

Temuan penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara kualitas morfologi sel dengan fiksasi alkohol 95% metode penyemprotan dibandingkan dengan metode perendaman pada preparat pap smear yang diwarnai Papanicolaou.

4.1 Saran

Berdasarkan evaluasi pada kasus yang menunjukkan hasil cukup-kurang pada fiksasi alkohol 95% metode penyemprotan dengan apusan yang tebal atau pun kurang merata, metode lain yang dapat dilakukan adalah dengan melakukan penyemprotan yang berulang pada sediaan Pap smear tersebut. Sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mempertahankan kualitas preparat Pap smear metode penyemprotan yang digunakan dalam mempertahankan hasil yang baik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih diucapkan kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LP2M) Universitas Udayana atas hibah dana penelitian unggulan program studi (PUPS) sehingga penelitian dapat dilakukan dan sebagai salah satu luaran dikutsertakan dalam Simposium Nasional Riset dan Abdimas Inovatif Berkelanjutan Tahun 2024 Senastek XI dan Senasdimas III, 29-30 November 2024 di The Patra Bali Resort & Villa Kuta, Badung.

DAFTAR PUSTAKA

Ajileye, A.B., Ajani, E.O. & Esan, E.O. 2021. Conventional Pap Smears for Identification of Infectious Organisms (*Trichomonas vaginalis* , *Gardnerella vaginalis* and *Candida albicans*) among Patients Attending University College Hospital , Ibadan . , 31(4): 9–19.

Arbyn, M., Weiderpass, E., Bruni, L., de Sanjosé, S., Saraiya, M., Ferlay, J. & Bray, F. 2020. Estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2018: a worldwide analysis. *The Lancet Global Health*, 8(2): e191–e203.

Chantziantoniou, N., Donnelly, A.D., Mukherjee, M., Boon, M.E. & Austin, R.M. 2017. Inception and development of the papanicolaou stain method. *Acta Cytologica*, 61(4–5): 266–280.

Cibas, E.S. & Ducatman, B.S. 2021. *Cytology Diagnostic Principles and Clinical Correlates*. Fifth Edit.

Damailia, H.T. & Oktavia, T.R. 2015. Faktor-Faktor Determinan Deteksi Dini Kanker Serviks Melalui Metode Pap Smear Pada Pasangan Usia Subur (Pus). *Gaster | Jurnal Ilmu Kesehatan*, 12(2): 99–107.

Fatmasari, A.R. 2017. Pap Smear Berbasis Kombinasi Fitur the Cervical Cancer Classification Through Feature Combination Based Pap Smear Images Andi Rezky Fatmasari Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin. *the Cervical Cancer Classification Through Feature Combination Based Pap Smear Images*.

Jeklin, A. 2016. *Gambaran Pengetahuan, Sikap dan Tindakan Ibu Tentang Pentingnya Pap Smear Sebagai Deteksi Dini Kanker Serviks*.

Kamal, M. 2022. Pap Smear Collection and Preparation: Key Points. *Cytojournal*.

Khristian, E. & Inderati, D. 2017. *Sitohistoteknologi*. Pusat Pend. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.

Lestari, D.Y. 2017. Perbandingan Penggunaan Fiksasi Hair Spray Dengan Fiksasi Rutin Pada Pap Smear Dengan Metode Bethesda. *Saintika Medika*, 11(2): 68.

Mastutik, G., Alia, R., Rahniayu, A., Kurniasari, N., Rahaju, A.S. & Mustokoweni, S. 2015. Skrining Kanker Serviks dengan Pemeriksaan Pap Smear di Puskesmas Tanah Kali Keding Surabaya dan Rumah Sakit Mawadah Mojokerto. *Majalah Obstetri & Ginekologi*, 23(2): 54.

Naqsyabandi S. 2022. Gambaran Variasi Waktu Pewarnaan Papanicolaou pada Preparat Sitologi Mukosa Mulut Perokok. *Jurnal Medika Husada*, 2(1): 19–24. <https://jurnal.aakpekalongan.ac.id/index.php/jumeha/article/view/10/20>.

Nayar, R. & Wilbur, D.C. 2015. *The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology*. Third Edit. R. Nayar & D. C. Wilbur, eds. Heidelberg New York Dordrecht London.

Nkwabong, E., Laure Bessi Badjan, I. & Sando, Z. 2019. Pap smear accuracy for the

Quintana, S.B.S., Carvalho, F.L., Silva, G.R.F., Campos, M.B.T., Maia, M.C.S., Araújo Júnior, M.L.C. & Quintana, M.S.B. 2019. Comparative evaluation of the quality of Papanicolaou staining at different intervals of fixation times using 96% ethyl alcohol. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. <http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/1676-2444.20190006>.

Sari, I., Bastian & Realita, T.E. 2021. Analisa Metode Fiksasi Kering Menggunakan Giemsa Dan Fiksasi Basah

Menggunakan Papanculaou Pada Pemeriksaan Pap Smear. *Masker Media*, 9(2): 447.

Tarsy, I.K. 2018. Perbandingan Gambaran Mikroskopis Cairan Efusi Pleusa Tanpa Fiksasi Alkohol 70% dan Menggunakan Alkohol 70% dengan Variasi Waktu. *Mahasiswa Sarjana Keperawatan Universitas Muhammadiyah Kalimantan Timur*: 1–15. <http://repository.unimus.ac.id/2035/8/18>. MANUSKRIP.pdf.

Wiastrini, N.P.A.O., Putra, I.K.G.D. & Wibawa, K.S. 2019. Klasifikasi Sel Nukleus Pap Smear Menggunakan Metode Backpropagation Neural Network. *Jurnal Ilmiah Merpati (Menara Penelitian Akademika Teknologi Informasi)*, 7(3): 224.