

SKRIPSI

**PENGARUH WAKTU PEMANASAN KARBOL FUCHSIN
KONSENTRASI 0,3% TERHADAP PEWARNAAN BTA (BAKTERI
TAHAN ASAM) METODE ZIEHL-NEELSEN PADA PENYAKIT TBC DI
PUSKESMAS SIANTAN TENGAH**



**Oleh :
SARINA YULIANA
NIM : 2210263374**

**PROGRAM STUDI SARJANA TERAPAN TEKNOLOGI
LABORATORIUM MEDIS FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA
PADANG
2023**

**PENGARUH WAKTU PEMANASAN KARBOL FUCHSIN KONSENTRASI
0,3% TERHADAP PEWARNAAN BTA (BAKTERI TAHAN ASAM)
METODE ZIEHL NEELSEN PADA PENYAKIT TBC DI PUSKESMAS
SIANTAN TENGAH**

Skripsi

Oleh : Sarina Yuliana

Pembimbing: 1. Def Primal, M. Biomed 2. Rita Permatasari , M. Biotek

Abstrak

Tuberkulosis termasuk penyakit menular dan menyerang sistem pernapasan terutama bagian paru-paru yang disebabkan oleh kuman TBC *Mycobacterium Tuberculosis*. Pemeriksaan mikroskopis TBC menggunakan spesimen sputum dan merupakan salah satu alat diagnosis paling efisien untuk mendiagnosis orang yang terinfeksi *tuberculosis*. Pada tahap pewarnaan BTA metode Ziehl Neelsen, tidak ada panduan yang jelas mengenai lama waktu pemanasan preparat. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui gambaran umum hasil pewarnaan, hubungan waktu pemanasan dengan hasil pewarnaan dan waktu efektif pemanasan pada Preparat BTA dengan konsentrasi *carbol fuchsin* 0,3% dengan lama waktu pemanasan 5,10 dan 15 detik. Penelitian ini adalah penelitian eksperimental di Laboratorium Puskesmas Siantan Tengah dengan sampel sebanyak 45 preparat BTA. Hasil pewarnaan dikategorikan baik jika tampak kuman *Mycobacterium Tuberculosis* berwarna merah baik sendiri atau bergerombol dengan warna latar biru dan tidak baik jika tampak adanya sisa zat warna, endapan kristal sehingga kuman *Mycobacterium Tuberculosis* tidak tampak dengan jelas. Hasil yang didapatkan adalah pewarnaan dengan waktu pemanasan 10 detik memberikan hasil pewarnaan yang paling baik, bakterinya sangat mudah dibedakan dengan latar belakang biru. Hasil uji Chi-square, signifikansi 0,05 artinya ada hubungan antara lama waktu pemanasan dan hasil pewarnaan. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa Perbedaan waktu pemanasan sangat berpengaruh terhadap hasil pewarnaan dan waktu pemanasan paling efektif adalah 10 detik.

Kata kunci: Tuberkulosis, Waktu Pemanasan, Ziehl-Neelsen

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Tuberkulosis (TBC) menjadi perhatian khusus bagi *World Health Organization* (WHO) karena merupakan penyakit penyebab kematian yang utama pada penyakit infeksi bakterial di dunia. Pada tahun 2021, diperkirakan 10,6 juta orang terkena tuberkulosis (TBC) di seluruh dunia dan sebanyak 1,6 juta orang meninggal akibat TBC (WHO, 2023). Di Indonesia sendiri, pada Tahun 2022 Kementerian Kesehatan berhasil mendeteksi tuberkulosis (TBC) sebanyak lebih dari 700 ribu kasus. Angka tersebut merupakan angka tertinggi sejak TBC menjadi program prioritas Nasional. Penyakit tuberkulosis (TBC) di Indonesia menempati peringkat ketiga setelah India dan Cina, yakni dengan jumlah kasus 824 ribu dan kematian 93 ribu per tahun atau setara dengan 11 kematian per jam. Berdasarkan *Global TBC Report* Tahun 2022 jumlah kasus TBC terbanyak pada kelompok usia produktif terutama pada usia 25 sampai 34 tahun. Di Indonesia jumlah kasus TBC terbanyak yaitu pada kelompok usia produktif terutama pada usia 45 sampai 54 tahun (Oktaviani, Sumarni & Supriyatno, 2023).

Tuberkulosis termasuk penyakit menular dan menyerang sistem pernapasan terutama bagian paru-paru yang disebabkan oleh kuman TBC *Mycobacterium Tuberculosis* (Buntuan V, 2014; Silvani H dan Sureskiarti E, 2016). *Mycobacterium*

Tuberculosis merupakan jenis bakteri gram positif yang hidup di lingkungan dan kemudian masuk ke dalam inhalasi sistem pernapasan (Rab, 2010).

Salah satu upaya untuk menanggulangi dan memberantas masalah TBC adalah dengan strategi *Directly Observed Treatment Shortcourse (DOTS)*. *DOTS* merupakan strategi yang menekankan pada pengawasan langsung terhadap penderita, baik keluarga maupun petugas kesehatan. Penguatan pengendalian TBC ditujukan untuk meningkatkan mutu pelayanan, kemudahan akses untuk penemuan dan pengobatan sehingga mampu rantai penularan dan mencegah terjadinya TBC resistan obat (Aminah, S & Siregar, Maria Tuntun 2021).

Ahli Teknologi Laboratorium Medik memegang peranan penting dalam membantu program pemerintah dalam menanggulangi penyakit TBC. Salah satu peran nyata dalam melaksanakan strategi DOTS yaitu dengan adanya peran laboratorium yang melayani pemeriksaan mikroskopis TBC. Pemeriksaan mikroskopis TBC menggunakan spesimen sputum dan merupakan salah satu alat diagnosis paling efisien untuk mendiagnosis orang yang terinfeksi tuberculosis (Siti Khadijah, 2015). Dalam pelaksanaan pemeriksaan mikroskopis TBC sangat penting untuk memperhatikan kualitas hasil pemeriksaan laboratorium. Tujuan dari pemeriksaan sputum adalah untuk mendiagnosa TBC, memantau kemajuan pengobatan dan konfirmasi obat yang telah dicapai (Rakhmatika, Darmawati, & Prastiyanto, 2017).

Dalam upaya mendeteksi TBC dengan pemeriksaan mikroskopis, metode pewarnaan Ziehl-Neelsen (ZN) masih menjadi pilihan utama untuk deteksi awal infeksi TBC. Metode Ziehl-Neelsen (ZN) merupakan *Gold Standart* yang mudah, murah, dan mempunyai spesifisitas yang tinggi untuk mendeteksi bakteri tahan asam (BTA) pada sputum (Suryawati dkk., 2018).

Aziz et al. (2021) dalam penelitiannya menyatakan bahwa ada perbedaan pengaruh signifikan antara konsentrasi karbol fuchsin 1% dan 0,3% terhadap hasil pemeriksaan BTA metode Ziehl Neelsen, dimana hampir semua pemeriksaan BTA dengan karbol fuchsin 1% mempunyai kualitas baik, sedangkan 6 dari 16 (37,50%) sampel BTA yang diperiksa dengan karbol fuchsin 0,3% menunjukkan hasil pewarnaan yang kurang baik. Pemilihan bahan dan alat dalam pemeriksaan dan diagnosa sampel dalam hal ini sampel sputum pada pasien terduga TBC tentu menjadi faktor yang sangat penting, namun penulis dalam melaksanakan tugas biasanya tidak mempunyai pilihan dalam menentukan alat dan bahan yang digunakan dalam hal ini adalah konsentrasi *Carbol Fuchsin* yang akan digunakan. Hal ini menyangkut keterbatasan dari sisi kondisi peneliti yang hanya menerima bahan dan alat yang disediakan instansi tempat peneliti bekerja serta lokasi daerah tempat peneliti bekerja yang jauh dari fasilitas penyedia alat dan bahan pakai laboratorium. Kondisi daerah yang jauh dari jangkauan tempat penyedia alat dan bahan membuat instansi sebagai penyedia bahan tidak mempunyai pilihan sehingga ahli teknologi laboratorium medik harus bekerja semaksimal mungkin dengan alat dan bahan yang

tersedia yakni karbol fuchsin 0,3% yang sekaligus dalam penelitian ini menjadi perhatian penulis.

Pada saat menangani sampel, tidak ada panduan yang jelas mengenai lama waktu pemanasan. Waktu pemanasan biasanya hanya dilakukan hingga terlihat tanda penguapan pada preparat (Kemenkes, 2017). Hal tersebut menimbulkan keraguan bagi analis kesehatan dan di sisi lain juga menyulitkan karena analis kesehatan sulit mengatur pengingat waktu untuk lama waktu pemanasan. Efektivitas dan sensitivitas dalam pemeriksaan sampel sangat bergantung terhadap hal-hal teknis, salah satunya adalah lama waktu pemanasan di atas nyala api yang bertujuan melekatkan sel bakteri pada obyek *glass* sehingga pada pewarnaan dengan metode Ziehl Neelsen tidak mudah lepas saat pembilasan. Pemanasan yang baik, benar dan waktu yang tepat dapat meningkatkan sensitivitas pemeriksaan mikroskopis (Depkes RI, 2006). Hasil pewarnaan tidak hanya bergantung pada bahan yang digunakan tetapi juga terpengaruh oleh lama waktu pemanasan. Pewarnaan preparat BTA metode *Ziehl Neelsen*, seorang analis kesehatan tidak mempunyai panduan yang jelas mengenai lama waktu pemanasan yang efektif. Karena lama waktu pemanasan sangat berpengaruh terhadap hasil pewarnaan preparat BTA, maka mengetahui lama waktu pemanasan efektif dalam pewarnaan preparat BTA menjadi salah satu hal yang perlu diperhatikan.

Berdasarkan pemaparan masalah di atas maka penulis bermaksud meneliti pengaruh waktu pemanasan karbol fuchsin konsentrasi 0,3% terhadap pewarnaan BTA (Bakteri Tahan Asam) metode ziehl neelsen.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh waktu pemanasan karbol fuchsin konsentrasi 0,3% terhadap pewarnaan BTA (Bakteri Tahan Asam) metode *Ziehl-Neelsen* pada preparat sitologi TBC di Puskesmas Siantan Tengah.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mengetahui hubungan antara Waktu Pemanasan Karbol Fuchsin Konsentrasi 0,3% Terhadap Pewarnaan Preparat BTA (Bakteri Tahan Asam) Metode Ziehl Neelsen di Puskesmas Siantan Tengah.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui gambaran umum hasil pewarnaan preparat BTA dengan konsentrasi *carbol fuchsin* 0,3% dengan waktu pemanasan 5 detik, 10 detik dan 15 detik.
2. Mengetahui adanya hubungan antara waktu pemanasan Karbol Fuchsin Konsentrasi 0,3% terhadap hasil pewarnaan preparat BTA Metode Ziehl Neelsen.
3. Menentukan waktu pemanasan efektif yang dapat memberikan hasil pewarnaan yang baik.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

1. Memberikan gambaran apakah ada pengaruh kualitas pewarnaan preparat BTA dengan perbedaan waktu pemanasan yang berbeda.
2. Memberikan pengetahuan tentang waktu pemanasan efektif untuk pewarnaan BTA.

1.4.2 Bagi Institusi

Menambahkan referensi dan rujukan bagi penelitian dan kajian serta pendalaman keahlian dan keterampilan di Universitas Perintis Indonesia, khususnya bagi Tenaga Teknis Laboratorium.

1.4.3 Bagi Teknisi Laboratorium

Memberikan rujukan informasi waktu pemanasan *carbol fuchsin* yang efektif dalam proses pewarnaan BTA.

BAB II

PEMBAHASAN

2.1 Gambaran Umum Hasil Pewarnaan Preparat BTA.

Dalam penelitian ini, dari tiga waktu pemanasan terdapat 45 sampel preparat BTA yang dilakukan pewarnaan dengan menggunakan *carbol fuchsin* 0,3%. Dari 45 sampel tersebut, terdapat 25 atau 44,44% sampel yang memberikan hasil pewarnaan yang baik. Hal ini sedikit berbeda dari penelitian Aziz et al., (2022), dimana dari 16 sampel pewarnaan preparat BTA dengan menggunakan *carbol fuchsin* 0,3%, didapat pewarnaan yang baik sebanyak 6 sampel atau 37,50% sampel yang memberikan hasil pewarnaan yang baik. Salah satu faktor penyebab perbedaan hasil terkait penelitian ini adalah adanya perbedaan perlakuan waktu pemanasan. Dimana perlakuan lama waktu pemanasan yang dipakai pada penelitian ini adalah 5 detik, 10 detik dan 15 detik. Perbedaan hasil ini juga menunjukkan bahwa pewarnaan preparat BTA dengan menggunakan *carbol fuchsin* 0,3% dapat dioptimalkan dengan memberikan perlakuan waktu pemanasan yang efektif (Mirawati & Lestari, 2017).

Secara umum hasil yang didapatkan adalah waktu pemanasan 5 detik hasil pewarnaannya kurang optimal dengan hasil pewarnaan baik sebanyak 5 dari 15 (33,33%) sedangkan hasil pewarnaan tidak baik yang tinggi yakni 9 (66,67 %). Hasil pengamatan mikroskopis preparat BTA menunjukkan bahwa kualitas dari waktu pemanasan 5 detik pewarnaannya tidak memberikan kontras yang cukup baik dan

warna merah pada bakteri tidak terlihat dengan jelas dengan beberapa bakterinya terlihat pucat. Ini membuat bakteri tahan asam tidak terlihat dengan jelas di bawah mikroskop, sehingga sulit untuk membedakan mereka dari warna latarnya. Waktu pemanasan yang relatif singkat ini mengakibatkan *Carbol fuchsin* yang belum sempat sepenuhnya masuk ke bakteri sehingga tidak memberikan warna yang optimal pada sampel. Ini bisa mengakibatkan hasil pewarnaan yang kurang jelas atau tidak memadai. Jika waktu pemanasan tidak cukup, *carbol fuchsin* tidak terikat dengan kuat pada sel-sel bakteri. Hal ini bisa menyebabkan lepasnya zat pewarna dari sampel selama proses pencucian, sehingga mengurangi kemampuan untuk mendeteksi bakteri secara akurat.

Hasil pewarnaan dengan waktu pemanasan 10 detik memberikan hasil pewarnaan dengan kualitas baik sebanyak 12 (80%), di mana hasilnya menunjukkan warna merah pada bakteri yang terlihat jelas setelah pewarnaan. Pewarnaan merah ini mencerminkan adanya selaput luar lipid yang tebal pada bakteri tersebut. Bentuk bakterinya juga terlihat jelas di bawah mikroskop. Bentuk batang atau kokus bakteri tampak nyata dan dapat dengan mudah diidentifikasi.

Sedangkan hasil pewarnaan dengan waktu pemanasan 15 detik menunjukkan adanya pewarnaan yang cukup baik pada preparat BTA sebanyak 8(53,33%) . Hasil yang tidak baik sebanyak 7 (46,67%), di mana pemanasan yang berlebihan dapat menyebabkan kerusakan struktur sel pada bakteri yang mengandung asam mikolat, yang mungkin mengaburkan atau mempersulit pengamatan. Pemanasan yang

berlebihan dapat menyebabkan perubahan kimiawi pada *carbol fuchsin*. Hal ini dapat mengubah sifat-sifat pewarna dan mengakibatkan pewarnaan yang tidak stabil atau kurang akurat.

2.2 Analisa Hubungan Antara Waktu Pemanasan dan Hasil Pewarnaan dengan Uji Statistik Uji Chi-Square

Berdasarkan uji statistik *Chi-Square* dengan menggunakan perangkat lunak SPSS, didapat nilai signifikansi yakni 0,036 yang artinya H_0 diterima. Dengan demikian hal ini menegaskan adanya hubungan yang signifikan antara lama waktu pemanasan dengan hasil pewarnaan prepara BTA dengan menggunakan carbol fuchsin 0,3%. Hal ini berarti lama waktu pemanasan yang berbeda dapat memberikan hasil pewarnaan yang berbeda pula. Dari waktu pemanasan 10 detik, terdapat hasil pewarnaan dengan kualitas baik sebanyak 12 dari 15 sampel atau 80% hasil pewarnaan mempunyai kualitas pewarnaan yang baik. Aziz et al., (2022) dalam penelitiannya mendapatkan bahwa sebanyak 6 dari 16 atau 37,50% sampel BTA dengan *carbol fuchsin* 0,3% mempunyai hasil pewarnaan baik. Hasil kualitas pewarnaan tersebut berbeda dengan penelitian ini. Perbedaan hasil ini menunjukkan bahwa faktor lama waktu pemanasan sangat berpengaruh terhadap hasil pewarnaan dimana waktu pemanasan dibutuhkan agar BTA dapat menyerap zat pewarna dengan baik (Mirawati & Lestari, 2017). Metode mikroskopis dengan pewarnaan Ziehl neelsen dengan komponen dalam pewarnaan seperti Carbol Fuchsin membutuhkan

adanya proses pemanasan dimana pemanasan itu akan menyerap zat warna dan akan tahan diikat tanpa mampu dilunturkan oleh peluntur yang kuat sekalipun (Maulida, Sartika & Hidayani, 2024).

2.3 Waktu Paling Efektif Dalam Pewarnaan Preparat BTA

Setelah dilakukan pengamatan mikroskopis dan dilakukan perhitungan, dapat dilihat dengan jelas bahwa waktu pemanasan 10 detik adalah waktu pemanasan paling efektif karena menghasilkan pewarnaan baik yang paling banyak jumlahnya yaitu sebanyak 80% atau 12 dari 15 sampel. Maulida, Sartika & Hidayani (2024) dalam penelitiannya menyebutkan bahwa dari 6 sampel preparat BTA yang diteliti dengan waktu pemanasan 10 detik, semua sampel menunjukkan hasil pewarnaan dengan kualitas baik.

Waktu pemanasan yang memberikan hasil pewarnaan baik dengan jumlah paling sedikit dalam penelitian ini adalah 5 detik dimana hasil pewarnaan baiknya hanya 33,33% atau 5 dari 15 sampel. Jawetz et al., (2013) dalam penelitian Mirawati & Lestari (2017) bahwa *Mycobacterium tuberculosis* merupakan bakteri tahan asam yang mempunyai dinding sel yang kaya akan peptidoglikan dan lipid sehingga tidak dapat menyerap zat warna. Pemanasan sangat dibutuhkan agar BTA dapat menyerap zat warna. Waktu pemanasan yang tidak optimal menyebabkan BTA tidak terwarnai dengan sempurna. Literatur.....

Sementara itu, waktu pemanasan 15 detik memberikan persentase pewarnaan baik sebanyak 53,33% atau 8 dari 15 sampel. Mirawati & Lestari (2017) dalam penelitiannya menyebutkan bahwa batas waktu pemanasan ditandai dengan menguap dan tidak boleh sampai mendidih bertujuan agar tidak merusak sel bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Proses pemanasan yang terlalu lama akan dapat menimbulkan bercak merah yang disebabkan oleh pemanasan *carbol fuchsin* yang dipanaskan terlalu lama. Bercak merah yang tertinggal antara BTA dapat mengganggu proses identifikasi serta perhitungan BTA (Maulida, Sartika & Hidayani, 2024)