



**PENGARUH VARIASI WAKTU PENDINGINAN CARBOL FUCHSIN
TERHADAP HASIL PEMERIKSAAN MIKROSKOPIS BASIL TAHAN ASAM
(BTA)**

Amelia Maulida, Tiara Dini Harlita, Suparno Putera Makkadafi

Program Studi D-III Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Kalimantan Timur

Jalan Kurnia Makmur No. 64, Samarinda, Kalimantan Timur

0541-738153

nonaranita@gmail.com

082152690479

Info Artikel

Sejarah Artikel:

Diterima September 2023

Disetujui Desember 2023

Dipublikasikan Desember
2023

Keywords:

*Acid-fast bacteria; Carbol
Fuchsin 1%; Preparation
Quality*

Abstrak

Pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan *Ziehl neelsen* merupakan salah satu penegakan diagnosis TB. Pewarnaan tersebut memiliki 3 reagensia, yaitu *carbol fuchsin* 1%, asam alkohol 3%, dan *methylene blue* 0,1%. Berdasarkan standar operasional prosedur, tahapan pendinginan *carbol fuchsin* dilakukan selama 5-7 menit. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh variasi waktu pendinginan *carbol fuchsin* selama 6 menit, 8 menit, 10 menit dan 12 menit terhadap hasil pemeriksaan mikroskopis BTA. Jenis penelitian ini adalah eksperimen dengan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL). Sampel yang digunakan berupa spesimen sputum BTA (+3) dari RSUD. ABdoelWahab SJahrane sebanyak 3 pot. Penilaian kualitas sediaan BTA dilakukan oleh Laboratorium Kesehatan Provinsi Kalimantan Timur. Sediaan BTA diberi 4 perlakuan variasi waktu pendinginan *carbol fuchsin* yaitu selama 6 menit, 8 menit, 10 menit, dan 12 menit lalu dilakukan pengulangan sebanyak 6 kali serta dianalisis menggunakan uji *Chi-Squared*. Hasil penelitian ini adalah seluruh sediaan BTA yang diberikan perlakuan variasi waktu pendinginan *carbol fuchsin* berkualitas baik berdasarkan 6 kriteria sediaan yang baik dengan skoring rata-rata 100% pada perlakuan 6 menit, 98,3% pada perlakuan 8 menit, 96,6% pada perlakuan 10 menit dan 95% pada perlakuan 12 menit. Berdasarkan hasil Analisa uji *Chi-Squared* terhadap kriteria kebersihan didapatkan *p value* 0,000 yang menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh yang signifikan antara variasi waktu pendinginan *carbol fuchsin* terhadap hasil pemeriksaan mikroskopis BTA. Dengan demikian, pada tahap pendinginan *carbol fuchsin* dapat menggunakan durasi selama 5-7 menit untuk menghasilkan sediaan yang berkualitas baik.

Kata Kunci: Basil Tahan Asam, *Carbol Fuchsin* 1%, Kualitas Sediaan.

Abstract

Microscopic examination with Ziehl Neelsen staining is one way to confirm the diagnosis of TB. This stain has 3 reagents, namely carbol fuchsin 1%, alcohol acid 3%, and methylene blue 0.1%. Based on standard operational procedures, the carbol fuchsin cooling stage is carried out for 5-7 minutes. The aim of this research was to determine the effect of varying carbol fuchsin cooling times of 6 minutes, 8 minutes, 10 minutes and 12 minutes on the results of BTA microscopic

examination. This type of research is an experiment with a Completely Randomized Design (CRD). The samples used were BTA (+3) sputum specimens from RSUD. ABdoelWahab SJahrane 3 pots. The quality assessment of BTA preparations was carried out by the East Kalimantan Provincial Health Laboratory. BTA preparations were given 4 treatments varying in carbol fuchsin cooling time, namely 6 minutes, 8 minutes, 10 minutes and 12 minutes, then repeated 6 times and analyzed using the Chi-Squared test. The results of this study were that all BTA preparations that were treated with variations in carbol fuchsin cooling time were of good quality based on 6 criteria for good preparations with an average scoring of 100% in the 6 minute treatment, 98.3% in the 8 minute treatment, 96.6% in the 8 minute treatment. 10 minutes and 95% in the 12 minute treatment. Based on the results of the Chi-Squared test analysis of cleanliness criteria, a p value of 0.000 was obtained, indicating that there was no significant influence between variations in carbol fuchsin cooling time on the results of the BTA microscopic examination. Thus, during the cooling stage, carbol fuchsin can be used for a duration of 5-7 minutes to produce a good quality preparation.

Keywords:

Acid-fast bacteria; Carbol Fuchsin 1%; Preparation Quality

© 2023 Universitas Abdurrah

✉ Alamat korespondensi: Samarinda, Kalimantan Timur

ISSN 2338-4921

E-mail: nonaranita@gmail.com

PENDAHULUAN

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit infeksi menular yang menyerang organ tubuh, salah satunya paru- paru. Penyakit TB disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* atau sering dikenal sebagai bakteri Basil Tahan Asam (BTA) (Pralambang and Setiawan, 2021). Berdasarkan laporan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, terdapat 443.235 kasus TB yang ditemukan dan diobati di Indonesia pada tahun 2021(Kementerian Kesehatan, 2022). Berdasarkan Badan Pusat Statistik (BPS) Provinsi Kalimantan Timur, pada tahun 2020 terdapat sebanyak 3.583 kasus TB paru. Kasus TB di kota Samarinda pada tahun 2020 mencapai 796 kasus (Badan Pusat Statistika Kalimantan Timur, 2020). Menurut data dari Dinas Kesehatan Provinsi Kalimantan Timur tahun 2021, terdapat 3 Kabupaten/Kota yang menjadi daerah yang memiliki kasus TB tertinggi. Kabupaten/Kota dengan kasus TB tertinggi di Provinsi Kalimantan Timur adalah Kota Samarinda 1.945 kasus, Balikpapan 1.166 kasus dan Kutai Kartanegara 713 kasus (Dinas Komunikasi dan Informatika Kalimantan Timur, 2022).

Berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia (Permenkes RI) Nomor 67/2016 tentang penanggulangan TB merekomendasikan 3 pemeriksaan kaboratorium bakteriologi untuk menegakkan diagnosis TB. Pemeriksaannya antara lain pemeriksaan

mikroskopis dengan metode pewarnaan Ziehl Neelsen, Tes Cepat Molekuler (TCM) metode GeneXpert MTB/RIF, dan Kultur. Pemeriksaan *Gold Standart* TB adalah kultur sputum, namun penegakan diagnosis ini membutuhkan waktu yang relatif lama. Pemeriksaan yang digunakan untuk pemantauan hasil pengobatan pasien TB adalah pemeriksaan mikroskopis dengan metode pewarnaan *Ziehl Neelsen*. Metode perwarnaan *Ziehl Neelsen* digunakan karena mudah, murah dan mempunyai sensitifitas serta spesifitas yang tinggi untuk mendeteksi BTA (Suryawati *et al.*, 2018).

Pemeriksaan yang digunakan untuk pemantauan hasil pengobatan pasien TB adalah pemeriksaan mikroskopis dengan metode pewarnaan *Ziehl Neelsen*. Lapisan lilin pada BTA akan terbuka pada tahap pemanasan dan zat *carbol fuchsin* dapat menembus sel bakteri. Pemanasan ini diperlukan untuk memperkuat penetrasi zat warna primer ke dalam sel BTA. Lapisan lilin BTA akan tertutup kembali pada tahap pendinginan selama minimal 5 menit sebelum sediaan dibilas. Hasil pemeriksaan mikroskopis BTA dipengaruhi mulai dari tahapan preparasi sampel yang harus memenuhi kriteria kualitas sputum yang baik. Sediaan sputum berkualitas harus memenuhi syarat: sputum, ukuran, ketebalan, kerataan, pewarnaan, dan kebersihan. Durasi pendinginan *carbol fuchsin* pada umumnya adalah minimal 5-7 menit (Adriyani, 2016).

Berdasarkan latar belakang diatas, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul “Pengaruh Variasi Waktu Pendinginan *Carbol Fuchsin* Terhadap Hasil Pemeriksaan Mikroskopis Basil Tahan Asam (BTA)”. Hasil Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai kualitas sediaan BTA yang baik berdasarkan durasi pendinginan *carbol fuchsin* selama 6 menit, 8 menit, 10 menit dan 12 menit untuk mengetahui pengaruhnya terhadap hasil pemeriksaan mikroskopis.

METODE

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen dengan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL). Sampel berupa spesimen sputum (+3) dari RSUD. Abdoel Wahab Sjahranie sebanyak 3 pot. Pembuatan sediaan BTA bertempat di Laboratorium Bakteriologi Poltekkes Kemenkes Kalimantan Timur. Spesimen sputum di buat sediaan BTA lalu di lakukan pemeriksaan mikroskopis menggunakan pewarnaan Ziehl Neelsen dengan diberikan perlakuan durasi waktu pendinginan selama 6 menit, 8 menit, 10 menit dan 12 menit lalu di lakukan pengulangan sebanyak 6 kali. Penilaian kualitas sediaan dilakukan oleh Laboratorium Kesehatan Provinsi Kalimantan Timur. Analisis data yang digunakan adalah bivariat menggunakan uji Chi- Squared dan disajikan dalam bentuk tabel dan skala sarang laba-laba. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei-Juli 2023.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Object glass, lampu bunsen, botol semprot, lidi, rak pewarnaan, rak preparate, dan wadah Lembah. Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah, alumunium foil, pisau steril, pinset. Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sputum, carbol fuchsin 1%, asam alcohol 3%, methylene blue 0,1%. Desinfektan.

Prosedur Kerja

1. Pembuatan Sediaan Sputum
 - a. Berikan label kode sampel dibagian ujung *object glass*.
 - b. Ambil bagian purulen pada sampel menggunakan lidi.
 - c. Letakkan diatas permukaan *object glass*, apusan dibentuk oval 2 x 3 cm, ratakan apusan dan dibentuk spiral kecil-kecil (*coiling type*) saat sediaan setengah kering.
 - d. Keringkan sediaan di suhu kamar.
 - e. Buang lidi bekas pakai ke wadah limbah berisi desinfektan.
 - f. Setelah sediaan kering, fiksasi sediaan diatas lampu bunsen dengan posisi apusan menghadap atas, lakukan hingga 3 kali.
2. Pewarnaan *Ziehl Neelsen*
 - a. Letakkan sediaan di rak pewarnaan dengan bagian apusan menghadap ke atas, jarak antara sediaan yang satu dan yang lain kurang lebih 1 jari.
 - b. Genangi permukaan sediaan dengan reagen *carbol fuchsin* 1%.
 - c. Panaskan sediaan dengan lampu bunsen dari bawah sediaan hingga sediaan berasap, namun jangan sampai mendidih.
 - d. Diamkan/dinginkan sediaan sesuai dengan durasi variasi perlakuan.
 - e. Bilas sediaan dengan air mengalir dari ujung *object glass*. Pastikan tidak ada percikan ke sediaan lain.
 - f. Miringkan sediaan menggunakan pinset untuk membuang air.
 - g. Genangi permukaan sediaan dengan asam alkohol hingga tidak tampak warna merah dari reagensia *carbol fuchsin*. Pastikan tidak ada percikan ke sediaan lain.
 - h. Genangi permukaan sediaan dengan reagensia *methylene blue* selama 20-30 detik.
 - i. Bilas sediaan dengan air mengalir. Pastikan tidak ada percikan ke sediaan lain.
 - j. Miringkan sediaan menggunakan pinset untuk membuang air.
 - k. Keringkan sediaan pada rak pengering. Jangan keringkan sediaan menggunakan tissue
3. Penilaian Kualitas Sediaan

Pembacaan sediaan secara mikroskopis dan penilaian kualitas sediaan dilakukan oleh Laboratorium Kesehatan Provinsi Kalimantan Timur.

4. Analisa Uji Chi-Squared

Uji yang digunakan adalah uji *Chi Squared* karena pada penelitian ini peneliti ingin mengetahui Pengaruh Hasil Pemeriksaan Mikroskopis BTA Berdasarkan Variasi Waktu Pendinginan *Carbol Fuchsin*. Kriteria hubungan berdasarkan nilai *p value* > 0,05 maka H_0 diterima, H_a di tolak dan jika *p value* < 0,05 maka H_0 ditolak, H_a diterima.

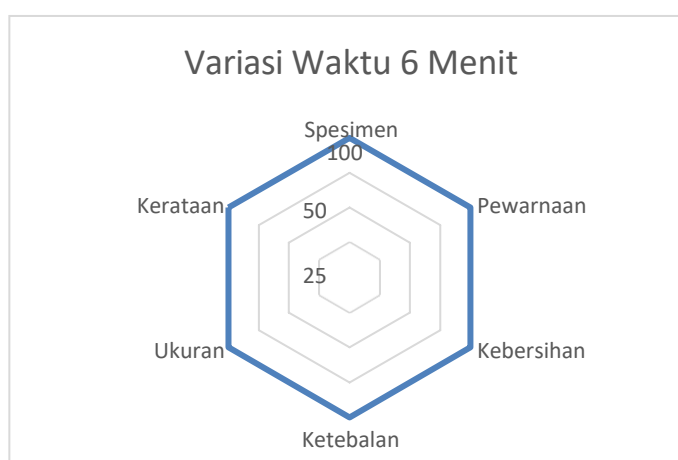
HASIL DAN PEMBAHASAN

Adapun hasil yang diperoleh dapat dilihat pada tabel dan grafik berikut ini:

1. Berdasarkan Variasi Waktu 6 menit

Tabel 1. Hasil Kualitas Sediaan Berdasarkan Variasi Waktu 6 Menit

Kode Sampel	Skoring Kualitas	Keterangan
W1u1	100	Baik
W1u2	100	Baik
W1u3	100	Baik
W1u4	100	Baik
W1u5	100	Baik
W1u6	100	Baik



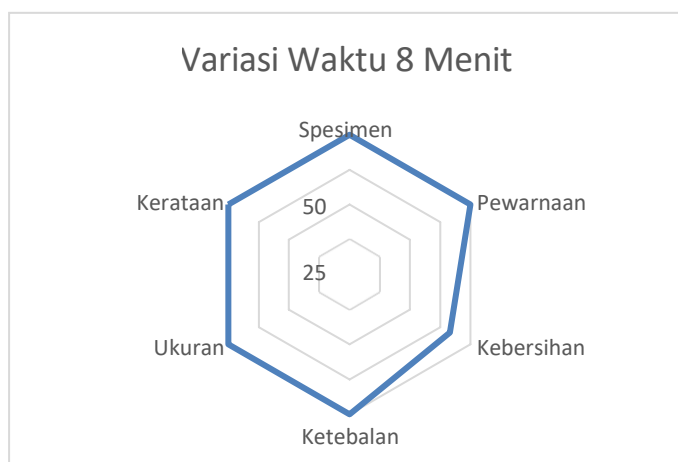
Gambar 1. Skala Sarang Laba-Laba Variasi Waktu 6 Menit

Berdasarkan Tabel 1, pada perlakuan variasi waktu 6 menit dinyatakan baik karena seluruh sediaan yang diberi perlakuan tersebut memenuhi kriteria sediaan yang berkualitas baik dengan skoring rata-rata 100%. Berdasarkan perhitungan skoring kinerja pembuatan sediaan, seluruh sediaan dengan perlakuan variasi waktu pendinginan selama 6 menit mendapatkan skoring total 100 poin. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan durasi waktu selama 6 menit pada tahap pendinginan sediaan BTA dapat menghasilkan sediaan yang berkualitas baik sesuai dengan SOP pemeriksaan mikroskopis BTA yaitu sediaan didinginkan selama 5-7 menit.

2. Berdasarkan Variasi Waktu 8 Menit

Tabel 2. Hasil Kualitas Sediaan Berdasarkan Variasi Waktu 8 Menit

Kode Sampel	Skoring Kualitas	Keterangan
W2u1	100	Baik
W2u2	100	Baik
W2u3	100	Baik
W2u4	100	Baik
W2u5	100	Baik
W2u6	90	Baik



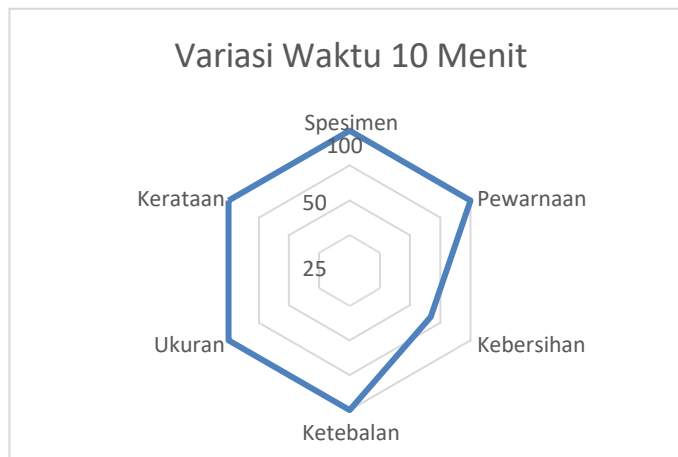
Gambar 2. Skala Sarang Laba-Laba Variasi 8 Menit

Berdasarkan Tabel 2, pada perlakuan variasi waktu 8 menit dinyatakan baik dengan skoring rata-rata 98,3%. Berdasarkan perhitungan skoring kinerja pembuatan sediaan, sediaan dengan kode W2u1, W2u2, W2u3, W2u4, dan W2u5 mendapatkan 100 poin. Namun, sediaan dengan kode W2u6 mendapatkan skoring 90 poin. Hal ini dikarenakan pengurangan poin pada kriteria kebersihan sediaan tersebut. Berdasarkan kriterianya, didapatkan spesimen baik (100%), pewarnaan baik (100%), kebersihan baik (83%), ketebalan baik (100%), ukuran baik (100%) dan kerataan baik (100%). Pada perlakuan ini dari 6 sediaan yang diberi perlakuan durasi pendinginan 8 menit terdapat 1 sediaan yang kotor.

3. Berdasarkan Variasi Waktu 10 Menit

Tabel 3. Hasil Kualitas Sediaan Berdasarkan Variasi 10 Menit

Kode Sampel	Skoring Kualitas	Keterangan
W3u1	100	Baik
W3u2	100	Baik
W3u3	100	Baik
W3u4	90	Baik
W3u5	100	Baik
W3u6	90	Baik



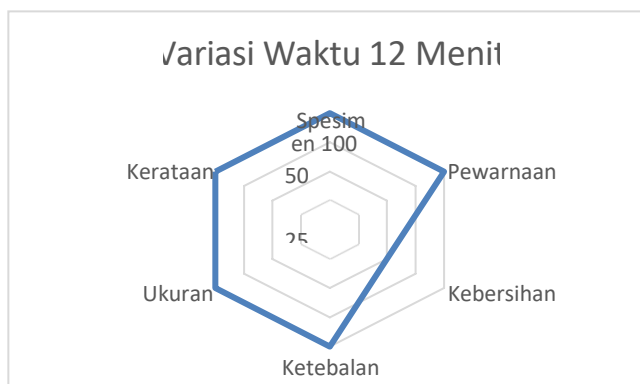
Gambar 3. Skala Sarang Laba-Laba Variasi 10 Menit

Berdasarkan Tabel 3, pada perlakuan variasi waktu 10 menit dinyatakan baik dengan skoring rata-rata 96,6%. Berdasarkan perhitungan skoring kinerja pembuatan sediaan, sediaan dengan kode W3u1, W3u2, W3u3, dan W3u5 mendapatkan 100 poin. Sementara itu, sediaan dengan kode W3u4 dan W3u6 mendapatkan 90 poin. Hal ini dikarenakan adanya pengurangan poin pada kriteria kebersihan sediaan-sediaan tersebut. Berdasarkan kriterianya, didapatkan skoring spesimen baik (100%), pewarnaan baik (100%), kebersihan jelek (67%), ketebalan baik (100%), ukuran baik (100%) dan kerataan baik (100%). Hasil jelek pada kriteria kebersihan disebabkan berkurangnya skoring pada kriteria tersebut dikarenakan terdapat 2 sediaan kotor dari total 6 sediaan yang diberi perlakuan 10 menit

4. Berdasarkan Variasi Waktu 12 Menit

Tabel 4. Hasil Kualitas Sediaan Berdasarkan Variasi Waktu 12 Menit

Kode Sampel	Skoring Kualitas	Keterangan
W4u1	100	Baik
W4u2	90	Baik
W4u3	100	Baik
W4u4	100	Baik
W4u5	90	Baik
W4u6	90	Baik



Gambar 4. Skala Sarang Laba-Laba Variasi Waktu 12 menit

Berdasarkan Tabel 4, pada perlakuan variasi waktu 12 menit dinyatakan baik dengan skoring 95%. Berdasarkan perhitungan skoring kinerja pembuatan sediaan, sediaan dengan kode W4u1, W4u3, dan W4u4 mendapatkan 100 poin. Sementara itu sediaan dengan kode W4u2, W4u5, dan W4u6 mendapatkan 90 poin. Hal ini dikarenakan adanya pengurangan poin pada kriteria kebersihan sediaan- sediaan tersebut. Berdasarkan kriterianya, didapatkan skoring spesimen baik (100%), pewarnaan baik (100%), kebersihan jelek (50%), ketebalan baik (100%), ukuran baik (100%) dan kerataan baik (100%). Hasil jelek pada kriteria kebersihan disebabkan berkurangnya skoring pada kriteria tersebut dikarenakan terdapat 3 sediaan kotor dari total 6 sediaan yang diberi perlakuan 12 menit.

5. Analisa Uji Chi Squared

Tabel 5. Hasil Analisa Uji Chi-Squared

Variabel	Kualitas Sediaan	P Value	Interpretasi
Variasi Waktu Pendinginan <i>Carbol Fuchsin</i>	Asymptotic Significance (2-Side)	0,000	<0,05 Ho ditolak, Ha diterima

Sedangkan pembahasan dari hasil penelitian diatas adalah sebagai berikut:

Penegakan diagnosis penyakit TB berdasarkan Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 364/MENKES/SK/V/2009 tentang Pedoman Penanggulangan TB, penemuan BTA melalui pemeriksaan sputum secara mikroskopis merupakan diagnosis utama. Pemeriksaan lain seperti foto toraks, kultur dan uji kepekaan dapat digunakan sebagai pemeriksaan penunjang sesuai dengan indikasinya. Berdasarkan gejala kliniknya, diagnosis TB yang dapat dilakukan ialah pemeriksaan fisik (inspeksi, palpasi, perkusi, dan auskultasi), pemeriksaan bakteriologi (kultur, pemeriksaan mikroskopis, dan Tes Cepat Molekuler (TCM)), pemeriksaan radiologi (foto toraks PA-lateral/*top lordotic*), dan pemeriksaan penunjang (pemeriksaan cairan pleura, pemeriksaan histopatologi jaringan, pemeriksaan darah, dan uji tuberkulin) (Menteri Kesehatan, 2009).

Pemeriksaan mikroskopis BTA menggunakan sampel sputum memegang peranan penting dalam menentukan potensi penularan, evaluasi, tindak lanjut, dan pemantauan hasil pengobatan TB (Ramadhan, Fitria and Rosdiana, 2017). Pengobatan TB dilakukan dengan pemberian Obat Anti Tuberkulosis (OAT) selama 6 bulan. OAT harus diberikan dalam bentuk kombinasi beberapa jenis obat, dalam jumlah cukup dan dosis tepat sesuai dengan kategori pengobatan. Konsumsi OAT selama masa pengobatan TB dapat menimbulkan beragam efek samping, diantaranya berdasarkan obat-obatan dan penurunan jumlah leukosit secara signifikan (Khaironi Syarifah, Rahmita Mellysa and Siswani Ranti, 2017).

Adapun 3 metode pemeriksaan mikroskopis BTA yang dapat dilakukan yaitu pewarnaan *Ziehl neelsen*, *Tan Thiam Hok (Kinyoun-Gabbett)* dan *fluorokrom*. Pewarnaan *Ziehl neelsen* merupakan metode pewarnaan yang direkomendasikan oleh WHO, selain itu pewarnaan ini mudah digunakan, murah, dan memiliki sensitivitas dan spesifitas yang tinggi (Ramadhan, Fitria and Rosdiana, 2017). Maka dari itu pada

penelitian ini, peneliti menggunakan *Ziehl neelsen* sebagai metode pewarnaan dalam pemeriksaan mikroskopis BTA.

Berdasarkan hasil penelitian, 24 sediaan yang telah diberikan perlakuan variasi waktu pendinginan carbol fuchsin dinyatakan berkualitas baik. Hasil penilaian kualitas sediaan dikategorikan menjadi dua kategori yaitu baik dan jelek. Sediaan dapat dikatakan berkualitas baik jika memenuhi 6 kriteria sediaan yang baik, yaitu kriteria spesimen, ukuran, ketebalan, kerataan, pewarnaan, dan kebersihan dengan skoring >80. Penilaian kualitas sediaan merupakan salah satu bagian dari Pemantapan Mutu Eksternal (PME) suatu instalasi fasilitas pelayanan kesehatan masyarakat. Perhitungan nilai kualitas sediaan menggunakan poin skoring kinerja pembuatan sediaan. Bila nilai akhir >80 kinerja pembuatan sediaan dinyatakan baik, sebaliknya jika nilai akhir <80 maka sediaan dinyatakan jelek.

Berdasarkan kriteria kualitasnya, kriteria spesimen pada seluruh perlakuan berkategori baik, hal ini dikarenakan peneliti menggunakan spesimen sputum BTA (+3) mukopurulen dan segera dilakukan pembuatan sediaan. Kriteria spesimen sangat berpengaruh terhadap kualitas sediaan, oleh karena itu spesimen yang ideal untuk pembuatan sediaan adalah sputum *mucoïd* dan purulen dengan volume 3,4-5 ml (Budiharjo and Purjanto, 2016).

Berdasarkan hasil penelitian Handoko (2012), dari 114 spesimen mukopurulen didapatkan indeks BTA +1, +2, dan +3 dengan kecenderungan hasil positif hampir merata. Hal ini dapat terjadi karena sputum *purulent* merupakan nanah lendir yang berasal dari ruang dalam rongga paru yang diakibatkan oleh infeksi *M. tuberculosis*. *Purulent* dari sputum banyak mengandung bakteri *M. tuberculosis* karena bagian tersebut merupakan tempat perkembangbiakan bakteri. Sementara itu, dari 32 spesimen sputum bercampur darah didapatkan indeks BTA +1 dan +2. Keberadaan darah dalam sputum dapat diakibatkan oleh luka terbuka pada bronkus akibat infeksi TB atau dapat juga berasal dari saluran pernafasan atas dan rongga mulut. Adanya darah dalam sputum dapat mempengaruhi pemeriksaan karena pada proses dalam pembuatan sediaan harus memilih spesimen yang tidak tercampur darah dan akan berakibat sedikitnya BTA yang dapat ditemukan (Handoko, Aminah and Marhamah, 2016).

Penggunaan spesimen air liur tidak dianjurkan dalam pemeriksaan mikroskopis BTA, karena sediaan yang terbuat dari spesimen ini tipis dan tidak rata serta dapat mempengaruhi kriteria pewarnaan, dan kriteria kualitas lainnya. Pada hasil penelitian Handoko (2012), dari 31 spesimen air liur didapatkan indeks BTA +1. Hal ini dapat terjadi dikarenakan air liur bukanlah tempat perkembangbiakan bakteri *M. tuberculosis* melainkan cairan yang dihasilkan kelenjar saliva saat proses pengeluaran sputum. Potensi penemuan bakteri BTA pada air liur tetap ada pada pasien TB positif namun kemungkinan hasilnya positif rendah. Penggunaan spesimen air liur tetap dilakukan pada pemeriksaan *follow up* karena pada pemeriksaan ini bertujuan untuk evaluasi keberhasilan pengobatan pada tahap konversi hingga tahap akhir pengobatan (Handoko, Aminah and Marhamah, 2016).

Selain menggunakan spesimen sputum mukopurulen, peneliti juga langsung melakukan pembuatan sediaan sesegera mungkin setelah pengambilan spesimen. Hal ini dilakukan guna menjamin sampel yang digunakan masih bermutu baik. Penundaan

pembuatan sediaan dengan menyimpan spesimen pada suhu ruang selama satu hari dapat menyebabkan sputum menjadi encer dan menurunnya kualitas sediaan. Berdasarkan hasil penelitian Budiharjo (2016), terdapat perbedaan secara makroskopis dan mikroskopis antara sputum yang diperiksa segera dan sputum yang disimpan 24 jam di suhu ruang. Sputum yang segera diperiksa masih berupa purulen, dapat dipisahkan antara sputum dan air liur, berbau khas, mudah dibuat sediaan, dan minimnya kesalahan dalam pembacaan sediaan karena BTA masih terlihat kontras dengan latar belakang sediaan. Sementara itu, sputum yang disimpan selama 24 jam pada suhu ruang akan encer bercampur dengan air liur, berbau lebih tajam akibat tumbuhnya mikroba pembusuk, sulit dibuat sediaan dan tingkat kesalahan dalam pembacaan indeks BTA lebih tinggi karena dipengaruhi oleh jamur yang tumbuh saat penyimpanan spesimen tersebut. Penundaan pembuatan spesimen yang lama dapat menyebabkan hasil positif palsu dan negatif palsu (Budiharjo and Purjanto, 2016).

Secara mikroskopis, pewarnaan yang baik ditandai dengan bakteri *M. tuberculosis* yang berwarna merah karena menyerap zat *carbol fuchsin* sementara latar sediaan berwarna biru terwarnai oleh *methylene blue*. Pewarnaan dapat dikatakan jelek jika penampakan secara mikroskopis BTA dan latar terlihat pucat ataupun terlalu tebal hingga menyebabkan BTA sulit diamati. Pada penelitian ini, peneliti melakukan pewarnaan setelah memastikan sediaan benar-benar kering namun tidak ditunda selama berhari-hari walaupun pemberlakuan penundaan pewarnaan sediaan tidak berpengaruh terhadap hasil pemeriksaan mikroskopis BTA, hal ini didasari oleh penelitian Misnarliah (2021) tentang Pengaruh Penundaan Pewarnaan Preparat Bakteri Tahan Asam Metode *Ziehl Neelsen* Terhadap hasil Pemeriksaan Mikroskopik (Misnarliah and Mudrika, 2021).

Sesuai dengan Standar Operasional Prosedur dari Kemenkes RI, durasi pendinginan *carbol fuchsin* adalah 5-7 menit. Kualitas sediaan berdasarkan kriteria pewarnaan pada proses pendinginan *carbol fuchsin* selama 3 menit, 5 menit, dan 7 menit telah dilakukan oleh Malau (2018), didapatkan hasil pada durasi pendinginan 3 menit terdapat 33,3% hasil pewarnaan baik dan sediaan dengan durasi pendinginan 5 menit dan 7 menit terdapat 88,9% hasil pewarnaan baik (Malau, 2018). Sebagian besar sediaan dengan durasi pendinginan *carbol fuchsin* selama 3 menit berkategori jelek dikarenakan BTA berwarna pucat. Hal tersebut dapat terjadi karena kurangnya durasi dalam proses penetrasi zat *carbol fuchsin* terhadap bakteri setelah pemanasan sediaan karena sediaan langsung dilakukan dekolorisasi. Sementara itu, pada durasi 5 menit dan 7 menit didapatkan sediaan dengan berkategori pewarnaan yang baik, hal ini didukung pula dengan hasil peneliti pada durasi pendinginan *carbol fuchsin* selama 6 menit yang menunjukkan 100% sediaan berkategori baik pada kriteria pewarnaan. Penggunaan reagen juga sangat berpengaruh terhadap kualitas pewarnaan sediaan BTA. Reagen *Ziehl Neelsen* yang digunakan adalah *carbol fuchsin* 1%, asam alkohol 3%, dan *methylene blue* 0,1%. Kualitas reagen yang baik didukung oleh penyimpanan yang sesuai dengan prosedur kit reagen yaitu pada suhu 15-25°C, tempat penyimpanan yang tidak lembab contohnya lemari, botol reagen dalam kondisi tegak dan tidak terbalik serta tidak terkena sinar matahari langsung (Achmadi, Mardiah and Wahyu, 2021), 2021).

Konsentrasi reagen yang digunakan peneliti adalah *Carbol fuchsin* 1%, asam alkohol 3%, dan *Methylene blue* 0,1%. Konsentrasi reagen *Ziehl neelsen* yang digunakan sejalan dengan hasil penelitian Adriyani (2016) yaitu konsentrasi reagen *Carbol fuchsin* 1% dan *Methylene blue* 0,1% merupakan konsentrasi yang paling baik dalam metode pewarnaan *Ziehl Neelsen*. Selain itu, ketetapan tersebut juga terdapat pada surat edaran nomor HK03.03/I/4002/2014 tentang Perubahan Konsentrasi *carbol fuchsin* untuk Pemeriksaan Mikroskopis TB dan *Global Laboratory Initiative* (GLI) dibawah naungan WHO yang menyatakan bahwa dalam pemeriksaan mikroskopis TB dilakukan penggunaan reagensia *Carbol fuchsin* 1%, asam alkohol 3% dan *Methylene blue* 0,1% untuk mendapatkan hasil yang akurat dan teliti (Kementerian Kesehatan, 2014).

Sediaan dengan perlakuan variasi waktu 6 menit seluruhnya (100%) memenuhi kriteria kebersihan dan dinyatakan berkategori baik. Sementara itu, pada sediaan dengan perlakuan variasi waktu 8 menit terdapat 1 sediaan (17%) yang kotor, pada variasi waktu 10 menit terdapat 2 sediaan (40%) yang kotor dan pada variasi waktu 12 menit terdapat 3 sediaan (50%) yang kotor. Sediaan dapat dikatakan bersih jika tidak tampak sisa zat warna serta endapan kristal. Sediaan yang kotor dapat mengganggu pembacaan secara mikroskopis karena kuman BTA tertutup oleh kotoran (Martiningsih, Mahendradhata and Rintiswati, 2014).

Menurut asumsi peneliti, perlakuan variasi waktu pendinginan *carbol fuchsin* berpengaruh terhadap kriteria kebersihan pada sediaan BTA. Semakin lama durasi pendinginan *carbol fuchsin* maka semakin kotor pula sediaan tersebut. Hal ini dikarenakan semakin lama penggenangan *carbol fuchsin* akan berakibat reagensia tersebut sempat mengering pada sediaan dan menyebabkan semakin sulitnya proses pelunturan zat tersebut saat digenangi asam alkohol 3%. Pada tahap dekolorisasi, peneliti menggenangi sediaan dengan asam alkohol 3% hingga zat *carbol fuchsin* pada sediaan 6 menit luntur, namun pada sediaan dengan waktu pendinginan *carbol fuchsin* selama 8 menit, 10 menit, dan 12 menit semakin sulit untuk dilunturkan. Hal ini dapat disebabkan oleh pengeringan reagensia *carbol fuchsin* pada sediaan dan kemungkinan membutuhkan asam alkohol dengan konsentrasi lebih dari 3% untuk melunturkan zat *carbol fuchsin* pada durasi pendinginan tersebut.

Penggunaan asam alkohol 3% pada penelitian ini selaras dengan hasil penelitian Amelia (2019), yaitu konsentrasi terbaik untuk pemeriksaan mikroskopis BTA menggunakan pewarnaan *Ziehl Neelsen* adalah 3%, sementara itu penggunaan asam alkohol 12% dinilai jelek namun pada penelitian ini durasi waktu pendinginan *carbol fuchsin* yang digunakan adalah 5 menit. Asam alkohol 3% terdiri dari HCL pekat dan alkohol 96%, reagensia ini berfungsi sebagai larutan dekolorisasi setelah tahapan penetrasi zat *carbol fuchsin* terhadap bakteri BTA pada sediaan. Lapisan lilin yang dimiliki oleh bakteri BTA hanya dapat ditembus oleh zat *carbol fuchsin* dengan proses pemanasan. Pada tahapan pendinginan *carbol fuchsin* dan dekolorisasi menggunakan asam alkohol 3% lapisan lilin pada bakteri BTA tersebut akan merapat kembali sedangkan bakteri non-BTA akan melunturkan zat *carbol fuchsin* lalu mengikat zat *methylene blue* (Amelia, 2019).

Sediaan yang diberikan perlakuan variasi waktu pendinginan *carbol fuchsin* seluruhnya memenuhi kriteria ketebalan. Ketebalan pada sediaan di nilai dengan cara meletakkan sediaan sekitar 4 cm diatas kertas koran. Ketebalan dapat dikatakan baik jika tulisan pada koran masih terbaca samar-samar, namun jika tulisan pada koran terbaca dengan mudah (tipis) atau tidak terbaca (tebal) maka ketebalan sediaan tersebut jelek (Kementerian Kesehatan, 2012). Sediaan yang terlalu tebal akan menyebabkan pewarnaan yang gelap sehingga sulit dalam pembacaan secara mikroskopis, sedangkan sediaan yang terlalu tipis akan menyebabkan pewarnaan yang pucat sehingga sulit dalam pembacaan mikroskopis. Ketebalan yang baik akan memudahkan dalam pengamatan secara mikroskopis karena bakteri BTA tidak bertumpuk dan perhitungan indeks BTA lebih jelas (Niken, Darma and Yulia, 2022).

Pada penelitian ini, sediaan berukuran 2x3 berbentuk oval serta dilakukan *coiling* pada sediaan dibantu dengan pencetak sediaan. Sediaan <2x3 namun masih bisa didapatkan 100 lapang pandang, maka kriteria ukuran tersebut masih berkategori baik namun diberi keterangan ukuran “kecil”. Ukuran sediaan yang kecil mengharuskan melakukan penggeseran lensa naik dan turun saat pembacaan secara mikroskopis sehingga mendapatkan 100 lapang pandang. *Coiling* berfungsi untuk meratakan spesimen pada object glass dengan ukuran tertentu yaitu 2x3. Sediaan dengan ukuran 2x3 ini diharapkan akan mendapatkan 150 lapang pandang hanya dengan menggeser dari kiri ke kanan (Achmadi, Mardiah and Wahyu, 2021). Sediaan dengan kerataan yang baik akan mempermudah dalam pembacaan secara mikroskopis. Sediaan yang tidak rata atau terkelupas sulit saat pembacaan secara mikroskopis karena harus menggeser lensa mikroskop naik dan turun untuk mencari lapang pandang yang tidak kosong. Maka dari itu, seluruh sediaan yang dibuat oleh peneliti memenuhi kriteria ukuran dan kerataan yang baik.

Berdasarkan Tabel 5, hasil analisa menggunakan uji *Chi Squared* di olah berdasarkan data kriteria kebersihan sediaan. Kategori pengaruh berdasarkan nilai *p value* > 0,05 maka H_0 diterima dan H_a ditolak dan jika *p value* < 0,05 maka H_0 ditolak dan H_a diterima. Hasil uji pengaruh antara variasi waktu pendinginan *carbol fuchsin* selama 6 menit, 8 menit, 10 menit, dan 12 menit terhadap hasil pemeriksaan mikroskopis BTA menunjukkan nilai *p value* 0,000 (<0,05). Oleh karena itu, H_0 ditolak dan H_a diterima yaitu tidak ada pengaruh yang signifikan antara variasi waktu pendinginan *carbol fuchsin* terhadap hasil pemeriksaan mikroskopis BTA. Indeks BTA setelah dilakukan pemeriksaan secara mikroskopis sesuai dengan indeks BTA yang sebenarnya yaitu positif 3 (+3).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, Kualitas sediaan BTA dengan durasi pendinginan *carbol fuchsin* selama 6 menit, 8 menit, 10 menit, dan 12 menit dinyatakan berkualitas baik, namun pada beberapa variasi waktu terdapat beberapa sediaan yang tidak memenuhi kriteria kebersihan. Berdasarkan hasil analisis, tidak terdapat pengaruh yang signifikan antara variasi waktu pendinginan *carbol fuchsin* terhadap hasil pemeriksaan mikroskopis BTA. Indeks BTA setelah dilakukan pemeriksaan secara mikroskopis sesuai dengan indeks BTA yang sebenarnya yaitu positif 3 (+3). Hasil analisis

ditunjukkan dengan nilai p Value 0,000 yang menyatakan bahwa H_0 ditolak dan H_a diterima. Durasi pendinginan *carbol fuchsin* yang baik adalah 5-7 menit untuk menghasilkan sediaan yang berkualitas baik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada seluruh pihak terkait yang telah membantu dan bekerjasama dalam penyelesaian penelitian ini

DAFTAR PUSTAKA

- Achmadi, A., Mardiah, M. M, & Wahyu, S. (2021). Penerapan Pemantapan Mutu Internal Terhadap Kualitas Sediaan Pewarnaan Ziehl Neelsen Untuk Deteksi Mycobacterium TB. *Jurnal Ilmiah Kesehatan (JIKA)*. 3 (3). 124-133.
- Adriyani, A., (2016). Gambaran Hasil Perbandingan Pemeriksaan Mikroskopis Basil Tahan Asam Dengan Variasi Carbol Fuchsin dan Methylen Blue. *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Amelia, N. (2019). Gambaran Hasil Pemeriksaan Darah Rutin Pada Penderita Tuberkulosis Di Rsud M.Natsir Kota Solok. *Skripsi*. Stikes Perintis Padang.
- Badan Pusat Statistik Provinsi Kalimantan Timur. (2020). Jumlah Kasus Penyakit dan Kabupaten/Kota 2020.
- Budiharjo, T. & Purjanto, K. A. (2016). Pengaruh Penanganan Sputum Terhadap Kualitas Sputum Penderita TBC Secara Mikroskopis Bakteri Tahan Asam. *Jurnal Riset kesehatan*, 5 (1). 40-44.
- Dinas Komunikasi dan Informasi Provinsi Kalimantan Timur. (2022). Tiga Kabupaten dan Kota di Kaltim Tertinggi Kasus TBC.
- Handoko, A., Aminah, S. & Marhamah. (2016). Hubungan Kualitas Spesimen Dahak Dengan Gradasi Hasil Pemeriksaan BTA Pada Penderita TB Paru Di Kabupaten Pringsewu Tahun 2012, *Jurnal Analis Kesehatan*, 2 (2)(1). 290–296.
- Kementerian Kesehatan. (2012). Standar Prosedur Operasional Pemeriksaan Mikroskopis TB.
- Kementerian Kesehatan. (2014). Pedoman Nasional Pengendalian Tuberkulosis. Available at: http://www.tbindonesia.or.id/opensdir/Buku/bpn_p-tb_2014.pdf.
- Kementerian Kesehatan. (2022). Petunjuk Teknis Validasi Data di Fasyankes. 0–13.
- Khaironi Syarifah, Rahmita Mellysa & Siswani Ranti. 2017. Gambaran Jumlah Leukosit dan Jenis Leukosit pada Pasien Tuberkulosis Paru Sebelum Pengobatan dengan Setelah Pengobatan Satu Bulan Intensif di Puskesmas Pekan Baru, *Jurnal Analis Kesehatan Klinikal Sains*, 5(2).
- Malau, M. (2018). Evaluasi Kualitas Pewarnaan Basil Tahan Asam (BTA) Terhadap Sediaan Sputum Berdasarkan Durasi Pendinginan Carbol Fuchsin. *KTI*. Poltekkes Kemenkes Kaltim.
- Martiningsih, M., Mahendradhata, Y. & Rintiswati, N. (2014). Aplikasi 5 Kriteria Standar Dalam Pembuatan Sediaan Sputum Untuk Menegakkan Diagnosis Tuberkulosis Paru.
- Menteri Kesehatan. (2009). Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia: Pedoman Penanggulangan Tuberkulosis (TB).
- Misnarliah & Mudrika. (2021). Pengaruh Penundaan Pewarnaan Preparat Bakteri

- Tahan Asam (BTA) Terhadap Hasil Diagnosis Pasien Tuberkulosis Paru. *Jurnal Kesehatan Poltekkes Palembang (JPP)*. 17 (1). 79-85.
- Niken, N., Darma, I. Y. & Yulia, H. (2022). Hubungan Kualitas Sediaan Bakteri Tahan Asam (BTA) Terhadap Hasil Diagnosis Pasien Tuberkulosis Paru. *Jurnal Kesehatan Poltekkes Palembang (JPP)*. 17 (1). 79-85.
- Pralambang, S, D. & Setiawan, S., (2021). Faktor Risiko Kejadian Tuberkulosis di Indonesia. *Jurnal Biostatistik, Kependudukan, dan Informatika Kesehatan*, 2 (1). 61-63.
- Ramadhan, R., Fitria, E. & Rosdiana,. (2017). Deteksi *Mycobacterium tuberculosis* Dengan Pemeriksaan Mikroskopis dan Teknik PCR Pada Penderita Tuberkulosis Paru di Puskesmas Darul Imarah, *Sel Jurnal Penelitian Kesehatan*, 4(2). 73–80. Available at: <https://doi.org/10.22435/sel.v4i2.1463>.
- Suryawati, B. *et al.* (2018). Sensitivitas Metode Pemeriksaan Mikroskopis Fluorokrom dan Ziehl-Neelsen untuk Deteksi *Mycobacterium tuberculosis* pada Sputum. *Smart Medical Journal*, 1(2). Available at: <https://doi.org/10.13057/smj.v1i2.28704>.