

SKRIPSI
UJI KESESUAIAN PEMERIKSAAN BTA METODE *ZIEHL*
***NEELSEN* TERHADAP *GENEXPERT* PADA SUSPEK**
TUBERKULOSIS



Oleh : AL ADIM

NIM : 2210263273

PRODI SARJANA TERAPAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA PADANG

2023



a). Tempat /Tgl : Sandarsi Jaya 09 Agustus 1995; b). Nama Orang Tua: (Ayah) Amran Bahmid (Ibu) Pedu; c). Program Studi : DIV Analis Kesehatan/TLM; d). Fakultas: Ilmu Kesehatan; e). No NIM: 2210263273; f). Tanggal Lulus : 14 September 2023; g). Predikat lulus : ; h). IPK : 3.73, i) Lama Studi : 1 Tahun; j). Alamat: Desa Puuroe, Kecamatan Angata, Kabupaten Konawe Selatan , Provinsi Sulawesi Tenggara

**UJI KESESUAIAN PEMERIKSAAN BTA METODE ZIEHL NEELSEN TERHADAP
GENEXPERT PADA SUSPEK TUBERKULOSIS
SKRIPSI**

Oleh: AL ADIM

Pembimbing: 1. Putra R. Utami, AMd.Ak., S.Si M. Biomed, 2. Melly Siska Suryani, M.Hum
Abstrak

Tuberkulosis merupakan suatu penyakit kronik menular yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Paru-paru adalah organ yang paling sering terkena *Mycobacterium tuberculosis*. Bakteri ini berbentuk batang dan bersifat tahan asam sehingga sering disebut dengan Basil Tahan Asam. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kesesuaian hasil pemeriksaan BTA metode *Ziehl Neelsen* terhadap *GeneXpert* pada suspek tuberkulosis dari sampel sputum. Jenis penelitian ini merupakan penelitian deskriptif analitik. Hasil penelitian suspek TB paru sebanyak 50 sampel dengan jenis kelamin laki-laki 23 sampel (46%) dan perempuan 27 sampel (54%). Hasil pemeriksaan pada metode *Ziehl Neelsen* negatif 33 orang, scanty 0 orang, positif satu (+1) 4 orang, positif dua (+2) 2 orang, positif tiga, (+3) 11 orang. Hasil pemeriksaan pada metode *GeneXpert* *MTB not detected* 29 orang, *MTB Rifsen high detected* 2 orang, *MTB medium detected* 11 orang, *MTB rifsen low* 8 orang. Hasil uji *Ziehl Neelsen* sensitifitas 80.9% dan uji spesifitas 100%, sedangkan hasil uji *Cohen's Kappa* dari kedua metode tersebut 0,83 yang berarti pemeriksaan BTA metode *Ziehl Neelsen* terhadap *GeneXpert* pada suspek tuberkulosis memiliki tingkat kesesuaian dengan kategori sangat baik. Kepada peneliti selanjutnya ditambah jumlah sampel yang diteliti selanjutnya dapat melakukan penelitian tentang perbandingan hasil *GeneXpert* dan *Ziehl Neelsen* dengan menggunakan sampel sputum yang telah disentrifuge dan tidak disentrifuge.

Kata Kunci; BTA, *Ziehl Neelsen*, *GeneXpert*

Skripsi ini telah dipertahankan didepan sidang penguji dan dinyatakan lulus pada tanggal 31 Agustus 2023
Abstrak disetujui oleh penguji

Tanda tangan	1	2	3
Nama Terang	Putra R. Utami, AMd.Ak., S.Si M. Biomed	Melly Siska Suryani, M.Hum	Dr. Almurdi, DMM.,M.Kes

Mengetahui,
Ketua Program Studi : Dr. Apt. Dewi Yudiana Shinta, M.Si

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tuberkulosis merupakan suatu penyakit kronik menular yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Tuberkulosis merupakan salah satu penyebab kematian tertinggi di dunia. Paru-paru adalah organ yang paling sering terkena *Mycobacterium tuberculosis* tetapi dapat juga menyebar melalui pembuluh darah untuk menyebabkan infeksi di beberapa sistem organ (Zhou et al 2021). Bakteri ini berbentuk batang dan bersifat tahan asam sehingga sering disebut dengan Basil Tahan Asam (BTA) (Burhan, E. Dkk 2020). Basil tahan asam adalah kelompok bakteri yang mempunyai sifat khusus tahan terhadap dekolonisasi atau pelunturan warna dengan asam alkohol sehingga digolongkan sebagai bakteri gram positif (V. T. Hulu et al 2020)

WHO melaporkan pada tahun 2021 kasus tuberkulosis secara global sebanyak 10,6 juta kasus. Dari 10,6 juta kasus tersebut, terdapat 6,4 juta (60,3%) orang yang telah menjalani pengobatan 4,2 juta (39,7%) orang lainnya belum ditemukan/didiagnosis dan dilaporkan, dari total 10,6 juta kasus di tahun 2021, terdapat 6 juta kasus adalah pria dewasa, kemudian 3,4 juta kasus adalah wanita dewasa dan anak-anak, yakni sebanyak 1,2 juta kasus. Kematian 1,6 juta orang mati akibat tuberkulosis, terdapat sebesar 187.000 orang yang mati akibat tuberkulosis dan HIV (WHO 2022).

Indonesia menempati urutan ke-2 dengan beban tuberkulosis terbanyak di dunia setelah India, diikuti oleh China, Filipina, Pakistan, Nigeria, Bangladesh dan Republik Demokratik Kongo. Kasus Tuberkulosis di Indonesia diperkirakan sebanyak

969.000 kasus tuberkulosis (satu orang setiap 33 detik). Insidensi kasus tuberkulosis di Indonesia adalah 354 per 100.000 penduduk, yang artinya setiap 100.000 orang di Indonesia terdapat 354 orang di antaranya yang menderita tuberkulosis (WHO 2022).

Badan pusat statistik Sulawesi Tenggara pada bulan april tahun 2021 penderita tuberkulosis mencapai 1.479 penderita dimana data tersebut dari 17 kabupaten Kota. Urutan pertama di tempati oleh Kota Kendari sebanyak 262 penderita, Kabupaten Muna sebanyak 157 penderita, dan Kabupaten Konawe selatan sebanyak 127 penderita. Presentasi pengobatan tuberkulosis di Sulawesi Tenggara sekitar 65,8 % naik dari Tahun 2020 (Bps Sultra, 2021).

Penatalaksanaan tuberkulosis disebagian besar fasilitas kesehatan sudah menggunakan strategi *Directly Observed Treatment Short-course* (DOTS) dan penerapan standar pelayanan. Pemeriksaan bakteriologi tuberkulosis paru ini dapat dilakukan dengan 3 macam pemeriksaan yaitu pemeriksaan mikroskopis langsung, pemeriksaan TCM metode Xpert MTB/RIF, dan pemeriksaan biakan (Kemenkes RI, 2016). Pemeriksaan BTA dilakukan dengan mengumpulkan 2 spesimen dahak, dengan metode Sewaktu–Sewaktu (SS), atau Sewaktu-Pagi (SP) dapat dilakukan pagi hari semua untuk memudahkan pasien (jangka waktu 8-24 jam). Sputum kemudian dikumpulkan dengan wadah pot sputum kemudian dikirim ke laboratorium (Monica Cynthia, 2023). Pewarnaan *Ziehl Neelsen* merupakan pewarnaan diferensial, pewarnaan yang menggunakan lebih dari satu macam zat warna dan dapat membedakan bakteri tahan asam dengan bakteri yang bukan tahan asam (Anam, K., dan Rahmawati, E, 2022). Terwarnai sebagai bakteri acid fast maka *Mycobacterium tuberculosis* akan mempertahankan warna saat dipanaskan dan diberi komponen asam organik. Pada

penggunaan metode *Ziehl Nelseen* stain terhadap bakteri ini akan menunjukkan warna merah (Velayati, *et al*, 2016).

Pemeriksaan *GeneXpert* MTB/RIF merupakan metode dekteksi molekuler berbasis *nested real-time* untuk diagnosis tuberkulosis. Primer PCR 3 yang digunakan mampu mengamplifikasi sekitar 81 bp daerah inti gen *rpoB* MTB kompleks, sedangkan probe dirancang untuk membedakan sekuen wild tipe dan mutasi pada daerah inti yang berhubungan dengan resistensi terhadap rifampisin (Kemenkes RI, 2017).

Dalam pemeriksaan tuberkulosis saat ini *GeneXpert* adalah salah satu pemeriksaan gold standar dalam mendiagnosa tuberkulosis tetapi, pemeriksaan *GeneXpert* masih banyak daerah atau puskesmas yang belum memiliki fasilitas berupa alat *GeneXpert*, sehingga metode yang digunakan dalam pemeriksaan sputum masih menggunakan perhitungan BTA dengan metode *Ziehl Neelsen*. Relasiskawati (2020) dalam penelitiannya dengan Uji Kesesuaian Hasil Pemeriksaan Mikroskopis Basil Tahan Asam Metode Dengan Tes Cepat molekuler (*GeneXpert*) Pada Pemeriksaan Tuberkulosis Paru Dari Sampel Sputum, mendapatkan hasil uji kesesuaian dihitung dengan *Kappa cohen's* yaitu 0,88 yang berarti tingkat kesesuaian Sangat Baik dan spesifitas 100%. Untuk menjamin ketepatan hasil pemeriksaan sputum, hal inilah yang mendasari sehingga penulis tertarik melakukan penelitian kembali dengan Judul “ **UJI KESESUAIAN PEMERIKSAAN BTA METODE ZIEHL NEELSEN TERHADAP GENEXPERT PADA SUSPEK TUBERKULOSIS** “

1.2 RUMUSAN MASALAH

Bagaimana kesesuaian hasil pemeriksaan BTA metode *Ziehl Neelsen* terhadap *GeneXpert* pada suspek Tuberkulosis dari sampel sputum ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui kesesuaian hasil pemeriksaan BTA metode *Ziehl Neelsen* terhadap *GeneXpert* pada suspek tuberkulosis dari sampel sputum.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Untuk mengetahui hasil pemeriksaan BTA metode *Ziehl Neelsen* pada suspek tuberkulosis.
- b. Untuk mengetahui hasil pemeriksaan *GeneXpert* pada suspek tuberkulosis.
- c. Untuk mengetahui kesesuaian hasil pemeriksaan BTA metode *Ziehl Neelsen* dengan *GeneXpert* pada suspek tuberkulosis .

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1. Bagi Peneliti

Untuk menambah pengetahuan tentang pemeriksaan *GeneXpert* di laboratorium dalam mendiagnosis tuberkulosis paru, meningkatkan skill pemeriksaan tuberkulosis paru, mengetahui metode yang tepat dalam penegakan hasil laboratorium tuberkulosis paru.

1.4.2 Bagi Institusi Pendidikan

Menambah referensi dan jumlah karya ilmiah dan penelitian yang dihasilkan mahasiswa D-IV Teknologi Laboratorium Medik Universitas Perintis Indonesia.

1.4.3 Bagi Tenaga Laboratorium

Sebagai masukan bagi tenaga laboratorium dalam memilih metode yang tepat untuk membantu menegakkan diagnosis pasien terduga Tuberkulosis paru, khususnya pemeriksaan sputum dengan metode *Ziehl Nelsen* dan pemeriksaan *GeneXpert*.

BAB V

PEMBAHASAN

5.1 Pembahasan

5.1.1 Distribusi jumlah responden berdasarkan jenis kelamin pada suspek Tuberkulosis di Puskesmas Poasia, Kota Kendari Sulawesi Tenggara.

Berdasarkan tabel 4.1.1 diatas dari 50 responden telah dilakukan pemeriksaan sampel pada pasien suspek TBC di Puskesmas Poasia, Kota Kendari, Sulawesi Tenggara. Mendapatkan hasil Positif pada metode *Ziehl Nelsen* Laki-laki 12 sampel (24%), perempuan 5 sampel (10%), sedangkan pada metode *GeneXpert* laki-laki 16 sampel (32%) dan perempuan 5 sampel (10%), dan tidak ditemukan adanya resisten rifampicin. Hal ini juga dibuktikan oleh penelitian yang telah dilakukan oleh Sunarmi dan Kurniawaty (2022) dari 100 sampel yang telah dilakukan pemeriksaan didapatkan hasil positif sebanyak 63,6 %, sedangkan untuk jenis kelamin perempuan didapatkan hasil 36.4 %. Hal ini disebabkan karena aktifitas laki-laki diluar ruangan cenderung lebih banyak dibanding dengan perempuan. (Naga, 2012).

5.1.2 Distribusi responden berdasarkan umur pada pasien suspek TBC di Puskesmas Poasia, Kota Kendari, Sulawesi Tenggara.

Pada tabel 4.1.2 hasil pemeriksaan *GeneXpert* dan *Ziehl Nelsen* hasil positif tertinggi pada rentan umur 41 – 60 tahun sebanyak 18 orang (36 %), dan untuk nilai terendah pada rentan umur 10 – 20 tahun sebanyak 1 orang (2 %). Hal ini disebabkan karena umur 41 – 60 tahun adalah umur yang sangat produktif untuk melakukan aktifitas diluar ruangan, penurunan sistem imunitas tubuh juga sangat mempengaruhi proses

penularan penyakit TBC. Laporan Kementerian Kesehatan pada tahun 2020 penderita TBC pada umur produktif sebanyak 351.936 dengan rincian umur 45 – 54 17,3 % , umur 25 – 34 16,3 % , umur 15 – 24 16,7 % , umur 35 – 44 16,3 % , dan 14,6 % yang berumur 55 – 64 tahun (Kemenkes 2021). Hal ini sejalan penelitian yang dilakukan konde (2020) yang menunjukkan bahwa kelompok penderita paru paling banyak pada umur 15 – 55 tahun (usia produktif). Berdasarkan penelitian Sunarmi dan Kurniawaty (2022) menunjukkan adanya hubungan yang bermakna secara statistik antara usia dan kejadian TBC Paru. Kelompok penderita tuberkulosis paru paling banyak umur 15-55 tahun (usia produktif) karena pada usia ini orang menghabiskan waktu dan tenaga untuk bekerja dimana tenaga banyak terkuras, berkurangnya waktu istirahat sehingga membuat daya tahan tubuh menurun sedangkan pada kelompok tidak menderita tuberkulosis paru paling banyak umur > 55 tahun bahwa usia tua lebih rentan terkena TBC Paru karena usia tua secara organ tubuh telah mengalami penurunan.

5.1.3 Distribusi responden berdasarkan hasil positif pemeriksaan metode *Ziehl Neelsen* dan *GeneXpert* pada pasien suspek TBC di Puskesmas Poasia, Kota Kendari, Sulawesi Tenggara.

Pada diagram 4.1.3.1 dan 4.1.3.2 hasil penelitian pada 50 pasien yang mendapatkan dua perlakuan metode yang berbeda didapatkan hasil positif pada pewarnaan *Ziehl Neelsen* sebanyak 17 pasien dan *Genxpert* sebanyak 21 pasien. Hasil negatif pewarnaan *Ziehl Neelsen* sebanyak 33 pasien dan hasil negatif pada *GeneXpert* sebanyak 29 pasien. Hal ini didukung dengan penelitian Latifah, I, dkk (2022) dari 31 sampel yang telah dilakukan pemeriksaan didapatkan hasil positif pada *GeneXpert* sebanyak 55 % dan negatif 45 % sedangkan pada pemeriksaan BTA didapatkan hasil positif 35 % dan

negatif 65 %, hasil penelitian ini sama dengan yang telah dilakukan oleh Wicaksana, I. N. K, dkk (2022) dari 30 sampel yang telah diperiksa didapatkan hasil Positif pada *GeneXpert* sebanyak 9 sampel (30 %) positif, sedangkan pada pemeriksaan BTA didapatkan hasil sebanyak 6 sampel (20 %). Jumlah sampel positif pada pemeriksaan *GeneXpert* lebih tinggi dibanding dengan Perwarnaan *Ziehl Neelsen* disebabkan karena pemeriksaan kedua metode tersebut sangat berbeda dikarenakan perbedaan prinsip dan cara kerja. Berdasarkan skala *IUATLD (International Union Against Tuberculosis and Lung Disease)* hasil negatif dalam pemeriksaan *Ziehl Neelsen* jika tidak ditemukannya BTA dalam 100 LPB. Pada pemeriksaan *Ziehl Neelsen* setidaknya minimal terkandung 5000 Kuman/ml sputum untuk mendapatkan hasil positif, karena pada BTA harus diperiksa dalam keadaan hidup dalam waktu kurang dari dua jam agar warna terlihat jelas. Bakteri akan mati setelah dipanaskan diatas suhu 60° Celsius pada pewarnaan *Ziehl Neelsen*, Metode mikroskopik ini mendeteksi adanya BTA secara jelas dengan menggunakan mikroskop pewarnaan *Ziehl Neelsen* yang memberikan latar belakang berwarna biru terang dan basil tampak jelas berwarna merah sedangkan menggunakan metode *GeneXpert Mycobacterium tuberculosis* yang sudah mati tetap terdeteksi karena yang dideteksi adalah DNA dari bakteri tersebut (Utami, et al 2021)

Pewarnaan dengan metode *Ziehl Neelsen* mempunyai sensitivitas yang tidak setinggi spesifisitas. Hal ini bisa terjadi karena terlalu sedikitnya jumlah bakteri dalam sputum. BTA pada sputum secara mikroskopis akan terlihat bila sputum mengandung paling sedikit 10.000 BTA/ml serta hasil pemeriksaan tidak dapat membedakan *M.tuberculosis* dari *Mycobacterium sp.* yang lain. Penundaan waktu pemeriksaan dahak

dapat memengaruhi sensitivitas hasil pemeriksaan. Dahak harus cepat dikirim ke bagian laboratorium rumah sakit kurang dari dua jam. Lebih dari dua jam, kuman akan mati (Fadhilah, N. A, dkk, 2023). Hasil negatif juga dapat disebabkan oleh kualitas dan cara pembuatan preparat yang tidak bagus , sehingga dapat menimbulkan negatif palsu pada sampel yang diamati. Hal Ini juga dapat disebabkan oleh kualitas dahak yang dikumpulkan tidak memenuhi syarat.

Prinsip kerja *GeneXpert* MTB/RIF adalah *real time polymerase chain reaction* (PCR) dengan mengamplifikasi 81 pasang basa pada gen *rpoB* MTB dan menggunakan lima probe (A-E) (Kementerian Kesehatan RI, 2019). Pengujian dilakukan pada platform *GeneXpert* MTB/RIF, mengintegrasikan sampel yang akan diolah dalam cartridge plastic sekali pakai. Cartridge ini berisi semua reagen yang diperlukan untuk dapat melisiskan bakteri, ekstraksi asam nukleat, amplifikasi, dan deteksi gen yang sudah diamplifikasi. Hasil pemeriksaan dapat diperoleh dalam waktu 2 jam. Pemeriksaan ini bersifat otomatis dan tidak perlu tenaga ahli khusus Batas deteksi bakteri tuberkulosis menggunakan RT-PCR *GeneXpert* minimal 131 kuman/ml sputum.*GeneXpert* dengan metode deteksi molekuler berbasis *nested real-time PCR* mampu mendeteksi DNA MTB kompleks secara kualitatif (Kemenkes RI, 2017), sehingga pada pemeriksaan *GeneXpert* mampu mendeteksi MTB yang sudah mati sekalipun.

5.1.4 Tabel uji kesesuaian hasil pemeriksaan mikroskopis BTA Metode *Ziehl Neelsen* terhadap *GeneXpert* pada pemeriksaan Tuberkulosis paru

Pada hasil penelitian ditabel 4.1.4 dengan metode *Ziehl Neelsen* dapat disimpulkan bahwa metode *Ziehl Neelsen* akan mampu mendeteksi 80,9 % dengan benar suspek yang dinyatakan positif tuberkulosis. Nilai spesifitas 100 % berarti dengan menggunakan metode *Ziehl Neelsen* dapat mengidentifikasi dengan benar, presentase yang tidak positif menderita TBC, dan terbukti tidak positif tuberkulosis sebanyak 100 %. Hal ini relevan dengan dengan hasil penelitian Relasiskawati (2016) dengan hasil sensitivitas sebesar 81.8 % dan spesifitas 100 %. Tes cepat molekuler memperoleh hasil sensitivitas yang lebih tinggi dari pada pemeriksaan BTA sedangkan hasil spesifisitas mikroskopis lebih unggul dari Tes Cepat Molekuler. Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Simarmata dan Lolong (2020) dengan kesimpulan pemeriksaan tes cepat molekuler lebih unggul dibandingkan mikroskopis karena memiliki sensitivitas yang tinggi, dalam studi yang dilakukan dari 23% sampel yang diperiksa dengan kedua metode, diperoleh sebanyak 16,7% positif dalam tes cepat molekuler, hal ini menunjukkan bahwa pemeriksaan Tes Cepat Molekuler lebih sensitif dibandingkan dengan pemeriksaan mikroskopis, hasil penelitian ini sesuai dengan apa yang diharapkan dimana pada metode pemeriksaan yang dipergunakan dalam mendiagnosis suatu penyakit diharapkan nilai sensitivitas dan spesifitas suatu metode selalu dilakukan pengukuran metode untuk menilai, menjamin dan memastikan diagnosis pasien sudah tepat dan benar.

5.1.5 Tabel Uji *Cohen's Kappa* kesesuaian hasil pemeriksaan BTA Metode *Ziehl Neelsen* terhadap *GeneXpert* pada suspek Tuberkulosis.

Dari hasil perumusan menggunakan uji *kappa cohen's* diperoleh interpretasi uji kappa 0,83 yang berarti secara tabel interpretasi hasil uji kappa pemeriksaan BTA dengan metode *Ziehl Neelsen* dengan *GeneXpert* pada suspek tuberkulosis memiliki tingkat kesesuaian dengan kategori sangat baik, hasil penelitian ini juga selaras dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Muhammad Syahrur Ramadhan (2018) Koefisien *Cohen's Kappa* antar kedua metode didapatkan 0,893 yang berada di tingkat sangat baik. sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Nurul Husna dan Novi Utami Dewi (2020) yang mendapatkan hasil tidak terdapat perbedaan antara pemeriksaan mikroskopik BTA dan pemeriksaan *GeneXpert*. Pada penelitian tersebut dengan derajat kemaknaan 95% ($\alpha = 0.05$) didapatkan Kappa cohen 0,88 yang berarti pemeriksaan mikroskopis dengan TCM memiliki tingkat kesesuaian yang sangat baik. Hasil penelitian serupa dikemukakan oleh Widyaningsih, Eva (2021) dengan hasil TCM *GeneXpert* ($p=0,317$) tidak terdapat perbedaan hasil yang bermakna secara uji statistik pada kedua metode, sehingga pemeriksaan BTA dan *GeneXpert* memiliki kemampuan diagnosis yang sama dalam mengidentifikasi *M.tuberculosis*. Hal ini membuktikan bahwa metode *Ziehl Neelsen* dapat mengidentifikasi dengan baik presentase yang tidak positif, metode *GeneXpert* ini memiliki nilai sensitivitas yang tinggi, sehingga dapat digunakan sebagai alat skrining untuk menjangkau pasien yang menderita tuberkulosis paru.