

PENGARUH PENUNDAAN PEWARNAAN PREPARAT BAKTERI TAHAN ASAM METODE ZIEHL NEELSEN TERHADAP HASIL PEMERIKSAAN MIKROSKOPIK

Misnarliah¹, Mudrika²

¹Program Studi Analisis Kesehatan, Stikes YAPIKA Makassar, Indonesia
Email: missnarlia@gmail.com

² Program Studi Ilmu Keperawatan, Stikes YAPIKA Makassar, Indonesia
Email: mudrikaika452@gmail.com

Abstract

The microscopic examination of smear from sputum specimens plays an important role in the initial diagnosis and monitoring of pulmonary TB treatment. The Ziehl Nelseen method is the method for examining acid-resistant bacteria smear recommended by WHO. This method has high specificity for detecting acid-resistant bacteria in sputum. This study aims to determine the effect of postponement of sputum smear staining on the quality of acid-resistant bacteria germs on the results of microscopic examination using the Ziehl Nelseen staining method. The length of time to delay staining used was 3 days, 2 days and the control was direct preparations staining. The sample used was positive smear sputum. The results showed that from 10 samples of sputum, the results obtained were directly stained with results of 1+ there were 7 samples, and 2+ there were 3 samples, while the samples with the preparations were delayed for 2 days and 3 days at room temperature, respectively +1 as many as 7 samples, and 2+ as many as 3 samples. However, there was no difference in the reading of the staining results between the direct stained samples with the stained preparations with a delay of 2 days and 3 days at room temperature. The results of this study still have many shortcomings and to improve them it is recommended to carry out further research with a larger scale and sample size.

Keywords: Acid-resistant bacteria, Preparation, Tuberculosis

Abstrak

Pemeriksaan mikroskopik BTA dari spesimen sputum memegang peran penting dalam diagnosis awal dan pemantauan pengobatan TB paru. Metode *Ziehl Nelseen* merupakan metode pemeriksaan BTA yang direkomendasikan oleh WHO. Metode ini memiliki spesifisitas yang tinggi untuk mendeteksi bakteri tahan asam (BTA) pada sputum. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penundaan pewarnaan preparat sediaan apus sputum terhadap kualitas kuman BTA pada hasil pemeriksaan mikroskopis dengan menggunakan metode pewarnaan *Ziehl Nelseen*. Lama waktu penundaan pewarnaan yang digunakan adalah 3 hari, 2 hari dan kontrol adalah pewarnaan preparat langsung. Sampel yang digunakan adalah sputum BTA Positif. Hasil Penelitian menunjukkan dari 10 sampel sputum hasil yang langsung pewarnaan dengan hasil 1+ ada 7 sampel, dan 2+ ada 3 sampel, sedangkan pada sampel yang pewarnaan preparat ditunda 2 hari dan 3 hari pada suhu ruang, masing-masing didapatkan hasil 1+ sebanyak 7 sampel, dan 2+ sebanyak 3 sampel. Namun, tidak ditemukan

**Pengaruh Penundaan
Pewarnaan Preparat
Bakteri Tahan Asam
Metode Ziehl Neelsen
Terhadap Hasil
Pemeriksaan
Mikroskopik**

Misnarliah, Mudrika

Jurnal Teknosains
Kodepena

pp. 58-63



perbedaan pembacaan hasil pewarnaan antara sampel pewarnaan preparat langsung dengan pewarnaan preparat tunda 2 hari dan 3 hari suhu ruang. Hasil penelitian ini masih memiliki banyak kekurangan dan untuk menyempurnakannya disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut dengan skala dan jumlah sampel yang lebih besar.

Kata kunci: BTA, Preparat, TB

1. PENDAHULUAN

Tuberkulosis Paru (TB Paru) merupakan penyakit infeksi yang masih menjadi masalah dalam masyarakat, baik dari sisi angka kematian (mortalitas), angka kejadian penyakit (morbiditas), maupun diagnosis dan terapinya (Eddin GM dkk, 2015). TB Paru tercatat sebagai salah satu masalah kesehatan dunia yang masuk dalam *Millennium Development Goals* (MDGs), menempati peringkat kedua sebagai penyakit pembunuh setelah Human Immunodeficiency Virus pada kasus penyakit menular (Kemenkes RI, 2014., Bahar, 2015). Dan hingga saat ini, Indonesia sebagai negara berkembang masih menjadi salah satu negara dengan kasus TB Paru tertinggi di dunia (WHO, 2011).

TB Paru termasuk penyakit menular dan meyerang sistem pernapasan terutama bagian paru-paru yang disebabkan oleh kuman TB *Mycobacterium Tuberculosis* (Buntuan V, 2014; Silvani H dan Sureskiarti E, 2016). *Mycobacterium Tuberculosis* merupakan jenis bakteri gram positif yang hidup di lingkungan dan kemudian masuk kedalam inhalasi sistem pernapasan (Rab, 2010). Bakteri ini dapat menular dari individu satu ke individu lainnya melalui percikan droplet yang terbawa oleh udara seperti batuk, dahak atau percikan ludah (Susanto AD, 2010). Percikan dahak yang sangat kecil ukurannya, dapat melewati sistem pertahanan mukosilier bronkus, dan terus berjalan sehingga sampai di alveolus dan menetap disana. Infeksi dimulai saat bakteri berhasil berkembang biak dengan cara membelah diri di paru, yang mengakibatkan peradangan di dalam paru. Waktu antara terjadinya infeksi sampai pembentukan kompleks primer adalah sekitar 4-6 minggu (Jawetz, E, Melnick.JL., Adelberg.E.A., 2013).

Target utama pengendalian penyakit tuberkulosis paru (TB) adalah menemukan pasien TB menular (BTA positif) dan menyembuhkan penyakitnya. Dengan memprioritaskan pada penemuan pasien TB dengan BTA positif, maka laboratorium merupakan kunci utama dalam mendiagnosis pasien TB. Hal ini ditegaskan pada komponen kedua strategi DOTS, yaitu penegakan diagnosis menggunakan pemeriksaan mikroskopik. Pemeriksaan mikroskopik BTA dari spesimen sputum memegang peran penting dalam diagnosis awal dan pemantauan pengobatan TB paru. Pemeriksaan BTA metode Ziehl Nelsen (ZN) merupakan metode pemeriksaan yang direkomendasikan oleh WHO. Pemeriksaan metode ini masih menjadi pilihan pertama untuk deteksi awal TB. Teknik ZN merupakan teknik yang mudah, murah, dan mempunyai spesifisitas yang tinggi untuk mendeteksi bakteri tahan asam (BTA) pada sputum. Rangkaian kegiatan yang baik diperlukan untuk mendapatkan hasil yang akurat, mulai dari cara pengumpulan sputum, pemilihan bahan sputum yang akan diperiksa, pembuatan sediaan apus sputum,

teknik pewarnaan dan alat-alat atau bahan/reagen harus diperhatikan kualitasnya (Depkes RI, 2012; Nining K & Sulfiyani, 2015).

Seiring dengan tingkat kesadaran masyarakat untuk memeriksakan diri pada tempat pelayanan kesehatan, termasuk Puskesmas, jumlah spesimen sputum yang akan diperiksa oleh laboratorium puskesmas tentu akan semakin banyak dan memerlukan kesigapan petugas laboratorium. Kondisi sputum dalam pemeriksaan mikroskopis BTA adalah penting. Sputum yang baik mengandung beberapa partikel atau sedikit kental dan berlendir, kadang-kadang malah bernanah atau berwarna hijau kekuningan (Bastian, Ivan dan Lumbh, 2008). Guna menjamin spesimen sputum bermutu baik, harus segera dikirim ke laboratorium secepat mungkin segera setelah pengambilan. Namun apabila sputum yang sudah diambil dari pasien tertumpuk dan menunggu untuk dilakukan pemeriksaan laboratorium, tentu dapat mengurangi kualitas sputum dan mempengaruhi hasil pembacaan pemeriksaan secara mikroskopis (Teguh B. & Kuncoro A., 2016).

Untuk mencegah hal tersebut, seorang analis kesehatan berupaya mempertahankan kualitas sputum dengan segera membuat slide sediaan apus sputum untuk pemeriksaan, namun terkadang karena terbatasnya waktu dan sumber daya manusia sehingga slide sediaan apus sputum yang telah difiksasi terpaksa disimpan dan ditunda berjam-jam bahkan berhari-hari sebelum dilakukan pewarnaan. Oleh sebab itu peneliti tertarik untuk mengkaji dan melakukan penelitian mengenai pengaruh penundaan pewarnaan preparat BTA metode *Ziehl Neelsen* terhadap hasil pemeriksaan mikroskopik, untuk mengetahui pengaruh penundaan pewarnaan preparat BTA positif terhadap kualitas BTA pada sputum.

2. METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratorium. Melakukan pewarnaan *Ziehl Neelsen* pada sputum BTA positif dengan lama rentang waktu penundaan pewarnaan preparat sediaan yang berbeda-beda.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sputum BTA Positif dari penderita TB paru sebanyak 10 (sepuluh) penderita, dimana sampel sputum ini akan dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan yaitu penundaan pewarnaan preparat 2 hari suhu ruang, penundaan pewarnaan preparat 3 hari suhu ruang, dan kontrol (tanpa perlakuan penundaan pewarnaan preparat). Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Puskesmas Mamajang kota Makassar. Sampel sputum diambil dari pasien dengan diagnosis TB Paru yang datang melakukan pemeriksaan di Puskesmas, dan memenuhi kriteria inklusi-inklusi yang telah ditentukan. Kriteria inklusi: sampel encer, batuk lebih dari tiga minggu. Kriteria eksklusi: sampel encer, sampelnya air liur. Sampel sputum yang digunakan dalam penelitian ini dibatasi pada sputum pagi sewaktu yang diperoleh dari pasien yang datang sendiri ke Puskesmas. Setiap sampel dilakukan pemeriksaan dengan teknik pewarnaan *Ziehl Neelsen* (ZN).

Pada penelitian ini, pembuatan sediaan apusan sputum dibuat dengan ose atau sengkliit, dengan urutan : ose dipanaskan di atasnya api Bunsen sampai merah dan dibiarkan sampai dingin, untuk sterilisasi. Sputum dioleskan secara merata dengan bentuk oval pada permukaan kaca objek dengan ukuran sekitar 2 x 3 cm. Sediaan yang sudah kering diambil dengan pinset pada sisi yang berlabel dengan

sediaan sputum menghadap ke atas. Kemudian sediaan tersebut difiksasi dengan cara dilewatkan diatas nyala api sebanyak 2-3 kali.

Masing-masing sampel sputum dibuat dalam 3 jenis preparat (sediaan apusan sputum) pada 3 *object glass* berbeda untuk 3 kelompok perlakuan yang berbeda. Kelompok perlakuan 1: sediaan apusan sputum yang sudah kering pada *object glass* lalu difiksasi dan dibiarkan pada suhu ruang selama 2 hari (2 x 24 jam) sebelum dilakukan pewarnaan ZN, Kelompok perlakuan 2: sediaan apusan sputum yang sudah kering pada *object glass* lalu difiksasi dan dibiarkan pada suhu ruang selama 3 hari (2 x 24 jam) sebelum dilakukan pewarnaan ZN, dan Kelompok perlakuan 3 (sebagai kontrol) : sediaan apusan sputum yang sudah kering lalu di fiksasi dan segera dilakukan pewarnaan ZN .

Teknik Pewarnaan ZN dilakukan dengan menambahkan larutan carbol fuchsin 0,3% pada seluruh permukaan sediaan (apusan sputum). Setelah itu dipanaskan diatas nyala api sampai keluar asap (tetapi tidak sampai mendidih atau kering) selama 5 menit. Sediaan dibiarkan kering di udara selama 5-7 menit. Kelebihan cat dibuang dan dicuci dengan air yang mengalir. Setelah itu sediaan di beri larutan asam alkohol 3% (*hydrochloric acid-ethanol*) dan dibiarkan 2-4 menit kemudian dicuci dengan air mengalir selama 1-3 menit. Setelah itu dituang larutan methylene blue 0,1% sampai menutup seluruh permukaan dan ditunggu selama 1 menit kemudian larutan dibuang dan dicuci dengan air mengalir, lalu dikeringkan dan dilakukan pembacaan hasil.

Pembacaan hasil pewarnaan dilakukan dengan mikroskop pembesaran 1000x dengan meneteskan minyak emersi pada sediaan. Bakteri BTA akan berwarna merah muda bata dan bakteri non BTA akan tampak berwarna biru. Pembacaan hasil jumlah BTA berdasarkan skala IUATLD (*International Union Againts Tuberculosis and Lung Diseases*, lihat Tabel 1).

Tabel 1. Skala IUATLD (*International Union Againts Tuberculosis and Lung Diseases*)

Pembacaan di Bawah Mikroskop	Pelaporan Hasil
Tidak ditemukan BTA pada 100 lap pandang	Neg.
1-9 BTA dalam 100 lapangan pandang	Tulis jumlah BTA yang ditemukan
10-99 BTA dalam 100 lapangan pandang	+1
1-10 BTA dalam 1 lapangan pandang	+2
>10 BTA dalam 1 lapangan pandang	+3

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemeriksaan spesimen sputum (dahak) secara mikroskopis nilainya identik dengan pemeriksaan sputum secara biakan. Pemeriksaan sputum secara miroskopis masih dianggap efisien, mudah, murah, bersifat spesifik dan sensitif. Penunjang keberhasilan uji mikroskopis sputum adalah kualitas sputum agar tidak didapatkan hasil BTA negatif semu. Dari penelitian yang telah dilakukan mengenai pengaruh penundaan pewarnaan preparat bakteri tahan asam metode *ziehl neelsen* terhadap hasil pemeriksaan mikroskopis, didapat hasil seperti tertera pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil pewarnaan dengan menggunakan beberapa waktu penundaan pewarnaan preparat sediaan apusan

Misnarliah, Mudrika
Pengaruh Penundaan Pewarnaan Preparat Bakteri Tahan Asam Metode *Ziehl Neelsen*
Terhadap Hasil Pemeriksaan Mikroskopik

Nomor Sampel	Kualitas Hasil Pewarnaan ZN		
	Preparat Tunda 3 Hari	Preparat Tunda 2 Hari	Langsung
1	Positif 1	Positif 1	Positif 1
2	Positif 1	Positif 1	Positif 1
3	Positif 1	Positif 1	Positif 1
4	Positif 2	Positif 2	Positif 2
5	Positif 1	Positif 1	Positif 1
6	Positif 1	Positif 1	Positif 1
7	Positif 2	Positif 2	Positif 2
8	Positif 1	Positif 1	Positif 1
9	Positif 2	Positif 2	Positif 2
10	Positif 1	Positif 1	Positif 1

Dari tabel 2 dapat diketahui bahwa 10 sampel sputum yang dijadikan subjek dalam penelitian ini memberikan hasil pewarnaan BTA positif dengan hasil pewarnaan baik dan jelas (berwarna merah bata muda).

Pada sampel sputum yang langsung pewarnaan (sebagai kontrol) diperoleh hasil positif 1 sebanyak 7 sampel, dan positif 2 sebanyak 3 sampel, sedangkan pada sampel yang pewarnaan preparat ditunda 2 hari dan 3 hari pada suhu ruang, masing-masing didapatkan hasil positif 1 sebanyak 7 sampel, dan positif 2 sebanyak 3 sampel. Hal ini menunjukkan tidak terdapat perbedaan pembacaan hasil pewarnaan antara sampel pewarnaan preparat langsung dengan pewarnaan preparat tunda 2 hari dan 3 hari suhu ruang. Hasil yang jumlahnya bertambah (positif) tidak ada (0) dan hasil yang jumlahnya berkurang (negatif) juga tidak ada (0). Hal ini berarti bahwa pemeriksaan preparat sputum tunda 2 hari dan 3 hari pada suhu ruang tidak mengakibatkan hasil negatif semu dan positif semu.

4. PENUTUP

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dengan cara melakukan pewarnaan *Ziehl Neelsen* pada preparat sediaan apusan sputum dengan durasi waktu penundaan yang berbeda-beda, dapat disimpulkan bahwa tidak ditemukan perbedaan antara hasil pewarnaan BTA pada preparat sediaan apusan sputum yang ditunda selama 2 hari dan 3 hari di suhu ruang dengan hasil pewarnaan preparat sediaan apusan sputum yang langsung diwarnai. Hal ini berarti bahwa pemeriksaan preparat sputum yang ditunda 2 hari dan 3 hari pada suhu ruang tidak mengakibatkan hasil negatif semu dan positif semu. Hasil penelitian ini masih memiliki banyak kekurangan dan untuk menyempurnakannya disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut dengan skala dan jumlah sampel yang lebih besar.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Betty Suryawati, Leli Saptawati, Astari Febyane Putri, Jatu Aphridasari. (20). Sensitivitas Metode Pemeriksaan Mikroskopis Fluorokrom dan *Ziehl-Neelsen* untuk Deteksi *Mycobacterium tuberculosis* pada Sputum. Universitas Sebelas Maret. Smart medical journal (2018) vol. 1 no. 2. Eissn : 2621-0916.
- Bantuan V. (2014). Gambaran basil TahanAsam (BTA) Positif Pada Penderita Diagnosa Klinis Tuberculosis Paru Di Rumah Sakit Islam Siti Maryam Manado Periode Januari 2014 S/D Juni 2014. Jurnal eBiomedik (eBM), Vol 2(2):593.

- Eddin MG, Khairsyal o, Usman E. (2015). Profil kasus Tuberkulosis Paru di Instalasi Rawat Inap Paru RSUP Dr. M. djamil padangPeriode 1 januari 2010 – 1 Desember 2011. Jurnal kesehatan Andalas, Vol 4(3):888.
- Mega Mirawati, Estu Lestari. (2017). Pengaruh Pemberian Karbol Fuchsin Dan Pemanasan Sputum Sebelum Pembuatan Sediaan Terhadap Hasil Pewarnaan Bta. Poltekkes Kemenkes Jakarta III. Jurnal Ilmu dan Teknologi Kesehatan, Vol 5 Nomor 1, hlm : 23 - 33
- Nining Kurniati, Shufiyani. (2015). Pengaruh Pengeringan Preparat Bakteri Tahan Asam Pada Inkubator Terhadap Hasil Pemeriksaan Mikroskopik. Jurnal Medikes,Volume 2, edisi 1.
- Susanti D, Kountul C, Buntuan V. (2013). Pemeriksaan Basil Tahan Asam (BTA) Pada Sputum Penderita Batuk > 2 Minggu Di Poliklinik Penyakit Dalam BLU RSUP Prof Dr.R.D Kandou Manado. Jurnal eClinik (eCl), Vol 1(1)
- Susanto AD. (2010). Analisis Kadar Interferon Gamma Pada Penderita Tuberkulosis Paru Dan Orang Sehat.Jurnal Respirologi Indonesia, Vol30 : 119.
- Silvani H, Sureskiarti E. (2016). Hubungan Peran Aktif Keluarga SebagaiPengawas Minum Obat (PMO DenganAngka Kekambuhan TB Paru Di Ruang Seruni RSUD Abdul WahabSjahranie Samarinda. Jurnal Ilmu Kesehatan, Vol 4(2):66 S.