

PENGARUH VARIASI WAKTU PENANGANAN SAMPEL SPUTUM TERHADAP HASIL BTA DENGAN MENGGUNKAN SAMPEL LANGSUNG DAN TUNDA PADA SUHU 2°C- 8°C.doc

by Nurhamni NURHAMNI

Submission date: 10-Jul-2024 09:36AM (UTC+0700)

Submission ID: 2283546601

File name:

PENGARUH_VARIASI_WAKTU_PENANGANAN_SAMPEL_SPUTUM_TERHADAP_HASIL_BTA_DENGAN_MENGGUNKAN_SAMPEL_LANGSUNG_DAN_TUNDA_PADA_SUHU_2_C-8_C.doc (3.69M)

Word count: 9240

Character count: 57014

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Tuberkulosis paru adalah suatu penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* (M.TB). Penyakit ini dapat tertular secara akut maupun kronis dan terutama menyerang paru-paru (Suriani, 2020).

Mycobacterium tuberculosis merupakan bakteri berbentuk batang berwarna merah dengan ukuran 1-10 mikron dan lebar 0,2-0,6 mikron bila diperiksa di bawah mikroskop, bersifat tahan asam dengan menggunakan metode pewarnaan Ziehl Neelsen. Kebanyakan bakteri mati dalam beberapa menit setelah terkena panas, sinar matahari langsung, dan sinar ultraviolet. (Pratiwi L et al., 2020).

Menurut Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) pada tahun 2018, tuberkulosis paru merupakan ancaman global, penyebab kematian nomor 10 di seluruh dunia, dan sekitar sepertiga penduduk dunia terinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*. Sekitar 1,3 juta orang meninggal karena tuberkulosis di seluruh dunia, dimana 5,8 juta diantaranya adalah laki-laki, 3,2 juta adalah perempuan dan satu juta adalah anak-anak. Di Asia Tenggara, angka kejadian TBC mencapai 44% pada tahun 2018, sedangkan Eropa memiliki angka terendah yaitu 3% (Grace, 2023).

Sampai saat ini tuberkulosis (TB) masih menjadi masalah kesehatan di Indonesia yang menimbulkan permasalahan yang kompleks baik dari segi medis, sosial, ekonomi, dan budaya. Menurut Laporan Tuberkulosis Global Organisasi Kesehatan Dunia tahun 2020, Indonesia memiliki jumlah kasus tuberkulosis tertinggi kedua di dunia. Sekitar 845.000 kasus baru TBC didiagnosis setiap tahun dan angka kematiannya mencapai 98.000, atau 11 kematian per jam (M. Sabir & Sarifuddin, 2023).

Provinsi Sulawesi Selatan merupakan salah satu provinsi penyumbang jumlah kasus TBC yang dilaporkan pada tahun 2014 sebanyak 9.325 kasus dari 24 kabupaten/kota (Damayanti, 2018).

Berdasarkan laporan Wakil Pengawas Tuberkulosis Paru Wilayah Enrekang (WASOR), kasus positif tuberkulosis paru di Wilayah Enrekang pada tahun 2021 sebanyak 52 orang, sedangkan pada tahun 2022 dari 12 Puskesmas bertambah menjadi 72 orang. Dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa masih terdapat kasus positif tuberkulosis paru yang tidak terdeteksi hingga 100% sesuai target deteksi kasus.

Tuberkulosis didiagnosis berdasarkan gejala klinis, pemeriksaan fisik, hasil pemeriksaan radiologi, hasil pemeriksaan laboratorium dan pemeriksaan tuberkulin. Diagnosis tuberkulosis yang umum digunakan saat ini di laboratorium, termasuk rumah sakit dan

puskesmas, merupakan diagnosis bakteriologis dengan metode mikroskopis BTA.

Salah satu metode pemeriksaan mikroskopis secara langsung adalah pewarnaan Ziehl Neelsen. Pemeriksaan mikroskopis terus digunakan di Indonesia yang merupakan negara endemis tuberkulosis. Keuntungan mikroskopis dalam mendeteksi BTA adalah sederhana, ekonomis dan memungkinkan deteksi tuberkulosis secara cepat (Adriyani, 2016)

Salah satu faktor yang penentu dalam keberhasilan diagnosis tuberkulosis paru adalah metode mikroskopis BTA adalah pengolahan sampel dahak. Apabila BTA diperiksa secara mikroskopis dengan sampel dahak, dibutuhkan kualitas spesimen yang baik untuk mendapatkan sediaan yang berkualitas tinggi. Secara makroskopis, sputum harus dapat diamati, Ciri-ciri: sampel berupa sputum (bukan air liur), volume 3-5 ml, konsistensi lendir dan warna kuning kehijauan (purulen) (Kementrian Kesehatan RI, 2022).

Semua sampel dahak harus segera dikirim setelah diambil dan diuji di laboratorium. Jika tidak memungkinkan, sampel dahak disimpan dalam lemari es dengan suhu 2°C - 8°C paling lama satu malam. Apabila tidak ada lemari es dan keterlambatan pengiriman lebih dari 3 hari maka harus diberikan bahan pengawet yaitu campuran cetylpyridinium klorida (CPC) 1% dan natrium klorida 2% (Kemenkes RI, 2022).

Idealnya sampel dahak harus segera diperiksa. Apabila sampel dahak tidak dapat diperiksa karena sebab apapun, sesuai pedoman Kementerian Kesehatan, sampel dahak harus disimpan pada suhu 2°C hingga 8°C agar tidak berubah. Tidak disarankan membiarkan sampel dahak pada suhu ruangan lebih dari 1 jam. (Fujiki, A, 2015).

Di Puskesmas Baraka (Kabupaten Enrekang), keterlambatan pemeriksaan sampel dahak disebabkan oleh beberapa faktor di lingkungan Puskesmas tersebut. Penanganan sampel dahak yang terlambat, dilakukan penyimpanan sampel dahak dalam lemari es pada suhu 2°C hingga 8°C selama beberapa hari. Alasan keterlambatan pemeriksaan sampel dahak adalah karena petugas laboratorium yang bertugas pada pagi hari terbatas karena telah diberlakukan shift/piket sore dan malam bagi petugas laboratorium, di samping itu ada kegiatan internal yaitu program di Puskesmas berupa kunjungan setiap desa yang melibatkan petugas laboratorium. Akibatnya, petugas laboratorium tidak segera memproses sampel dan tertunda hingga beberapa hari. Keterlambatan ini dikhawatirkan akan mempengaruhi hasil pemeriksaan mikroskopis BTA.

Berdasarkan hasil penelitian (Kalma & Adrika, 2019), tidak terdapat perbedaan bermakna jumlah basil tahan asam antara sampel dahak yang diperiksa segera dengan sampel dahak dengan penundaan 24 jam. Hal ini tidak sesuai dengan penelitian (Ramadhani

et al., 2023) yang menemukan perbedaan signifikan antara hasil sampel dahak yang segera diproses dan sampel dahak yang disimpan dalam 24 jam.

Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti ingin melakukan penelitian dengan judul "Pengaruh variasi waktu penanganan sampel sputum terhadap hasil BTA dengan menggunakan sampel langsung dan sampel tunda 24 jam, 48 jam pada suhu 2°C - 8°C.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: apakah terdapat pengaruh variasi waktu penanganan sampel sputum terhadap hasil BTA dengan menggunakan sampel langsung dan sampel tunda 24 jam dan 48 jam pada suhu 2°C - 8°C?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan umum

Mengetahui pengaruh variasi waktu penanganan sampel sputum terhadap hasil BTA dengan menggunakan sampel langsung dan sampel tunda 24 jam dan 48 jam pada suhu 2°C - 8°C.

2. Tujuan khusus

- a) Mengetahui hasil pemeriksaan BTA dengan menggunakan sampel langsung.
- b) Mengetahui hasil pemeriksaan BTA dengan menggunakan sampel tunda 24 jam pada suhu 2°C - 8°C.

- c) Mengetahui hasil pemeriksaan BTA dengan menggunakan sampel tunda 48 jam pada suhu 2°C - 8°C.

D. Manfaat penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan bermanfaat bagi :

1. Manfaat untuk Klinis

Hasil penelitian ini dapat memberikan tambahan informasi atau pertimbangan dalam penunjang diagnostik terkait pemeriksaan tuberkulosis paru.

2. Manfaat untuk Institusi

Memberikan kontribusi ilmiah berdasarkan hasil penelitian kepada almamater khususnya di bidang mikrobiologi.

3. Bagi peneliti

Meningkatkan pengetahuan serta menerapkan teori dan praktik yang dipelajari di perkuliahan khususnya bidang mikrobiologi. Serta menjadi referensi bagi penelitian selanjutnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Umum Tuberkulosis

1. Pengertian Tuberkulosis

Tuberkulosis merupakan penyakit menular yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*. Bakteri ini dapat menyerang parenkim paru, namun dapat pula menyerang organ lain seperti pleura, kelenjar getah bening, tulang, dan organ lain di luar paru (TB ekstra paru). *Mycobacterium* menularkan penyakit melalui droplet yang dikeluarkan saat penderita tuberkulosis batuk atau bersin (Mar'iyah & Zulkarnain, 2021).

Bakteri ini berbentuk batang dan tahan asam sehingga kadang disebut Bakteri Tahan Asam (BTA). Kebanyakan patogen tuberkulosis biasanya menginfeksi parenkim paru dan menyebabkan tuberkulosis paru (Kemenkes RI, 2019).

2. Etiologi Tuberkulosis

Lima bakteri yang berhubungan erat dengan infeksi tuberkulosis yaitu *Mycobacterium tuberculosis* (M.TB), *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium africa*, *Mycobacterium microti*, *Mycobacterium canettii*. *Mycobacterium tuberculosis* merupakan bakteri paling sering menular dari orang ke orang melalui udara. Orang dengan daya tahan tubuh yang rendah rentan tertular tuberkulosis aktif dibandingkan orang dengan yang

mempunyai daya tahan tubuh yang baik. Sekitar 50 hingga 60 % pasien HIV-positif adalah penderita TBC aktif (Kemenkes RI, 2019).

Penyakit TBC adalah penyakit menular yang diakibatkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* yang menginfeksi berbagai organ misalnya paru-paru. Bakteri ini dapat diisolasi dari dahak penderita tuberkulosis. Infeksi dapat terjadi pada saluran pernapasan melalui udara, bakteri dari genus *Mycobacteria* adalah salah satu contoh dari bakteri tahan asam (Rafika. dkk, 2020).

Kelompok bakteri ini berbahaya bagi manusia, termasuk *Mycobacterium tuberculosis*. Selain manusia bakteri ini juga dapat menginfeksi hewan seperti kelinci percobaan ataupun monyet. Bakteri ini mengandung sejumlah besar bahan lipoid (lemak) di dinding selnya, yang membuat dinding selnya relatif kedap terhadap pewarna biasa, dan sel bakteri tidak termoda oleh pewarna biasa. *Mycobacterium tuberculosis* adalah bakteri gram positif, berbentuk batang, tidak mempunyai spora atau kapsul, perkembangannya 2 sampai 8 minggu, dan temperatur idealnya adalah 37 sampai 38°C, yaitu sesuai dengan suhu normal tubuh manusia (Hadijah dkk, 2023).

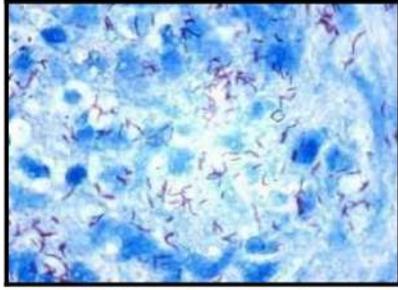
Berikut ini merupakan taksonomi dari *Mycobacterium tuberculosis* : (Widodo,Devi Evitia Purlinda, 2022).

Kingdom : *Bacteria*
Filum : *Actinobacteria*

Ordo : *Actinomycetales*
Sub Ordo : *Corynebacterinea*
Family : *Mycobacteriaceae*
Genus : *Mycobacterium*
Spesies : *Mycobacterium tuberculosis*

3. Morfologi

Ukuran bakteri ini adalah $0,4 \times 3\mu$, berbentuk batang, tidak membentuk spora, memiliki ciri yaitu tahan asam dengan nama lain Basil Tahan Asam (BTA). Bakteri ini tidak tahan panas dan mati pada suhu 60°C dalam waktu 5-20 menit. Bakteri tuberkulosis cepat mati dalam 2 jam terkena sinar matahari langsung, bertahan dalam lendir selama 20-30 jam dan dalam percik dahak selama 8-10 jam. Pada suhu ruang, lama penyimpanan kultur adalah 6 sampai 8 bulan, dan dapat bertahan selama 2 tahun pada suhu 20°C , tetapi pada tempat yang lembab hanya dapat bertahan selama beberapa jam. Bakteri tuberkulosis dapat dimusnahkan dengan larutan yodium selama 5 menit dan alkohol 80% selama 2-10 menit. Bakteri ini bersifat dorman di dalam jaringan tubuh (tidak aktif selama beberapa tahun) (Kuswiyanto, 2017).



Gambar 2.1 *Mycobacterium Tuberculosis*
(Sumber Quora)

4. Faktor Resiko Tuberkulosis

Menurut (Kemenkes RI, 2019), beberapa kelompok masyarakat berisiko tinggi tertular tuberkulosis. Kelompok-kelompok ini diantaranya :

- a. Penderita HIV memiliki komplikasi imonodefisiensi.
- b. Pasien memakai imunosupresan selama bertahun-tahun.
- c. Perokok dan Konsumsi alkohol tinggi.
- d. Anak-anak.
- e. Kontak erat dengan penderita tuberkulosis aktif.
- f. Tempat tinggal di lingkungan berisiko tinggi untuk tuberkulosis (misalnya, lembaga pemasyarakatan, fasilitas perawatan jangka panjang).
- g. Tenaga kesehatan.

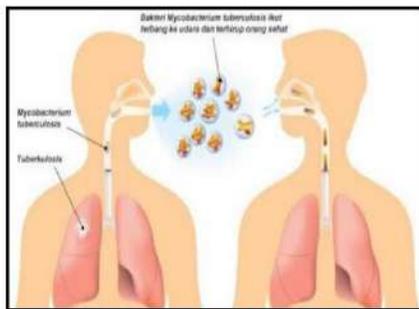
5. Epidemiologi

Penyakit tuberkulosis paru menular melalui udara (dalam bentuk percik renik), ketika penderita TB batuk, bersin atau berbicara, penyakit tuberkulosis paru dalam bentuk droplet menyebar melalui udara. Droplet yang sangat kecil tersebut dengan cepat kering dan menjadi droplet yang mengandung bakteri TBC paru. Bakteri tuberkulosis dapat bertahan hidup di udara selama beberapa jam, sehingga orang lain akan menghirup droplet yang mengandung unsur bakteri tuberkulosis paru. Ketika droplet ini terhirup dan masuk ke paru-paru seseorang, bakteri TBC mulai membelah (berkembang biak) sehingga menyebabkan infeksi. (Agustin, 2020).

Risiko infeksi berkaitan dengan lamanya dan kualitas paparan terhadap sumber infeksi, namun tidak bergantung pada faktor genetik atau faktor pejamu lainnya. Tuberkulosis sangat mudah tertular pada anak dibawah usia 3 tahun, pada masa kanak-kanak, sistem kekebalan tubuh masih dalam tahap perkembangan, sehingga risiko infeksi biasanya lebih rendah. Namun saat memasuki masa remaja dan dewasa muda, gaya hidup lebih aktif dan berbagai faktor lainnya bisa meningkatkan risiko infeksi. Selain itu pada usia tua, sistem kekebalan tubuh umumnya mengalami penurunan kinerja, sehingga risiko infeksi kembali meningkat. Bakteri dapat memasuki tubuh manusia melalui saluran

pernafasan, seperti melalui udara yang terhirup, dan kemudian menyebar ke bagian tubuh lain melalui aliran darah atau pembuluh limfatik. Selain itu, bakteri juga bisa menyebar langsung ke organ terdekat jika ada luka atau infeksi pada area tersebut (Masriadi, 2017).

Partikel-partikel ini berukuran sangat kecil, berdiameter 1-5 μm , sehingga tidak dapat dilihat oleh mata manusia dan dapat bertahan hidup di udara terbuka selama beberapa jam. Droplet nuklei masuk melalui saluran hidung atau mulut yang terbuka, kemudian ke saluran pernafasan bagian atas, kemudian ke bronkus dan alveoli. Setelah mencapai organ paru (jaringan paru), bakteri mulai menginfeksi dan berkembang biak.



Gambar 2.2 Penyebaran TB (Hilman Kamaluddin, 2020)
(Sumber jabar.tribunnews.com)

Tuberkulosis menyebar dari orang ke orang melalui udara. Gelembung kuning merupakan droplet nuklei yang

mengandung basil tuberkel. Tingkat penularan pasien ditentukan oleh banyaknya bakteri yang dikeluarkan saat batuk, bersin, atau berbicara. Semakin tinggi positifnya hasil pemeriksaan BTA maka akan semakin mudah untuk menular. Faktor tersebut ditentukan oleh jumlah percikan di udara dan waktu udara dihirup (Gannika, 2016).

6. Patogenesis Tuberkulosis

Setelah terhirup, droplet berpindah ke trakea bronkial dan masuk ke alveolus, kemudian makrofag alveolus mencerna droplet tersebut dan kemudian menghasilkan respon non spesifik. Salah satu strategi bakteri untuk bertahan hidup adalah dengan berkembang biak di dalam makrofag. Ini bisa menjadi tantangan bagi sistem kekebalan tubuh karena bakteri yang berkembang biak dalam sel makrofag menjadi sulit dijangkau oleh elemen pertahanan tubuh lainnya. Hal ini dapat menyebabkan infeksi yang lebih parah dan sulit diatasi.

Ketika seseorang menghirup udara yang mengandung tetesan *Mycobacterium tuberculosis*, bakteri tersebut dapat mencapai alveoli, yaitu bagian kecil dan ujung saluran pernapasan di paru-paru. Alveoli adalah tempat pertukaran gas oksigen dan karbondioksida terjadi antara udara yang masuk dan darah. Respon tubuh terhadap bakteri tersebut tergantung pada sensitivitas/imunitas tubuh, jumlah bakteri yang masuk dan virulensi

bakteri tersebut. Makrofag adalah jenis sel kekebalan tubuh yang berperan penting dalam memerangi infeksi bakteri. Ketika bakteri masuk ke dalam tubuh, makrofag akan menangkap dan memfagosit (menelan) bakteri tersebut. Setelah menelan bakteri, makrofag akan mengangkutnya ke berbagai bagian tubuh, termasuk ke tempat-tempat di mana sel T berada. Interaksi antara makrofag dan sel T merupakan bagian penting dari sistem kekebalan tubuh dalam melawan infeksi bakteri dan penyakit lainnya. Selama proses inflamasi, terbentuk nodul kecil berwarna pucat yang mengandung bakteri, yang disebut tuberkulosis primer (Agustin, 2020).

Mycobacterium tuberculosis tumbuh lambat dan membelah di dalam makrofag setiap 23-32 jam. *Mycobacterium* tidak memilik endotoksin atau eksotoksin, sehingga tidak ada respon imun langsung pada inang yang terinfeksi. Bakteri tersebut kemudian terus berkembang selama 2-12 minggu dan jumlahnya meningkat menjadi 10³-10⁴, yaitu jumlah bakteri yang dapat menyebabkan respon imun seluler yang terdeteksi, merusak makrofag dan melepaskan produk berupa basil tuberkel dan kemokin yang dapat menyebabkan infeksi, kemudian merangsang respon imun (Kemenkes RI, 2019).

a. Tuberkulosis Primer

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit yang dapat ditularkan melalui udara, khususnya melalui percikan dahak dari orang yang terinfeksi tuberkulosis aktif. Infeksi kemudian ditularkan melalui droplet berukuran 1-5 mikron. Percikan dapat bertahan di udara selama beberapa jam. Droplet nuclei yang mempunyai sifat aerodinamis masuk ke saluran pernafasan dan dapat masuk ke bronkus dan alveolus.

Setelah menghirup sejumlah droplet nuclei, *Mycobacterium tuberculosis* di saluran pernafasan difagositosis dan dicerna oleh sistem kekebalan nonspesifik yang di bawah makrofag. Ketika jumlah bakteri melebihi kemampuan makrofag untuk mencerna dan memfagositosis, *Mycobacterium tuberculosis* dapat bertahan hidup di makrofag dan berkembang biak secara intraseluler, sehingga mengakibatkan pneumonia tuberkulosis lokal. Granuloma terjadi ketika sistem kekebalan tubuh bereaksi dan membentuk penghalang pada area yang terinfeksi. Jika *Mycobacterium tuberculosis* mampu menyerang sistem kekebalan tubuh, maka dapat menyebar melalui kelenjar getah bening dan pembuluh darah ke jaringan dan organ lain, seperti kelenjar getah bening, ginjal, tulang, dan otak.

Mycobacterium tuberculosis, yang masuk melalui saluran pernafasan, tetap berada di jaringan paru-paru dan membentuk

sarang pneumonia yang dikenal sebagai lesi primer. Dari lesi primer, peradangan terjadi pada kelenjar getah bening hingga hilus (kelenjar getah bening lokal). Peradangan tersebut diikuti dengan peningkatan kelenjar getah bening hilus (limfadenitis regional). Lesi primer pada limfangitis regional disebut kompleks primer.

b. Tuberkulosis pasca primer

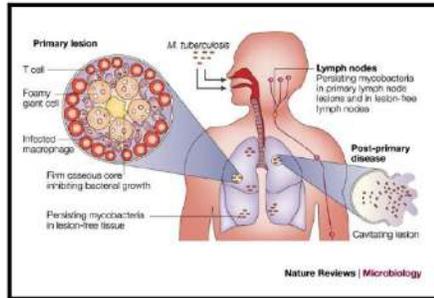
Tuberkulosis pasca primer mengacu pada kondisi dimana seseorang yang terinfeksi bakteri *Mycobacterium tuberculosis* telah mengalami infeksi primer tuberkulosis, tetapi kemudian mungkin mengalami reaktivasi infeksi tersebut setelah jangka waktu tertentu.

Infeksi primer tuberkulosis terjadi saat seseorang pertama kali terpapar bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Biasanya, sistem kekebalan tubuh akan berusaha melawan infeksi, dan dalam beberapa kasus, bakteri tersebut akan tetap berada dalam tubuh dalam keadaan laten, tanpa menyebabkan gejala penyakit yang nyata.

Namun, jika sistem kekebalan tubuh seseorang menjadi melemah karena berbagai alasan, seperti stres, malnutrisi, atau infeksi lain, bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang telah berada dalam keadaan laten dapat menjadi aktif kembali. Ini

dapat menyebabkan reaktivasi infeksi dan perkembangan tuberkulosis aktif.

Tuberkulosis pasca primer biasanya terjadi pada orang yang memiliki faktor risiko tertentu yang melemahkan sistem kekebalan tubuh mereka, seperti infeksi HIV, penggunaan obat immunosupresif, atau kondisi medis lain yang mengganggu fungsi sistem kekebalan tubuh (Kemenkes RI, 2019).



Gambar 2.3 Proses Masuknya Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* Kedalam Tubuh Manusia (Antonia & Sumardi, 2021)

7. Gejala Klinis Tuberkulosis Paru

Menurut Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2020) gejala klinis yang mungkin muncul pada tuberkulosis adalah sebagai berikut :

- a. Batuk lebih dari 2 minggu, terkadang disertai dengan dahak yang berdarah atau berwarna kuning kehijauan.

- b. Sesak napas atau nyeri dada.
 - c. Demam yang berlangsung lama, terutama di malam hari.
 - d. Berkeringat di malam hari tanpa penyebab yang jelas.
 - e. Penurunan berat badan.
 - f. Kelelahan dan kelemahan yang berkepanjangan.
 - g. Hilangnya nafsu makan.
8. Diagnonsis Laboratorium

Semua pasien yang diduga tuberkulosis harus menjalani pemeriksaan bakteriologis untuk memastikan tuberkulosis. Pemeriksaan bakteriologis adalah pemeriksaan apusan yang diambil dari sediaan biologis (dahak atau sampel lainnya), pemeriksaan kultur dan deteksi *M. tuberkulosis*, atau metode diagnostik cepat yang direkomendasikan oleh WHO. Diantanya adalah sebagai berikut:

a. Metode kultur

Teknik kultur masih dianggap sebagai tes standar emas karena lebih mudah dideteksi dan sensitivitas yang lebih baik dibandingkan metode mikroskopis, namun pertumbuhan *M. tuberkulosis* yang lambat sangat menghambat diagnosis penyakit ini secara cepat. Kelemahan lainnya adalah fasilitas penelitian hanya tersedia di laboratorium tertentu (Mertaniasih, dkk 2019).

Metode ini mempunyai beberapa kelemahan yaitu memerlukan waktu yang lama dalam menegakkan diagnosis pasti tuberkulosis paru, sehingga diperlukan alat diagnostik yang cepat, sensitif dan spesifik untuk menyempurnakan metode diagnostik konvensional seperti pewarnaan dan kultur BTA. Saat ini telah dikembangkan beberapa metode baru untuk diagnosis cepat tuberkulosis aktif dengan menggunakan teknik terbaik seperti pengujian genotipe atau molekuler. Meskipun cara ini memberikan hasil yang baik, namun biayanya sangat mahal (Muhammad Nizar, 2017).

b. Pemeriksaan Tes Cepat Molekuler (TCM)

pemeriksaan TCM dilakukan dengan menggunakan alat Xpert MTB/RIF. TCM adalah alat untuk diagnosis dan tidak dapat menggantikan kultur BTA dan pengujian kerentanan obat dalam mengevaluasi hasil pengobatan dan/atau mendeteksi resistensi terhadap obat selain rifampisin. TCM harus menjadi pemeriksaan pertama pada pasien yang diduga tuberkulosis (Alisjahbana et al., 2020).

c. Metode mikroskopis

Metode bakteriologis merupakan pemeriksaan yang direkomendasikan WHO sebagai gold standard diagnosis adalah pemeriksaan dahak dengan metode mikroskopis (Muhammad Nizar, 2017). Tujuan pemeriksaan dahak adalah

untuk memastikan diagnosis, mengukur keberhasilan pengobatan, dan mengidentifikasi infeksi atau penularan. Pemeriksaan dahak untuk penegakan diagnosis menggunakan sputum sewaktu - pagi (SP) (Kementrian Kesehatan RI, 2016).

WHO menentukan hasil pemeriksaan mikroskopis BTA skala *International Association of Tuberculosis and Lung Diseases* (IUATLD) sebagai berikut :

Negatif : BTA tidak ditemukan pada 100 lapang pandang.

Scanti : 1-9 BTA terlihat dalam 100 lapang pandang, jumlah dari bakteri disebutkan.

1+ : 10 – 99 BTA terlihat dalam 100 lapang pandang

2+ : 1 – 10 terlihat dalam 1 lapang pandang.

Pembacaan paling sedikit 50 lapang pandang

3+ : >10 BTA terlihat dalam 1 lapang pandang.

Pembacaan paling sedikit 20 lapang pandang

(Perhimpunan Dokter Paru Indonesia, 2021).

B. Tinjauan Umum Sputum

1. Pengertian Sputum

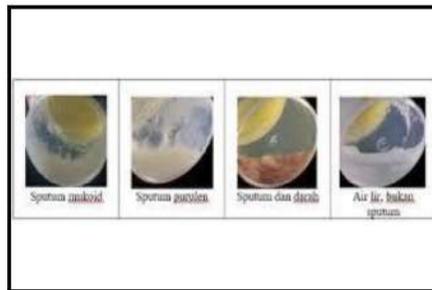
Sputum adalah lendir yang dihasilkan oleh saluran pernapasan bagian bawah, termasuk paru-paru, bronkus, dan trakea. Sputum biasanya dikeluarkan dari tubuh melalui proses

batuk atau meludah. Kata "sputum" sendiri memang berasal dari bahasa Latin "sputare", yang berarti meludah. Dahak yang baik adalah dahak yang sehat dan normal. Biasanya, dahak sehat memiliki konsistensi yang agak kental dan berlendir. Warna sputum yang normal bisa bervariasi dari transparan hingga putih kekuningan. Namun, kadang-kadang sputum dapat menjadi bernanah dan berwarna kuning kehijauan, yang bisa menunjukkan adanya infeksi bakteri dalam saluran pernapasan (Bastian. Ivan & Lumb, 2004).

2. Kriteria Sputum

Jika menerima sampel sputum didapatkan kriteria sebagai berikut :

- a. Dahak berlendir (mukoid): sebagian besar berlendir.
- b. Dahak bernanah (purulent) : berwarna hijau, sebagian besar bernanah.
- c. Dahak mukopurulen : hijau dan bernanah.
- d. Dahak mucosalivary : lendir dengan sedikit air liur.
- e. Hemoptisis: dahak bercampur darah. (Suganda et al., 2019).



Gambar 2.4 Jenis – jenis Sputum
(Sumber *Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia*)

3. Klasifikasi Sputum

Klasifikasi sputum dan kemungkinan penyebab terjadinya sputum menurut (Suganda et al., 2019) yaitu :

- a. Sputum yang dihasilkan ketika dilakukan pembersihan tenggorokan yang dari sinus atau saluran hidung, bukan dari saluran pernapasan bagian bawah.
- b. Sputum banyak sekali dan purulent kemungkinan proses supuratif.
- c. Sputum yang keluar perlahan dengan volumenya bertambah mungkin merupakan tanda penyakit bronkitis.
- d. Sputum warna kuning diakibatkan proses infeksi.
- e. Dahak berwarna hijau kemungkinan merupakan proses penimbunan nanah, warna hijau ini disebabkan adanya peroksidase, lendir berwarna hijau sering dijumpai pada

penderita bronkitis, karena lendir menumpuk pada bronkus yang melebar dan meradang.

- f. Sputum merah muda dan berbusa mungkin tanda edema paru akut.
- g. Sputum berlendir, lengket, abu-abu/putih mungkin merupakan tanda bronkitis kronik.
- h. Sputum yang berbau busuk dapat menjadi tanda dari beberapa kondisi medis, termasuk abses paru dan bronkiektasis.
- i. Hemoptisis dahak berdarah merupakan salah satu gejala yang sering terkait dengan tuberkulosis (TB)
- j. Purulensi atau keberadaan nanah dalam dahak merupakan ciri khas dari infeksi bakteri yang sering terjadi pada bronkitis kronis.
- k. Sputum mukopurulen, ini biasanya menandakan adanya respon tubuh terhadap infeksi bakteri dan peningkatan jumlah sel darah putih, termasuk neutrofil, yang terlibat dalam respons imun terhadap infeksi bakteri.
- l. Lendir berwarna putih susu atau keruh sering kali menjadi tanda bahwa sputum tersebut mengandung sel-sel darah putih dan debris yang tercampur, yang dapat terjadi pada berbagai kondisi pernapasan, termasuk infeksi bakteri atau virus.

m. Sputum yang berbusa putih seringkali dapat menjadi tanda adanya obstruksi atau edema dalam saluran pernapasan.

4. Stabilitas sampel sputum

- a) Stabilitas sampel pada suhu ruang selama 1 jam.
- b) Stabilitas sampel di suhu 2°C-8°C stabil dalam waktu 24 jam.

5. Wadah Dahak

Dianjurkan pemakaian wadah dahak harus steril dan tidak gampang pecah agar sampel dahak tetap terjaga kebersihannya dan tidak terkontaminasi, wadah harus dirancang sedemikian rupa sehingga tidak mudah bocor. Setiap wadah dahak harus diberi label pada badan wadah, bukan pada tutupnya. Label ini harus ditempatkan sebelum pengambilan dahak dan harus meliputi informasi penting seperti tanggal pengambilan dahak, nama pasien, dan nomor register laboratorium. (Fujiki, A, 2015).



Gambar 2.5 Wadah dahak

6. Waktu Pengambilan Sampel

Salah satu tujuan utama pemeriksaan dahak adalah untuk membantu dalam penegakan diagnosis penyakit TB. Pemeriksaan dahak, terutama menggunakan sputum sewaktu-pagi (SP), serta dapat memberikan informasi untuk memastikan diagnosis infeksi saluran pernapasan seperti tuberkulosis dan infeksi lainnya.

- a. Dahak sementara (S) adalah dahak yang diambil segera setelah seseorang diduga menderita TBC dan dilakukan pengambilan sampel sputum di Puskesmas.
- b. Dahak pagi (P) yaitu dahak yang dikumpulkan di pagi hari oleh penderita setelah bangun tidur, kemudian sampel dahak tersebut dibawa ke fasyankes untuk dilakukan pemeriksaan (Kementrian Kesehatan RI, 2016).

7. Cara Pengambilan Sputum

Sebelum melakukan pengambilan dahak, jelaskan dengan baik alasan pengambilan dahak untuk mencapai kerjasama yang baik. Pasien harus berkumur dengan air untuk menghilangkan sisa makanan. Pengumpulan dahak sebaiknya dilakukan di tempat terbuka dan pasien menghadap ke arah angin serta tidak boleh ada orang yang berdiri di depan pasien saat meludah. sputum tidak terlalu banyak, tapi cukup berkualitas. Saat memasukkan sputum ke dalam pot sampel,

berhati-hatilah agar tidak terkontaminasi bagian luar pot dahak. Ini merupakan tindakan yang sangat penting untuk mencegah kontaminasi dan menjaga kebersihan pot dahak serta pengelolaan sampel dahak secara aman (Fujiki, A, 2015).

8. Syarat sampel Sputum

Secara makroskopis, ciri-ciri sputum yang baik sebagai berikut: sampel berasal dari dahak (bukan air liur), volume 3-5 ml, tekstur seperti lendir, dan warna kuning kehijauan (Kemenkes RI, 2017).

9. Penanganan Sampel Sputum

Semua sampel dahak harus segera dikirim setelah diambil dan diperiksa di laboratorium. Jika tidak memungkinkan, simpan di lemari pendingin dengan suhu 2°C hingga 8°C, tidak lebih dari semalam. Apabila tidak ada lemari es dan keterlambatan pengiriman lebih dari 3 hari maka harus diberikan bahan pengawet yaitu campuran cetylpyridinium klorida (CPC) 1% dan natrium klorida 2% (Kemenkes RI, 2022).

C. Tinjauan Umum Pemeriksaan Ziehl Neelsen

Telah disepakati di dunia bahwa mikroskopis dahak menggunakan Ziehl Neelsen mempunyai standar mutu dan kendali dalam pemeriksaan mikroskop BTA sehingga hasil pemeriksaan dari suatu negara sama dan dapat dibandingkan dengan pemeriksaan dari negara lain. (Adriyani, 2016).

Pewarnaan Ziehl-Neelsen adalah metode pewarnaan yang digunakan dalam laboratorium untuk mendeteksi bakteri *Mycobacterium tuberculosis*, agen penyebab penyakit tuberkulosis (TB). Metode ini dinamai dari penemunya, yakni dua ahli mikrobiologi Jerman bernama Franz Ziehl dan Friedrich Neelsen, yang mengembangkannya pada tahun 1882 (Adriyani, 2016).

Adapun reagensia yang terdapat dalam pewarnaan Ziehl Neelsen adalah :

- a) Karbol Fuchsin 0,3% dan 1 % : Basic Fuchsin, Alkohol 95%, Phenol kristal, Aquadest.
- b) Asam Alkohol 3% : Alkohol 96% , HCL 37%.
- c) Methylene Blue : Methylene Blue, Aquadest (Hadijah et al., 2023).

Teknik pewarnaan Ziehl Neelsen menggunakan pewarna karbol fuchsin 0,3%, asam alkohol 3% dan biru metilen 0,3. Pewarna karbol fuchsin (fuchsin basah) yang dilarutkan dalam larutan fenol 5% digunakan sebagai langkah pertama dalam proses pewarnaan. Karbol fuchsin memberikan warna merah terang pada sel bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Selama proses pewarnaan dengan karbol fuchsin, sampel dahak dipanaskan. Tujuan pemanasan ini adalah untuk memperluas pori-pori lemak sel bakteri TB sehingga pewarna karbol fuchsin dapat masuk ke dalam sel bakteri dan terperangkap di dalamnya..

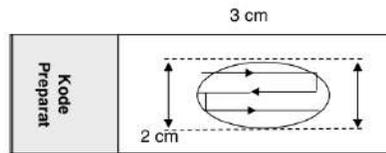
Setelah pemanasan, sampel dahak kemudian dicuci dengan larutan asam alkohol 3%. Asam alkohol berfungsi sebagai agen dekolorisasi yang membantu menghilangkan warna dari sel-sel yang tidak mengandung *Mycobacterium tuberculosis*. Sel bakteri TB memiliki kemampuan untuk mempertahankan warna karbol fuchsin bahkan setelah dicuci dengan asam alkohol. Langkah terakhir dalam proses pewarnaan adalah pemberian pewarnaan kontras dengan metilen biru 0,3%. Metilen biru memberikan warna biru pada latar belakang sediaan dan membantu meningkatkan kontras antara sel bakteri TB yang masih berwarna merah dan latar belakang.

Pemeriksaan BTA merupakan prosedur untuk mengidentifikasi bakteri penyebab tuberkulosis (TB). Bakteri penyebab tuberkulosis dapat hidup pada lingkungan yang asam, sehingga uji bakteri ini disebut dengan uji bakteri tahan asam (BTA). Tahapan pewarnaan dahak BTA dengan metode Ziehl Neelsen adalah sebagai berikut:

a. Pembuatan sediaan dahak yang baik

Saat membuat sediaan, ukuran dan ketebalan sediaan harus diperhatikan. WHO menetapkan ukuran sediaan ²⁸ 1 x 2 cm atau ¹⁰ 2 x 3 cm, namun Indonesia telah menyetujui ukuran sediaan 2 x 3 cm. Kerataan sediaan dilakukan dengan cara meratakan sputum di atas slide dengan menggunakan lidi/ose,

dengan membuat lingkaran-lingkaran kecil (spiral) agar dahak menyebar merata dan sesuai ukuran.



Gambar 2.6 Ukuran Sediaan hapusan dahak dan cara pembacaan menurut arah zig-zag

Untuk menilai ketebalannya, amati sediaan dari jarak 4-5 cm di atas kertas tulis (koran). Jika tulisan terlihat jelas berarti sediaan terlalu tipis, jika tulisan tidak terlihat berarti sediaan terlalu tebal, kalau sediaanya bagus, tulisannya masih terlihat tapi tidak jelas (Mertaniasih et al., 2019).



Gambar 2.7 Ketebalan Sediaan BTA
(Sumber Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia)

b. Pembuatan sediaan langsung

1. Pemberian nomor sediaan

- a) Pilihlah kaca mikroskopis yang baru, bersih, dan bebas dari minyak, goresan, atau sidik jari. Pastikan bahwa kaca tersebut tidak memiliki cacat atau kerusakan yang dapat mempengaruhi kualitas sediaan dahak.
- b) Pastikan bahwa nomor pada setiap sediaan dahak sesuai dengan nomor yang tertera pada wadah atau kemasan sediaan dahak. Hal ini memastikan bahwa setiap sediaan dapat diidentifikasi dengan jelas dan akurat.
- c) Tuliskan nomor tahun dan nomor sampel dahak pada ujung slide kaca menggunakan pena yang sesuai.

2. Pembuatan sediaan dahak

Gunakan lidi untuk mengambil sputum, pilihlah sputum yang purulent (kental) berwarna kuning kehijauan. Oleskan sputum ke slide/kaca, ratakan membentuk lingkaran kecil hingga sediaan berbentuk lonjong, lebar 1-2 cm dan panjang 2-3 cm. Sengkelit dengan berdiameter 3 mm juga dapat digunakan mengambil sputum untuk membuat olesan. Jika menggunakan lingkaran kawat sebagai pengganti lidi, celupkan lingkaran kawat ke dalam botol alkohol dan hilangkan sisa sputum dari

lingkaran kawat dengan menggerakkan ke atas dan ke bawah.

Panaskan dengan api hingga berpijar setelah selesai membuat preparat. Buanglah lidi kedalam tempat sampah. Gunakan satu batang lidi terpisah untuk setiap spesimen sputum.

3. Pengeringan dan fiksasi sediaan dahak

Sediaan dikeringkan pada suhu ruang, jangan biarkan kering dengan panas matahari langsung atau di dekat api. Apabila spesimen sudah benar-benar kering, pegang preparat menggunakan pinset atau penjepit dengan permukaan preparat menghadap ke atas. Lewatkan sediaan 2-3 kali selama kurang lebih 2-3 detik. Preparat tidak boleh terlalu lama di panaskan dikhawatirkan preparat akan hangus/gosong.

4. Penyusunan sediaan dahak

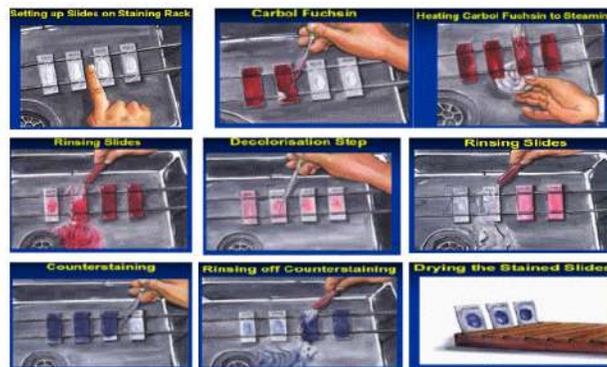
Letakkan sediaan sesuai nomor seri yang ada pada rak pewarnaan, pastikan permukaan preparat menghadap ke atas. Berikan jarak yang cukup antar sediaan untuk menghindari perpindahan bahan dan cairan dari satu sediaan ke sediaan lainnya (Fujiki. A, 2015).

5. Pewarnaan sediaan dahak

Waktu pencelupan dan penghilangan warna merupakan waktu perkiraan. Waktunya dapat bervariasi tergantung pada ketebalan sediaan dahak dan kualitas reagen.

1) Pewarnaan dengan karbol fuchsin

Aplikasikan larutan carbol fuchsin secara merata ke permukaan sediaan dahak yang telah disiapkan sebelumnya, pastikan agar seluruh permukaan sediaan dahak tercakup dengan baik oleh larutan pewarna.



Gambar 2.8. Proses Pewarnaan sediaan
(sumber mediblock.blogspot)

2) Pemanasan sediaan

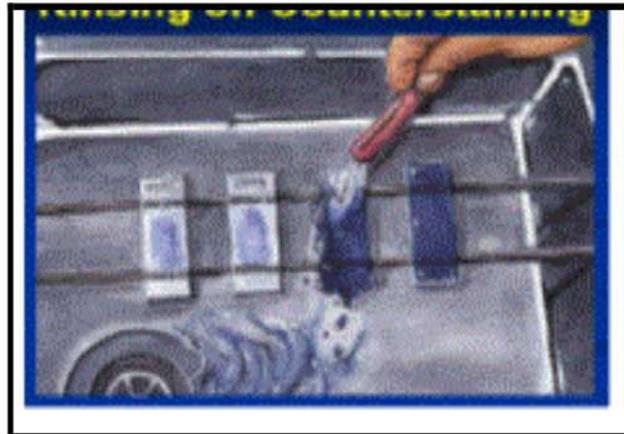
Letakkan sediaan yang telah diolesi carbol fuchsin, atur pemanasan pada tingkat rendah atau sedang untuk memastikan suhu yang cukup untuk memungkinkan pewarna meresap ke dalam badan bakteri tetapi tidak sampai mendidih, biarkan sediaan selama 5 menit.



Gambar 2.9. Pemanasan sediaan
(sumber Mediblog.blogspot)

3) Pembilasan sediaan

Miringkan preparat agar sisa pewarna hilang dan bilas pewarna hingga bersih dengan air mengalir. Miringkan preparat agar sisa air dapat terbang sempurna. (Fujiki. A, 2015).



Gambar 2.10. Proses Pembilasan sediaan
(sumber mediblock.blogspot.)

4) Dekolorisasi

- a. Basahi seluruh permukaan sediaan dahak dengan larutan dekolorisasi. Pastikan agar seluruh area sediaan tercakup dengan baik oleh larutan tersebut, dan diamkan selama kurang lebih 3 menit. Ulangi beberapa kali hingga preparat bersih.
- b. Bilaslah sediaan dengan air mengalir dan buanglah kelebihan air cucian (Fujiki. A, 2015).

5) Pewarnaan dengan methylen blue

Aplikasikan larutan metilen biru secara merata ke permukaan sediaan dahak. Pastikan agar seluruh permukaan sediaan tercakup dengan baik oleh larutan metilen biru, tidak lebih dari 30 detik.

6) Pembilasan sediaan

Setelah waktu inkubasi selesai, bilaslah sediaan dahak dengan air mengalir untuk menghentikan aksi larutan metilen biru dan membersihkan sediaan dari residu pewarna.

7) Pengeringan sediaan yang telah diwarnai

Sediaan dimiringkan kemudian letakkan sediaan pada rak pewarnaan dan biarkan kering di udara terbuka. Jangan mengeringkan di bawah sinar matahari langsung (Fujiki. A, 2015).

c. Pemeriksaan Mikroskopis

1. Penetesan minyak imersi (oil imersi)

Tetesi minyak imersi di atas preparat dahak yang sudah diwarnai. Jangan menyentuhkan ujung pipet ke preparat dahak untuk mencegah kontaminasi BTA dari preparat dahak satu ke preparat yang lainnya.

2. Pembacaan sediaan dahak

Periksa preparat dahak dengan lensa objektif 100x dan lensa okuler 10x. Baca setidaknya 100 bidang pandang untuk menentukan apakah suatu noda dilaporkan negatif. (Nizar, 2017).

d. Pencatatan

Catat semua informasi data secara lengkap dan akurat dalam log book laboratorium. Gunakan tinta merah untuk mencatat hasil "POSITIF". Selalu simpan buku catatan, karena tidak hanya digunakan untuk rujukan hasil, namun juga merupakan sumber informasi penting untuk diagnosis, pengobatan, kinerja program, dan logistik laboratorium. (Fujiki. A, 2015).

e. Pemeliharaan sediaan dahak

1. Membersihkan minyak imersi dari sediaan

Sediakan dua wadah xylene, celupkan preparat yang sudah diperiksa pada wadah pertama selama 30 menit untuk

membersihkan minyak imersi dan celupkan kembali pada wadah kedua untuk membersihkan minyak pada preparat. Simpan dalam kotak sediaan sebagai konfirmasi atau tanda mutu.

2. Penyimpanan mikroskop

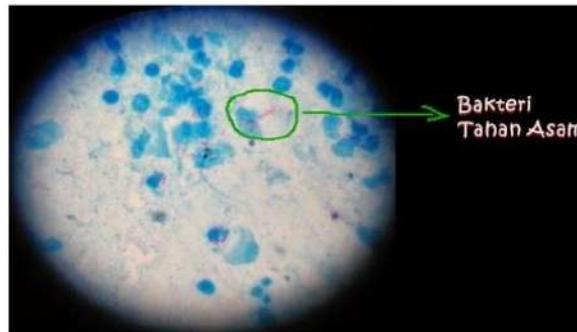
Basahi kertas lensa dengan cairan pembersih, yaitu etil eter-alkohol atau xylene. Pastikan untuk tidak menggunakan terlalu banyak cairan agar tidak menggenangkan atau merusak lensa. Gunakan kertas lensa yang telah dibasahi untuk membersihkan lensa objektif mikroskop secara lembut. Lakukan gerakan melingkar atau zigzag untuk menghilangkan debu dan kotoran dari permukaan lensa. Tutupi mikroskop dengan penutup vinyl untuk melindungi permukaan dari debu dan kotoran yang dapat mengganggu kualitas gambar mikroskop. (Fujiiki. A, 2015).

f. Observasi BTA

Gunakan lensa objektif dan lensa okuler mikroskop untuk mencari bakteri TB dalam bidang pandang mikroskop. Biasanya, BTA tampak berwarna merah atau merah muda dengan latar belakang yang diwarnai biru atau hijau, namun terkadang dapat menyerupai kokus berserabut/filamentous (seperti benang) atau berkelompok. Hitung jumlah BTA untuk tujuan pelaporan, Jika

memungkinkan, namun jika BTA berkelompok, perkiraan kasar saja sudah cukup.

Goresan pada permukaan preparat terkadang mirip dengan BTA, inilah yang disebut artefak. Namun, dalam beberapa kasus mudah dibedakan dari BTA karena ketika sel sampel difokuskan, garis-garisnya atau goresannya hilang, dan ketika goresannya sejajar, elnya hilang (Fujiki. A, 2015).



Gambar 2.11 Bakteri Basil Tahan Asam
(Sumber analisbantul.blogspotl)

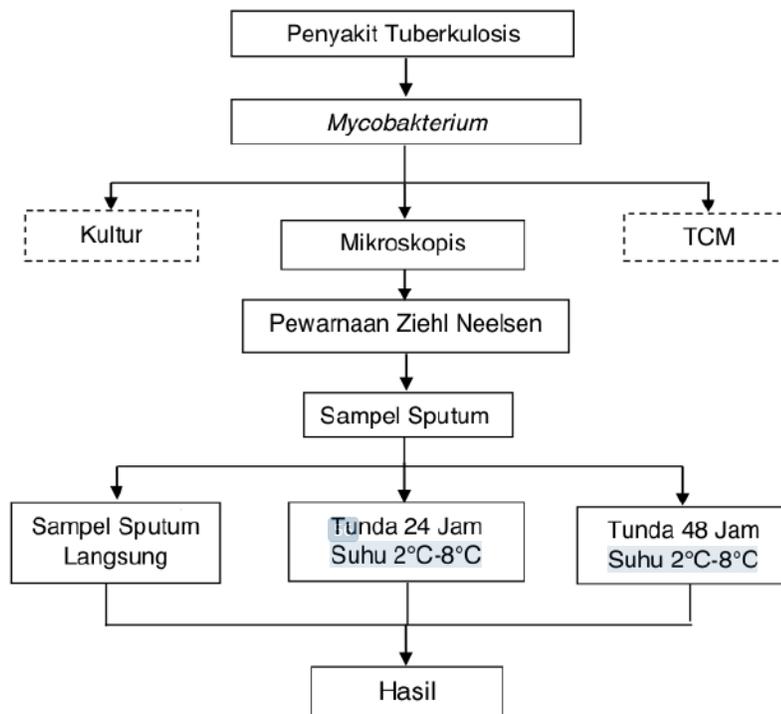
D. Kerangka Konsep

Tuberkulosis (TB) adalah penyakit menular yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Bakteri ini biasanya menyerang paru-paru manusia. Jika tidak ditangani dengan baik akan mengakibatkan komplikasi berbahaya bahkan kematian.

Ada tiga metode yang dapat digunakan untuk mendeteksi TBC paru, yaitu metode kultur, tes cepat molekuler (TCM), dan metode mikroskopis. Untuk pemeriksaan mikroskopis bakteri tahan asam,

khususnya *Mycobacterium*, Pewarnaan Ziehl Neelsen (ZN) merupakan pewarnaan yang digunakan hingga saat ini.

Sampel yang diambil dari pasien TBC sebaiknya segera dikirim ke laboratorium setelah pengambilan sampel. Jika sampel tidak segera diperiksa, sebaiknya disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 2°C sampai 8°C paling lama 24 jam.



29
Gambar 2.12 Kerangka Konsep

Keterangan :

Variabel yang diteliti : _____

Variabel yang tidak diteliti : - - - - -

E. Hipotesis

1. Hipotesis Nol (H_0)

Tidak terdapat perbedaan signifikan antara hasil BasilTahan Asam menggunakan sampel langsung dengan tunda 24 jam dan 48 jam yang disimpan pada suhu 20°C sampai 80°C, dengan nilai signifikansi kurang dari 0,05.

2. Hipotesis alternatif (H_a)

Terdapat perbedaan signifikan antara hasil pemeriksaan Basil Tahan Asam menggunakan sampel langsung dengan tunda 24 jam dan 48 jam yang disimpan pada suhu 2°C sampai 8°C dengan nilai signifikansi lebih dari 0,05.

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yaitu hasil pemeriksaan dahak BTA langsung dengan penundaan 24 jam, 48 jam pada suhu 2°C - 8°C.

B. Populasi Penelitian dan Sampel Penelitian**1. Populasi**

Populasi pada penelitian ini adalah semua sampel sputum yang diperiksa di UPT Puskesmas Baraka.

2. Sampel

Sampel penelitian adalah sampel sputum yang diperiksa di UPT Puskesmas Baraka rawat jalan maupun rawat inap.

3. Teknik pengambilan sampel

Pada penelitian ini teknik pengambilan sampel adalah total sampling. Apabila besar sampel sama dengan populasi utama, maka seluruhnya digunakan untuk sampel penelitian.

C. Tempat dan Waktu**1. Tempat**

Penelitian telah dilaksanakan di UPT Puskesmas Baraka Kabupaten Enrekang.

2. Waktu

Penelitian ini telah dilaksanakan mulai bulan Maret tanggal 25 sampai 30 April 2024.

D. Variabel penelitian

1. Variabel bebas

Sampel sputum BTA yang langsung diperiksa dan tunda 24 jam, 48 jam pada suhu 2°C - 8°C.

2. Variabel terikat

Hasil Pemeriksaan sampel sputum BTA yang langsung diperiksa dan tunda 24 jam, 48 jam pada suhu 2°C - 8°C.

E. Definisi Operasional

1. Waktu variasi penanganan sampel adalah waktu yang dilakukan dalam penanganan sampel dengan beberapa variasi waktu yang berbeda.
2. Sampel langsung adalah sampel sputum yang langsung diperiksa di UPT Puskesmas baraka.
3. Sampel tunda adalah sampel yang dilakukan penundaan pemeriksaan selama 24 jam dan 48 jam di UPT Puskesmas baraka.
4. Hasil sputum BTA adalah hasil yang didapatkan setelah melakukan pemeriksaan sputum BTA.
5. Metode Ziehl Neelsen adalah suatu metode yang digunakan dalam pewarnaan BTA dengan menggunakan tiga macam zat warna.

F. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat

Pot dahak bertutup ulir, Objek glass/slide, ose/lidi, lampu spiritus, korek api, rak pewarnaan, dan mikroskop.

2. Bahan

Sampel sputum / dahak dari penderita TB, reagen pewarnaan Zielh Neelsen (ZN), oil imersi.

G. Prosedur Penelitian

1. Cara Pengambilan Spesimen Sputum

Sampel sputum yang diperlukan untuk penelitian ini adalah sputum BTA dari pasien TBC yang datang ke UPT Puskesmas Baraka. Tata cara pengambilan sampel dahak adalah sebagai berikut :

- a. Gunakan pot dahak yang baru dan bersih serta memiliki tutup ulir dengan yang bermulut lebar kurang lebih 5 cm.
- b. Tulislah dengan jelas nama lengkap serta nomor identitas pasien di dinding pot sputum.
- c. Pengambilan sampel dahak dilakukan pada tempat yang telah ditentukan yaitu pojok TB yang diletakkan pada tempat terbuka yang tidak banyak lalu orang banyak dan mendapat sinar matahari langsung yang cukup, tersedia wastafel, sabun cuci tangan, tempat sampah dan tempat infeksius.

- d. Apabila pasien menggunakan gigi palsu, sebaiknya dilepaskan terlebih dahulu ¹⁶ sebelum berkumur.
- e. berkumurlah dengan air minum sebelum mengeluarkan dahak.
- f. Embuskan dahak dengan kuat dengan cara tarik napas dalam sebanyak dua sampai tiga kali.
- g. Kemudian ¹⁶ letakkan pot dahak yang terbuka di dekat mulut.
- h. Batuklah dengan keras dari dalam dada dan keluarkan dahak langsung ke dalam wadah dahak yang telah disiapkan. Kemudian segera tutup wadah dengan baik dan rapat.

H. Pembuatan sediaan

1. Tempatkan dahak pada slide, ¹⁰ sediaan dibuat secara merata, berukuran 2 x 3 cm dan tidak terlalu tipis, agar apusan tidak mengering sebelum diratakan.
2. Dengan menggunakan lidi lancip untuk membuat spiral-spiral kecil pada sediaan apusan setengah kering, agar didapat sebaran leukosit pada saat pembacaan.
3. Biarkan apusan kering di udara.
4. Letakkan sediaan menghadap ke atas, lewatkan sediaan dengan hati-hati melalui nyala api lampu spiritus sebanyak 3 kali.

I. Pewarnaan sediaan

1. Teteskan karbol fuchsin pada sediaan yang telah difiksasi.
2. Panaskan hingga beruap (pastikan tidak ³ sampai mendidih), diamkan selama 5 menit.

3. Pewarnaan dibuang dan tetesi asam alkohol selama 1-2 detik sampai berubah.
4. Cucilah sediaan dengan air mengalir.
5. Tambahkan methylene blue atau asam pikrat, biarkan selama 1 menit.
6. Cuci sediaan dengan air mengalir dan keringkan.
7. Periksa di bawah mikroskop dengan minyak imersi.

J. Cara pembacaan hasil Basil tahan Asam

Pembacaan dibawa mikroskop dengan menggunakan pembesaran 10 untuk menentukan lapang pandang kemudian pembesaran 100 untuk pembacaan BTA yang dilakukan di sepanjang garis horizontal terpanjang dari ujung kiri kekanan atau sebaliknya.

K. Pengumpulan data

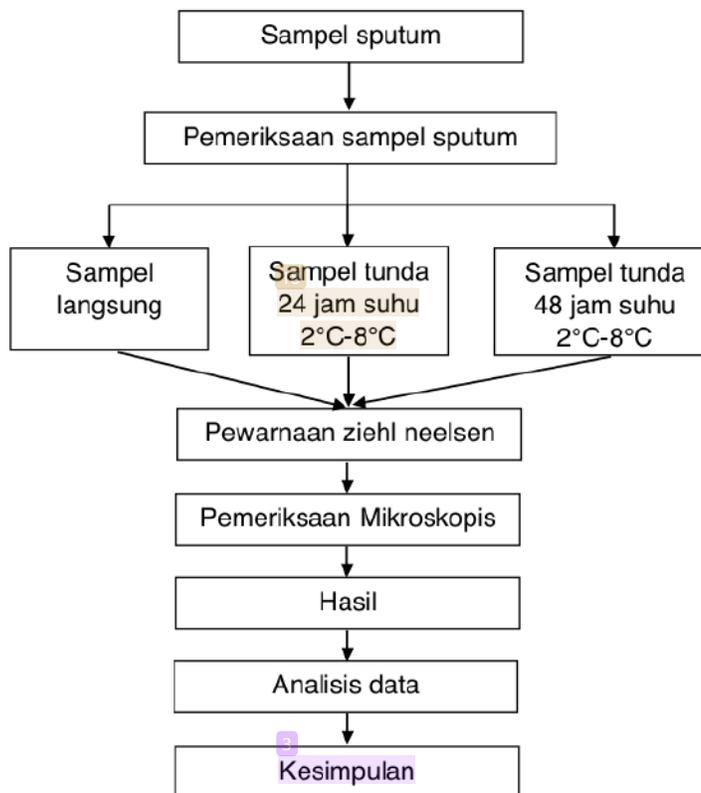
Data primer dikumpulkan dari hasil pemeriksaan mikroskopis BTA metode Ziehl Nelsen sampel sputum dengan variasi waktu penanganan sampel langsung diperiksa, tunda selama 24 jam dan 48 jam pada suhu 20-80°C.

L. Analisa Data

Data hasil penelitian yang diperoleh, diolah melalui program pengolahan data yang disajikan dalam bentuk tabel dan diagram. Data yang didapat dilakukan uji normalitas terlebih dahulu yaitu uji normalitas Shapiro-Wilk. Data yang tidak terdistribusi normal

menggunakan uji Non Parametrik dan dianalisis dengan Uji Wilcoxon Test, jika data berdistribusi normal akan menggunakan uji statistik Anova dengan menggunakan aplikasi *statistical product and service solution* (SPSS).

M. Kerangka Operasional



Gambar. 3.1 Kerangka operasional

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Penelitian ini mengenai pengaruh variasi waktu penanganan sampel dengan jumlah Basil Tahan Asam (BTA) menggunakan sampel langsung dan sampel tunda pada suhu 2^oC – 8^oC, dengan jumlah sampel sebanyak 5 sampel, pasien laki-laki sebanyak 1 orang dan pasien perempuan sebanyak 4 orang.

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret tanggal 25 – 30 April 2024, bertempat di UPT Puskesmas Baraka. Pengumpulan data ini diperoleh dengan pengambilan data primer yang secara langsung diambil dari objek dan diperoleh dari hasil percobaan laboratorium, dengan cara pasien diarahkan untuk berdahak. Jenis sampel yang digunakan adalah dahak pagi pasien.

Tujuan pemeriksaan ini untuk mengetahui pengaruh variasi waktu penanganan sampel dengan jumlah Basil Tahan Asam (BTA) menggunakan sampel langsung dan sampel tunda 24 jam dan 48 jam pada suhu 2^oC – 8^oC.

14 Hasil pemeriksaan disajikan dalam bentuk tabel dari gambar

sebagai berikut :

Tabel 4.1. Hasil pembacaan mikroskopis jumlah BTA

NO	KODE SAMPEL	HASIL PEMERIKSAAN BTA	JUMLAH BTA / 20 – 50 LP		
			LANGSUNG	TUNDA 24 JAM	TUNDA 48 JAM
1	A	Positif (+3)	370	357	342
2	B	Positif (+3)	355	323	315
3	C	Positif (+2)	115	109	98
4	D	Positif (+2)	102	99	88
5	E	Positif (+3)	480	450	425

(Sumber : Data Primer 2024)

Keterangan :

- a. Positif (+3) dibaca / 20 LP
- b. Positif (+2) dibaca / 50 LP

1 Hasil penelitian pada tabel 4.1, hasil pembacaan menunjukkan bahwa jumlah BTA pada tiap-tiap penundaan mengalami perubahan dari jumlah yang meningkat sampai jumlah yang sedikit dengan sampel pemeriksaan langsung, tunda 24 jam dan 48 jam pada suhu 2°C - 8°C. Hasil pemeriksaan tersebut sesuai dengan kriteria objektif 1 dimana dikatakan untuk positif 2 (++)¹, apabila ditemukan 1 – 10 BTA

setiap lapang pandang dengan minimal periksa 50 lapang pandang. Selanjutnya dikatakan positif 3 (+++), apabila ditemukan lebih dari 10 BTA dalam 1 lapang pandang dengan minimal periksa 20 lapang pandang (Perhimpunan Dokter Paru Indonesia, 2021).

Pada sampel 1 dengan pemeriksaan sampel secara langsung hasil menunjukkan positif 3 (+++) dengan jumlah 370, selanjutnya pada penyimpanan 24 jam juga menunjukkan positif 3 (+++) dengan jumlah 357, dan pada penyimpanan terakhir 48 jam juga positif 3 (+++) dengan jumlah 342.

Pada sampel 2 dengan pemeriksaan sampel secara langsung hasil menunjukkan positif 3 (+++) dengan jumlah 355, selanjutnya pada penyimpanan 24 jam juga menunjukkan positif 3 (+++) dengan jumlah 323, dan pada penyimpanan terakhir 48 jam juga positif 3 (+++) dengan jumlah 315.

Pada sampel 3 dengan pemeriksaan sampel secara langsung hasil menunjukkan positif 2 (++) dengan jumlah 115, selanjutnya pada penyimpanan 24 jam juga menunjukkan positif 2 (++) dengan jumlah 109, dan pada penyimpanan terakhir 48 jam juga positif 2 (++) dengan jumlah 98.

Pada sampel 4 dengan pemeriksaan sampel secara langsung hasil menunjukkan positif 2 (++) dengan jumlah 102, selanjutnya pada penyimpanan 24 jam juga menunjukkan positif 2 (++) dengan jumlah

99, dan pada penyimpanan terakhir 48 jam juga positif 2 (++) dengan jumlah 88.

Pada sampel 5 dengan pemeriksaan sampel secara langsung hasil menunjukkan positif 3 (+++) dengan jumlah 480, selanjutnya pada penyimpanan 24 jam juga menunjukkan positif 3 (+++) dengan jumlah 450, dan pada penyimpanan terakhir 48 jam juga positif 3 (+++) dengan jumlah 425.

Tabel 4.2 Kualitas sampel langsung dan tunda 24 jam dan 48 jam

No	Sampel Pertama	Sampel 24 jam	Sampel 48 jam
26 1.			
2.			
3.			



(Sumber : Data Primer 2024)

Hasil pengamatan pada tabel 4.2 sampel No.1 merupakan sampel sputum BTA dengan volume sampel < 3 ml, kualitas awal mukopurulent¹ yaitu kondisi sputum dalam keadaan kental, kuning dan kehijauan. Pada penyimpanan 24 jam sampel tidak terlalu mengalami perubahan, namun pada sampel yang disimpan selama 48 jam kondisi sampel agak sedikit berubah warna dan teksturnya lebih encer dibanding sampel awal.

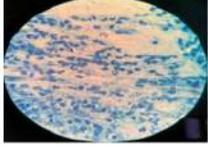
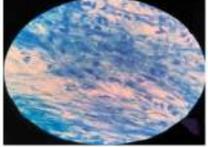
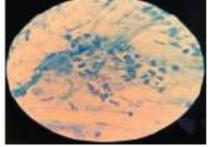
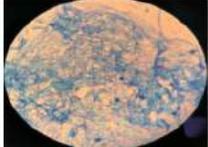
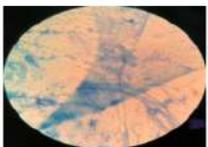
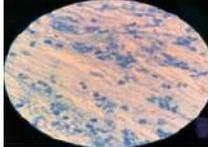
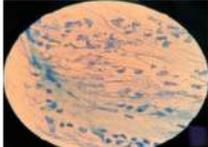
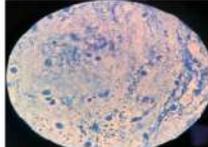
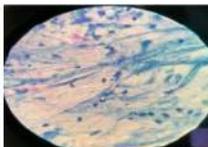
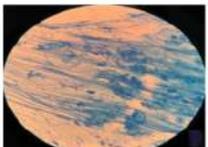
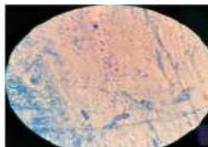
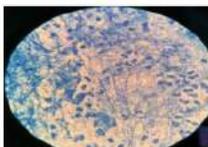
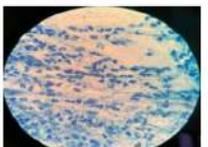
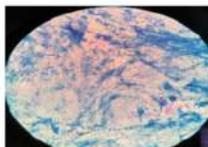
Pada sampel No.2 dengan volume sampel < 3 ml, merupakan sampel sputum dengan kualitas awal berwarna kekuningan, dan bertekstur kental (*mucoïd*), pada penyimpanan 24 jam mengalami perubahan dari segi warna yang purulent dan berwarna kuning pucat, pada penyimpanan 48 jam tekstur sampel masih kental tapi bercampur sedikit air liur.

Pada sampel No.3 dengan volume sampel < 3 ml, kondisi sampel awal dengan tekstur kental dan bening transparan, pada penyimpanan selama 24 jam tidak terlalu mengalami perubahan dari segi tekstur, namun pada penyimpanan selama 48 jam kondisi sampel mengalami perubahan dari tekstur yang lebih encer.

Selanjutnya pada sampel No.4 dengan volume sampel < 3 ml, ¹ Sampel sputum BTA dengan kualitas awal tekstur kental dan bening transparan namun lebih banyak air liur. pada penyimpanan selama 24 jam perubahan sampel tidak terlalu tampak dengan sampel awal, pada penyimpanan 48 jam kondisi sampel agak sedikit encer dibandingkan kondisi sampel awal dan sampel yang disimpan selama 24 jam.

Pada sampel No.5 dengan volume sampel < 3 ml, kondisi sampel awal *mukopurulent* ¹ yaitu kondisi sputum dalam keadaan kental, kuning dan kehijauan. Pada penyimpanan 24 jam dan 48 sampel mengalami perubahan, kondisi sampel agak sedikit berubah warna dan teksturnya agak kering dibanding sampel awal. Ini dikarenakan volume sampel yang sedikit. Sehingga jika disimpan dengan suhu rendah akan mengalami perubahan pada konsistensi dan warnanya.

Tabel 4.3 Hasil pemeriksaan preparat sputum BTA secara mikroskopis

No	Sampel Pertama	Sampel 24 Jam	Sampel 48 Jam
26 1.			
2.			
3.			
4.			
5.			

(Sumber : Data Primer 2024)

Pada tabel 4.3 merupakan kondisi sampel/preparat dengan pembacaan secara mikroskopis. Pada sampel No.1 saat melakukan pembuatan preparat tidak mengalami kesulitan dikarenakan sampel sputum dalam kondisi baik, hasil preparat terlihat bagus dan saat dilakukan pembacaan di bawah mikroskop tidak mengalami kesulitan saat melakukan perhitungan jumlah bakteri per lapang pandang, begitupun dengan sampel No.2 dan 3 dan 5.

Pada sampel No.4 dengan kondisi ¹ Sampel sputum BTA dengan kualitas awal tekstur kental dan bening transparan namun lebih banyak air liur, saat dilakukan pembuatan preparat agak sulit dikarenakan susahnya memisahkan sputum dengan air liur, namun saat dilakukan pemeriksaan secara mikroskopis tidak mengalami kesulitan dalam menghitung jumlah bakteri pada preparat sputum.

Sampel yang disimpan pada suhu rendah selama periode waktu yang lama mungkin mengalami perubahan dalam konsistensi dan tekstur, seperti pengentalan atau pengerasan, seperti yang terjadi pada sampel No.5 dikarenakan volume sampel yang sedikit, sehingga pada saat pembuatan preparat harus menunggu beberapa menit, namun saat dilakukan pembacaan bakteri terlihat jelas.

52
Tabel 4.4 Uji Normalitas Data Dengan Shapiro-Wilk

Variasi Sampel Pemeriksaan	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
Sampel Langsung	,869	5	,264
Sampel Tunda 24 Jam	,878	5	,299
Sampel Tunda 48 Jam	,864	5	,244

(Sumber : Data Primer 2024)

5 Hasil dari tes normalitas digunakan untuk melihat apakah data berdistribusi normal atau tidak. Ketentuannya, bila signifikansi (Sig.) nilainya lebih besar dari 0,05 maka data berdistribusi normal begitu pula sebaliknya. Dari hasil di atas dapat dilihat bahwa nilai signifikansi (Sig.) sebesar $0,264 > 0,05$ yang berarti data berdistribusi normal sehingga analisis data menggunakan uji analisis of variance (ANOVA).

35
Tabel 4.5 Uji Hipotesis Parametrik Anova

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2378,1	2	1189,0	,047	,954
Within Groups	303045,6	12	25253,8		
Total	305423,7	14			

(Sumber : Data Primer 2024)

9 Berdasarkan tabel 4.5 diperoleh nilai p-value (Sig = 0.954) lebih besar dari 0,05 (alpha 5%), maka H_0 diterima yang berarti tidak terdapat perbedaan signifikan antara hasil perhitungan Basil

Tahan Asam menggunakan sampel langsung dengan sampel tunda¹⁵ 24 jam dan 48 jam yang disimpan pada suhu 2°- 8°C.

B. Pembahasan

Pemeriksaan *Mycobacterium tuberculosis* penting dilakukan untuk mendeteksi BTA (Bakteri Tahan Asam). Metode yang paling sering digunakan adalah salah satunya metode mikroskopis yang juga digunakan dalam penelitian ini. Pemeriksaan BTA dilakukan untuk memeriksa keberadaan *Mycobacterium tuberculosis* dalam tubuh. Sampel yang digunakan adalah sputum, hal ini dikarenakan *Mycobacterium tuberculosis* paling sering menyerang paru – paru (Mar'iyah & Zulkarnain, 2021).

¹ Dalam pemeriksaan BTA ada beberapa kriteria spesimen sputum yang selalu dijumpai di laboratorium diantaranya, *purulent* yaitu kondisi sputum dalam keadaan kental dan lengket. Kemudian *Mukopurulent* yaitu kondisi sputum dalam keadaan kental dan kuning kehijauan. Selanjutnya *mukoid* yaitu kondisi sputum dalam keadaan berlendir dan kental, dan terakhir *Hemoptisis* yaitu kondisi sputum dalam keadaan bercampur darah (Lilis Pamungkas Sari, 2022).

³ Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan di laboratorium UPT Puskesmas Baraka selama 1 bulan. Dari bulan maret tanggal 25 s/d 30 april 2024 dengan jumlah sampel sebanyak 5 sampel yang diambil sebagai bahan penelitian. ⁴ Hasil penelitian menunjukkan

bahwa dari 5 sampel penderita TB paru positif tidak terdapat perbedaan yang signifikan, antara jumlah bakteri dengan sampel yang langsung diperiksa dan sampel yang ditunda pemeriksaannya selama 24 jam dan 48 jam pada suhu 2°- 8°C. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Kalma & Adrika, 2019) yang mengatakan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna jumlah basil tahan asam antara spesimen dahak langsung diperiksa dengan sampel yang ditunda 24 jam.

Penelitian ini juga sejalan dengan eksperimen yang dilakukan oleh (Handayani & Silviani, 2022). Berdasarkan data jumlah BTA hasil pemeriksaan, ada penurunan jumlah BTA dari sputum yang diperiksa langsung dengan tunda 24 jam dan 48 jam pada suhu 25°C dan 2°C - 8°C. Namun apabila dilihat dari gradasinya tidak terjadi perubahan gradasi pada sampel. Berdasarkan hasil penelitian tersebut disebutkan bahwa semakin lama disimpan jumlah BTA mengalami penurunan.

Penurunan ini juga terjadi pada sputum yang disimpan pada suhu 2°C - 8°C disebabkan beberapa faktor yaitu nutrisi, proses enzimatik pada sputum dan perubahan konsistensi sputum. Sama seperti bakteri lainnya, bakteri tahan asam juga membutuhkan nutrisi untuk dapat bertahan hidup. Pada sputum BTA hanya dapat menggunakan nutrisi yang ada didalamnya. Berbeda ketika berada di dalam tubuh, BTA bisa mendapatkan nutrisi yang cukup dari

inangnya. Nutrisi dalam sputum ini terbatas jumlahnya, sehingga ketika nutrisi dalam sputum akhirnya habis akibat digunakan secara terus menerus, BTA akan kehilangan sumber energinya dan mati. Oleh karena itu disimpulkan bahwa tidak ada pengaruh yang signifikan lamanya penyimpanan dahak pagi terhadap jumlah BTA dari sampel yang dilakukan tiga perlakuan yaitu langsung, tunda 24 jam dan 48 jam (Handayani & Silviani, 2022).

Pada tabel 4.1 berdasarkan penelitian yang dilakukan bahwa pengaruh penyimpanan sputum pada suhu 2°C - 8°C dapat berpengaruh pada jumlah BTA ini disebabkan adanya beberapa faktor yang mempengaruhi kualitas sampel, kualitas awal mukopurulent yaitu kondisi sputum dalam keadaan kental, kuning dan kehijauan namun pengaruh penyimpanan pada saat dikeluarkan menjadi kualitas sputum berkurang dan menjadi encer.

Menurut penelitian yang dilakukan juga oleh (Bayraktaroğlu, A.G., Kurum, A. & O., Arkan, 2015). Penurunan jumlah BTA adalah proses enzimatik yang terjadi dalam sputum. Sel leukosit dalam sputum mengandung enzim – *neutrophil elastase* dan *alpha-naphthyl acetate esterase* yang masih dapat bekerja sampai 72 jam meski aktivitasnya akan terus menurun. Neutrofil elastase disekresikan oleh neutrofil selama peradangan, dan menghancurkan bakteri dan jaringan inang. Sementara itu, *alpha-naphthyl acetate esterase* adalah

esterase non spesifik yang digunakan sebagai penanda adanya sel limfosit T matang dalam jumlah banyak.

² Proses enzimatis ini menyebabkan rusaknya struktur dinding BTA sehingga menghilangkan sifat dan tahan asam yang seharusnya menyerap warna merah dari karbol fuchsin tidak dapat lagi mempertahankan warnanya saat ditambahkan dengan asam alkohol dan ikut terwarnai oleh methylen blue sehingga berwarna biru. Akibatnya sel tidak terbaca sebagai BTA. Proses enzimatis ini juga dapat melisis sel BTA. Sel bakteri yang lisis/hancur sudah tidak dapat lagi terwarnai sehingga berpengaruh pada penurunan jumlah BTA (Handayani & Silviani, 2022).

Besarnya aktivitas enzim ini dipengaruhi oleh suhu penyimpanan. Enzim-enzim lekosit optimal bekerja pada suhu tubuh ($\pm 37^{\circ}\text{C}$). Suhu penyimpanan pada penelitian ini adalah $2^{\circ}\text{C} - 8^{\circ}\text{C}$. Suhu yang jauh dibawah suhu optimal enzim lekosit ini menyebabkan aktivitas enzim dalam sputum tidak seaktif ² ketika dalam tubuh sehingga meski ada penurunan jumlah BTA, penurunan ini tidak signifikan (Handayani & Silviani, 2022).

Kontaminasi dari bakteri lain yang tidak terkait dengan TB dalam sampel dapat mengaburkan hasil dan mengurangi spesifisitas pengujian, sehingga mengganggu pengukuran jumlah BTA yang sebenarnya ada. Variasi dalam konsistensi dan kualitas dahak yang

diambil untuk pengujian dapat mempengaruhi hasil Sampel yang terlalu encer dalam proses pengujian.

²Penyebab lain yang mengakibatkan penurunan jumlah BTA adalah karena terjadinya perubahan konsistensi sputum menjadi lebih encer. Penyebab encernya sputum dapat disebabkan karena suhu hangat yang menyebabkan pecahnya granula-granula dan sputum lebih encer. Perubahan konsistensi ini dapat menyebabkan ²sulitnya pembuatan preparat, sehingga banyak sel BTA yang tidak ikut terbawa (Budiharjo, Teguh, 2016).

Pada penelitian lain yang dilakukan oleh (Silviani, Y., Nirwana, A. P., & Wahyudi, 2023). Menyimpulkan bahwa penundaan penanganan sputum dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan BTA. Penelitian ini menemukan bahwa penundaan 24 jam dapat menyebabkan ¹sulitnya perhitungan jumlah BTA positif karena adanya jamur yang mengganggu proses perhitungan jumlah bakteri saat pemeriksaan.

¹Dari hasil penelitian yang dilakukan bahwa terdapat pengaruh penyimpanan sputum BTA dengan variasi pemeriksaan yaitu diperiksa secara langsung, tunda ⁸24 jam dan 48 jam pada suhu 2°C - 8°C. Dari variasi ¹waktu penundaan tersebut berpengaruh dari jumlah BTA yang banyak menjadi sedikit, namun jumlah BTA masih dalam kategori yang ditentukan, tidak menjadikan hasil kepositifan berubah dari positif 3 menjadi positif 2 begitupun sebaliknya. ³⁹Hal ini juga

sejalan dengan penelitian yang dilakukan (Pratiwi L et al., 2020) yang menunjukkan bahwa dari 4 sampel sputum yang diperiksa tidak terdapat perbedaan yang bermakna jumlah BTA antara spesimen yang langsung diperiksa dan tunda 24 jam dan 48 jam.

Pada tabel 4.2 kualitas sampel awal sangat mempengaruhi kelanjutan dari pembuatan preparat sputum BTA. Karena pada saat penyimpanan tersebut, pada sampel yang baik/memenuhi syarat seperti pada sampel 1, 2, 3 dan 5 : Sampel sputum BTA dengan kualitas awal berwarna kekuningan, dan bertekstur kental. Penyimpanan sampel selama 24 jam pada suhu 2°C - 8°C Sampel sputum yang baru dikumpulkan biasanya memiliki konsistensi dan viskositas yang optimal.

Adanya perubahan konsistensi sputum akan menyulitkan petugas laboratorium dalam membuat sediaan yang baik. Sediaan yang baik harus memenuhi 6 kriteria standar diantaranya spesimen *purulent* atau *mukopurulent*, pewarnaan baik, bersih, ketebalan baik, ukuran sesuai dan kerataan yang baik (>80%). Petugas laboratorium diharapkan dapat memahami prosedur pengelolaan spesimen yang baik untuk mendukung ketepatan diagnosis. Spesimen sputum untuk pemeriksaan BTA disarankan segera dilakukan setelah pengambilan sampel. Hal tersebut dilakukan untuk meminimalisir kesalahan hasil yang tidak baik seperti positif atau negatif palsu yang dapat

menyebabkan kesalahan dalam pengambilan keputusan pengobatan pasien (Ni Luh Sekar Asih, 2021).

Pada sampel ke ¹3 : Sampel sputum BTA dengan kualitas awal kental, transparan dan bercampur sedikit dengan air liur, setelah dilakukan penyimpanan ¹⁵selama 24 jam dan 48 jam pada suhu 2°C - 8°C kualitas sampel berubah setelah dikeluarkan dari lemari pendingin, sputum akan lebih encer setelah disimpan pada suhu ruang sehingga agak sulit untuk memisahkan sputum dengan air liur.

Pada sampel ke ¹4 sampel sputum BTA dengan kualitas awal tekstur kental dan bening transparan namun lebih banyak air liur. Penyimpanan selama 24 jam dan 48 jam mungkin mempengaruhi konsistensi dan tekstur sampel sputum yang lebih encer setelah di keluarkan dari lemari pendingin dengan suhu ruang sehingga sangat sulit dalam pembuatan preparat. ³Apusan sputum juga akan lebih sulit melekat pada kaca objek sehingga menyebabkan preparat menjadi sulit untuk diwarnai dan dibaca (Handayani & Silviani, 2022).

Sampel yang disimpan pada suhu rendah selama periode waktu yang lama mungkin mengalami perubahan dalam konsistensi dan tekstur, seperti pengentalan atau pengerasan, seperti yang terjadi pada sampel No.5 dikarenakan volume sampel yang sedikit. Sehingga untuk melanjutkan proses pembuatan preparat harus menunggu beberapa menit, namun pada saat sampel berada di suhu ruang dapat menyebabkan konsistensi sampel menjadi lebih encer.

Volume sampel yang tepat juga sangat penting, untuk menghindari pengerasan sampel saat disimpan pada suhu rendah.

Pada tabel 4.3 menunjukkan hasil pewarnaan ziehl neelsen menggunakan sampel sputum, pada hasil pewarnaan tampak sel BTA berwarna merah. Warna merah tersebut disebabkan oleh terbentuknya lapisan lilin pada dinding sel BTA pada saat proses pemanasan pada tahanan pewarnaan ziehl neelsen. Karbol fuchsin menembus dinding sel BTA melalui celah pada lapisan lilin efek dari pemanasan (Mirawati, M & Lestari, 2017). Pada keseluruhan preparat sampel BTA dari No. 1 – 5 berdasarkan tiap variasinya tersebut terdapat pengaruh namun tidak signifikan. Dari sputum BTA yang positif terlihat banyak menjadi sedikit tetapi tidak terjadi penurunan *grade*, hal ini berdasarkan pada kualitas sampel itu sendiri.

Untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh lama penanganan sampel sputum BTA terhadap pemeriksaan mikroskopis dengan melakukan uji Hipotesis *Parametrik Anova* yaitu teknik statistik yang digunakan untuk membandingkan rata-rata dari tiga atau lebih kelompok data yang independen. Sebelumnya dilakukan terlebih dahulu uji normalitas untuk melihat apakah data berdistribusi normal atau tidak berdistribusi normal, uji normalitas pada penelitian ini menggunakan uji saphiro wilk yang dapat dilihat pada tabel 4.4.

Pada tabel 4.4 Hasil dari tes normalitas digunakan untuk melihat apakah data berdistribusi normal atau tidak. Ketentuannya, bila signifikansi (Sig.) nilainya lebih besar dari 0,05 maka data berdistribusi normal begitu pula sebaliknya. Dari hasil di atas dapat dilihat bahwa nilai signifikansi (Sig.) sebesar $0,264 > 0,05$ yang berarti data berdistribusi normal sehingga analisis data menggunakan uji analisis of variance (ANOVA).

Analisis Varians (ANOVA) adalah teknik statistik yang digunakan untuk membandingkan rata-rata dari tiga atau lebih kelompok data yang independen. Ini memungkinkan untuk menentukan apakah ada perbedaan signifikan antara setidaknya dua kelompok. Pada tabel 4.5 diperoleh nilai p-value (Sig = 0.954) lebih besar dari 0,05 (alpha 5%), maka H_0 diterima yang berarti tidak terdapat perbedaan signifikan antara hasil perhitungan Basil Tahan Asam menggunakan sampel langsung dengan sampel tunda 24 jam dan 48 jam yang disimpan pada suhu 2°C - 8°C .

Pada hasil penelitian ini, walaupun penundaan dilakukan hasilnya dapat dipertanggung jawabkan namun sebaiknya sputum BTA tidak ditunda dan langsung dilakukan pemeriksaan agar hasil yang dikeluarkan lebih baik, kecuali pada saat keadaan tertentu dapat dilakukan penundaan hingga 24 jam dengan suhu 2°C - 8°C .

Secara makroskopis sampel sputum setelah di simpan selama 24 jam tidak terlalu mengalami perubahan, namun pada penyimpanan selama 48 jam terjadi perubahan struktur menjadi lebih encer sehingga menyulitkan dalam pembuatan preparat. Begitu pula secara mikroskopis preparat sputum BTA pada sampel langsung dan sampel tunda pada suhu 2°C - 8°C tidak ada perubahan yang signifikan dan saat melakukan pembacaan bakteri terlihat jelas dan tidak ada kesulitan saat menghitung jumlah bakteri. Volume sampel juga perlu diperhatikan, jika volume sampel sedikit pada saat penyimpanan di suhu 2°C- 8°C konsistensi sampel mengalami perubahan menjadi agak kering sehingga saat pembuatan preparat pada objek glass mengalami kesulitan.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan di UPT Puskesmas Baraka dapat disimpulkan bahwa :

- a) Diperoleh nilai p-value (Sig = 0.954) lebih besar dari 0,05 (alpha 5%), maka H_0 diterima yang berarti tidak terdapat perbedaan signifikan antara hasil perhitungan Basil Tahan Asam menggunakan sampel langsung dengan tunda 24 jam dan 48 jam pada suhu 2°- 8°C.
- b) Kualitas sampel sputum yang langsung diperiksa sangat memudahkan peneliti dalam pembuatan preparat dikarenakan spesimen dalam kondisi baik sesuai kriteria kualitas sampel sputum. Begitupun saat melakukan pemeriksaan secara mikroskopis bakteri terlihat jelas, dan saat dilakukan perhitungan tidak mengalami kesulitan.
- c) Kualitas sampel sputum setelah disimpan selama 24 jam pada suhu 2°C - 8°C tidak terlalu mengalami perubahan secara makroskopis. Begitupun saat dilakukan pemeriksaan secara mikroskopis preparat terlihat bagus dan bakteri terlihat jelas ketika dilakukan perhitungan, namun terjadi penurunan jumlah bakteri tapi tidak signifikan, Jumlah bakteri yang positif terlihat banyak menjadi sedikit tapi tidak terjadi penurunan *grade*.

d) Kualitas sampel sputum ⁵⁹ setelah disimpan selama 48 jam pada suhu 2°C - 8°C mengalami perubahan, konsistensi sampel lebih encer dan saat pembuatan preparat mengalami kesulitan karena susahnya memisahkan sputum dengan air liur. Namun saat dilakukan pemeriksaan secara mikroskopis preparat terlihat bagus dan bakteri terlihat jelas saat dilakukan perhitungan, namun terjadi penurunan jumlah bakteri tapi tidak signifikan, jumlah bakteri yang positif terlihat banyak menjadi sedikit tapi tidak terjadi penurunan *grade*.

B. Saran

1. Bagi petugas laboratorium

Petugas laboratorium diharapkan dapat memahami prosedur pengelolaan spesimen yang baik untuk mendukung ketepatan diagnosis. Spesimen sputum untuk pemeriksaan BTA disarankan segera dilakukan setelah pengambilan untuk meminimalisir kesalahan hasil yang tidak baik seperti positif atau negatif palsu, ²⁴ kecuali dalam keadaan tertentu pemeriksaan spesimen dahak dapat ditunda selama 24 jam dan 48 jam pada suhu 2°C – 8°C dah hasilnya tetap dapat dipertanggung jawabkan.

² 2. Bagi peneliti selanjutnya

Perlu dilakukan penelitian selanjutnya dengan variabel lain seperti kualitas sampel dengan variasi suhu dengan menggunakan metode yang lain.

PENGARUH VARIASI WAKTU PENANGANAN SAMPEL SPUTUM TERHADAP HASIL BTA DENGAN MENGGUNAKAN SAMPEL LANGSUNG DAN TUNDA PADA SUHU 2°C-8°C.doc

ORIGINALITY REPORT

30%

SIMILARITY INDEX

27%

INTERNET SOURCES

8%

PUBLICATIONS

11%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1

123dok.com

Internet Source

6%

2

jurnal.ukh.ac.id

Internet Source

4%

3

**Submitted to Badan PPSDM Kesehatan
Kementerian Kesehatan**

Student Paper

3%

4

elearning.medistra.ac.id

Internet Source

1%

5

alvindayu.com

Internet Source

1%

6

repository.unimus.ac.id

Internet Source

1%

7

journal.umpr.ac.id

Internet Source

1%

8

repo.itera.ac.id

Internet Source

1%

9	Submitted to Universitas Pendidikan Indonesia Student Paper	1 %
10	docplayer.info Internet Source	1 %
11	seputarkuliahkesehatan.blogspot.com Internet Source	<1 %
12	Submitted to Universitas Sumatera Utara Student Paper	<1 %
13	Ellen Maida Djatmiko, Debie Rizqoh, Putri Maulida, Elvira Yunita. "ANALISA BASIL TAHAN ASAM PADA DAHAK PENDERITA TUBERKULOSIS SEBELUM DAN SESUDAH MENDAPAT PENGobatan OBAT ANTI TUBERKULOSIS DI UPT. RUMAH SAKIT KHUSUS PARU MEDAN", Jurnal Medika Malahayati, 2023 Publication	<1 %
14	journal.poltekkes-mks.ac.id Internet Source	<1 %
15	jurnal.fmipa.unila.ac.id Internet Source	<1 %
16	edoc.site Internet Source	<1 %
17	repository.ub.ac.id Internet Source	<1 %

18	Ina Arbaina, Fera Sartika, Windya Nazmatur Rahmah. "Pengaruh Lama Penanganan Sampel Sputum Tuberkulosis Terhadap Pemeriksaan Mikroskopis Bakteri Basil Tahan Asam", Borneo Journal of Medical Laboratory Technology, 2022 Publication	<1 %
19	Submitted to University of North Carolina, Greensboro Student Paper	<1 %
20	Submitted to Universitas Respati Indonesia Student Paper	<1 %
21	text-id.123dok.com Internet Source	<1 %
22	Submitted to Universitas Jember Student Paper	<1 %
23	repositori.uin-alauddin.ac.id Internet Source	<1 %
24	garuda.ristekdikti.go.id Internet Source	<1 %
25	journal.walisongo.ac.id Internet Source	<1 %
26	pak.uii.ac.id Internet Source	<1 %
27	Submitted to Universitas Negeri Jakarta Student Paper	<1 %

<1 %

28

sitiaminahanalis.blogspot.com

Internet Source

<1 %

29

hdsjdhjdhuiwe.blogspot.com

Internet Source

<1 %

30

repo.stikesperintis.ac.id

Internet Source

<1 %

31

core.ac.uk

Internet Source

<1 %

32

download.garuda.kemdikbud.go.id

Internet Source

<1 %

33

Submitted to iGroup

Student Paper

<1 %

34

rstudio-pubs-static.s3.amazonaws.com

Internet Source

<1 %

35

Submitted to Konsorsium Perguruan Tinggi Swasta Indonesia II

Student Paper

<1 %

36

Nike Puspita Alwi, Ainil Fitri, Ririn Ambarita. "HUBUNGAN MOTIVASI DENGAN KEPATUHAN MINUM OBAT ANTI TUBERKULOSIS (OAT) PADA PASIEN TUBERKULOSIS", Jurnal Keperawatan Abdurrab, 2021

Publication

<1 %

37	Submitted to Padjadjaran University Student Paper	<1 %
38	doku.pub Internet Source	<1 %
39	repository.itbwigalumajang.ac.id Internet Source	<1 %
40	repository.usd.ac.id Internet Source	<1 %
41	Submitted to Southville International School and Colleges Student Paper	<1 %
42	Raden MS. Ramadhan, John Porotu'o, Olivia A. Waworuntu. "Hasil diagnostik Mycobacterium tuberculosis dari sputum penderita batuk \geq 2 minggu dengan pewarnaan Ziehl-Neelsen di Puskesmas Minanga Malalayang Dua, Puskesmas Bahu, dan Puskesmas Teling Atas Manado", Jurnal e- Biomedik, 2016 Publication	<1 %
43	idoc.pub Internet Source	<1 %
44	jim.unisma.ac.id Internet Source	<1 %
45	mbynugraha.blogspot.com Internet Source	<1 %

46	repo.uinmybatusangkar.ac.id Internet Source	<1 %
47	repository.poltekkes-tjk.ac.id Internet Source	<1 %
48	repository.stikeselisabethmedan.ac.id Internet Source	<1 %
49	repository.uinjkt.ac.id Internet Source	<1 %
50	Yulia Pratiwi, Akhmad Najmul Huda, Annis Rahmawaty. "EVALUASI MANAJEMEN PENYIMPANAN VAKSIN COVID-19 DI KLINIK PRATAMA SEHATI KABUPATEN KUDUS", Cendekia Journal of Pharmacy, 2022 Publication	<1 %
51	digilib.unhas.ac.id Internet Source	<1 %
52	ejurnal.ibisa.ac.id Internet Source	<1 %
53	id.janssencovid19vaccine.com Internet Source	<1 %
54	journal.uin-alauddin.ac.id Internet Source	<1 %
55	kesehatankerja.com Internet Source	<1 %

56	pdffox.com Internet Source	<1 %
57	repo.poltekkesdepkes-sby.ac.id Internet Source	<1 %
58	Muhammad Sahlan Zamaa. "Relationship between Family Support and Medication Adherence in Tuberculosis Patients", Jambura Nursing Journal, 2023 Publication	<1 %
59	bukumerahkreatif.blogspot.com Internet Source	<1 %
60	ecampus.poltekkes-medan.ac.id Internet Source	<1 %
61	purwantiida.blogspot.com Internet Source	<1 %
62	repositori.usu.ac.id Internet Source	<1 %
63	repository.its.ac.id Internet Source	<1 %
64	semnas.biologi.fmipa.unp.ac.id Internet Source	<1 %
65	sinta.unud.ac.id Internet Source	<1 %
66	yoanx7.blogspot.com Internet Source	<1 %

67

Annisa Diyanabila Indrasari, Prima Belia Fathana. "STUDI LITERATUR : PATOGENESIS DAN DIAGNOSIS TUBERKULOSIS RESISTEN OBAT", Jurnal Medika Malahayati, 2024

Publication

<1 %

68

Erlin Novita Idje Djami. "GUA TOGECE: JEJAK HUNIAN AWAL MANUSIA DI LEMBAH BALIM PEGUNUNGAN TENGAH PAPUA", Jurnal Penelitian Arkeologi Papua dan Papua Barat, 2020

Publication

<1 %

69

Farida Ariyani, Maulin Inggriani, Noor Andryan Ilsan. "PERBEDAAN HASIL DETEKSI PEWARNAAN BAKTERI TAHAN ASAM DAN RAPID ANTIGEN PADA PASIEN DIAGNOSA TUBERKULOSIS PARU", Jurnal Mitra Kesehatan, 2019

Publication

<1 %

70

Gunadi Gunadi, Bagoes Widjanarko, Zahroh Shaluhiah. "PENGEMBANGAN APLIKASI "KANG TB" UNTUK PENGAWAS MENELAN OBAT PASIEN TUBERKULOSIS DI KABUPATEN PEKALONGAN", Jambura Journal of Health Sciences and Research, 2023

Publication

<1 %

71

catatanenyrahayu.blogspot.com

Internet Source

<1 %

72	en.indonetwork.co.id Internet Source	<1 %
73	es.scribd.com Internet Source	<1 %
74	ia803004.us.archive.org Internet Source	<1 %
75	id.scribd.com Internet Source	<1 %
76	luckey13ch.blogspot.com Internet Source	<1 %
77	p2p.kemkes.go.id Internet Source	<1 %
78	repo.stikesbethesda.ac.id Internet Source	<1 %
79	repository.poliupg.ac.id Internet Source	<1 %
80	repository.setiabudi.ac.id Internet Source	<1 %
81	wpuat.streck.com Internet Source	<1 %
82	www.guesehat.com Internet Source	<1 %
83	www.minda2tinta.com Internet Source	<1 %

84

www.scribd.com

Internet Source

<1 %

85

Andreani Caroline Barus, Anita Tarihoran.
"Peran Profitabilitas dalam Memoderasi
Pengaruh Predictor Peringkat Obligasi",
Owner (Riset dan Jurnal Akuntansi), 2020

Publication

<1 %

86

Nina Sumarni, Udin Rosidin. "Edukasi
Penerapan Hidup Bersih dan Sehat sebagai
Upaya Pencegahan Infeksi Laten Tuberkulosis
di RW 19 Kelurahan Sukamentri Garut Kota",
Jurnal Kreativitas Pengabdian Kepada
Masyarakat (PKM), 2024

Publication

<1 %

87

lib.ibs.ac.id

Internet Source

<1 %

88

Gustilas Ade Setiawan. "Upaya Meningkatkan
Aktivitas Dan Prestasi Belajar Matematika
Melalui Penerapan Metode Permainan di
Kelas V SDN 1 Tanjung Glugur Kecamatan
Mangaran Kabupaten Situbondo", Education
Journal : Journal Educational Research and
Development, 2023

Publication

<1 %

89

annisafildzahdefanty.blogspot.com

Internet Source

<1 %

Exclude quotes On

Exclude matches Off

Exclude bibliography On