

**SKRIPSI**

**PERBEDAAN HASIL PEMERIKSAAN *Mycobacterium tuberculosis*  
METODE ZIEHL NEELSEN PADA SPUTUM DIPERIKSA  
LANGSUNG DENGAN SPUTUM DISIMPAN  
SELAMA 24 JAM DI SUHU RUANG  
DI UPT PUSKESMAS SAWAH**



**Oleh :**

**HELGA KARTIKA PASARIBU**

**NIM : 2410263584**

**PROGRAM STUDI SARJANA TERAPAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS**

**FAKULTAS ILMU KESEHATAN**

**UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA**

**PADANG**

**2025**

## **SKRIPSI**

# **PERBEDAAN HASIL PEMERIKSAAN *Mycobacterium tuberculosis* METODE ZIEHL NEELSEN PADA SPUTUM DIPERIKSA LANGSUNG DENGAN SPUTUM DISIMPAN SELAMA 24 JAM DI SUHU RUANG DI UPT PUSKESMAS SAWAH**


Skripsi ini Diajukan Sebagai Salah  
Satu Persyaratan untuk Memperoleh  
Gelar Sarjana Terapan Kesehatan

Oleh :

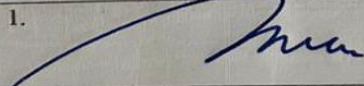
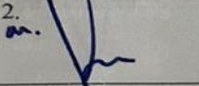
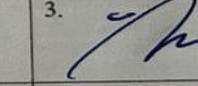
HELGA KARTIKA PASARIBU

NIM : 2410263584

**PROGRAM STUDI SARJANA TERAPAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS  
FAKULTAS ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA  
PADANG  
2025**


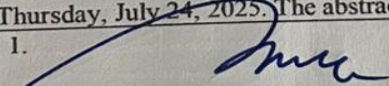
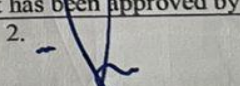
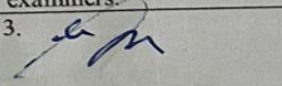
	<b>No. Alumni Universitas</b>	<b>Helga Kartika Pasaribu</b>	<b>No. Alumni</b>
<b>Biodata</b> a). Tempat /Tgl: Medan, 19-04-1996; b). Nama Orang Tua: (Ayah) Saut Pasaribu (Ibu) Natalina Dinse Manurung, S.Sos; c). Program Studi: Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis; d). Fakultas: Ilmu Kesehatan; e). NIM: 2410263584; f). Tgl Lulus: 24 Juli 2025; g). Predikat Lulus: Dengan Pujian; h). IPK: 3,98; i). Lama Studi: 1 Tahun; j). Alamat: Jl. Sidorukun Gg. Toba, Pekanbaru – Riau			
<b>PERBEDAAN HASIL PEMERIKSAAN <i>Mycobacterium tuberculosis</i> METODE ZIEHL NEELSEN PADA SPUTUM DIPERIKSA LANGSUNG DENGAN SPUTUM DISIMPAN SELAMA 24 JAM DI SUHU RUANG DI UPT PUSKESMAS SAWAH</b>			
<b>SKRIPSI</b> Oleh: Helga Kartika Pasaribu Pembimbing : 1. Putra Rahmadea U., A.Md.AK., S.Si., M. Biomed 2. Melly Siska Suryani, S. S., M.Hum			
<b>Abstrak</b> Tuberkulosis atau TBC adalah penyakit menular yang disebabkan oleh bakteri <i>Mycobacterium tuberculosis</i> . Pemeriksaan <i>Mycobacterium tuberculosis</i> secara mikroskopis dengan metode Ziehl Neelsen (ZN) bertujuan untuk mengetahui perbedaan hasil pemeriksaan <i>Mycobacterium tuberculosis</i> metode Ziehl Neelsen pada sputum yang diperiksa langsung dengan sputum yang disimpan selama 24 jam di suhu ruang. Jenis penelitian analitik dengan desain pendekatan <i>cross sectional</i> . Jenis data yang dikumpulkan adalah data primer, sebanyak 26 sampel. Metode analisis kuantitatif komparatif dengan membandingkan kedua sampel untuk mencari perbedaan. Distribusi frekuensi sampel berdasarkan jenis kelamin diperoleh pemeriksaan <i>Mycobacterium tuberculosis</i> terbanyak pada responden perempuan sebanyak 19 orang (73,1%), sedangkan laki-laki 7 orang (26,9%). Berdasarkan umur diperoleh hasil terbanyak pada responden umur 31-45 sebanyak 11 orang (42,3%). Berdasarkan pekerjaan diperoleh hasil terbanyak pada responden IRT sebanyak 13 orang (50%). Berdasarkan hasil pemeriksaan <i>Mycobacterium tuberculosis</i> pada sputum diperiksa langsung diperoleh hasil negatif 19 sampel (73,1%), scanty 1 sampel (3,8%), 1 positif 2 sampel (7,7%), 2 positif 3 sampel (11,5%) dan 3 positif 1 sampel (3,8%), sedangkan pada sputum disimpan 24 jam di suhu ruang diperoleh hasil negatif 20 sampel (76,9%), scanty 1 sampel (3,8%), 1 positif 3 sampel (11,5%) dan 2 positif 2 sampel (7,7%). Hasil uji statistik Wilcoxon didapatkan nilai p value = 0,01 (p value < 0,05), berarti ada perbedaan yang signifikan dari hasil pemeriksaan <i>Mycobacterium tuberculosis</i> pada sputum yang diperiksa langsung dengan sputum yang disimpan 24 jam di suhu ruang. <b>Kata Kunci:</b> TB Paru, <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , Lama Penyimpanan Sputum			

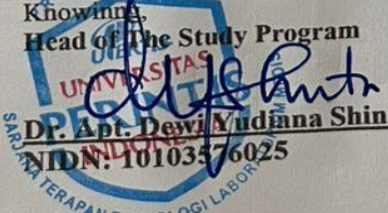
Skrripsi ini telah dipertahankan di depan sidang penguji dan dinyatakan LULUS pada Hari/Tanggal: Kamis, 24 Juli 2025. Abstrak telah disetujui oleh penguji.

Tanda Tangan	1. 	2. 	3. 
Nama Orang	Putra Rahmadea U., A.Md.AK., S.Si., M. Biomed	Melly Siska Suryani, S. S., M.Hum	Dr. Almurdi, DMM, M.Kes

Mengetahui,  
Ketua Program Studi:  
  
**Dr. Apt. Dewi Indiana Shinta, M.Si**  
**NIDN: 10103576025**



	No. Alumni Universitas	Helga Kartika Pasaribu	No. Alumni
<p align="center"><b>Biodata</b></p> <p>a). Place /Date of Birth: Medan, April 19<sup>th</sup> 1996; b). Parents's name: (Father) Saut Pasaribu (Mother) Natalina Dinse Manurung, S.Sos; c). Study Program: Bachelor of Applied Medical Laboratory Technology; d). Faculty: Health Sciences; e). NIM: 2410263584; f). Date of Graduation: 24 July 2025; g). Graduation Predicates: With Honors; h). GPA: 3,98; i). Length of Study: 1 Year; j). Address: Jl. Sidorukun Gg. Toba, Pekanbaru – Riau</p>			
<p align="center"><b>PERBEDAAN HASIL PEMERIKSAAN <i>Mycobacterium tuberculosis</i> METODE ZIEHL NEELSEN PADA SPUTUM DIPERIKSA LANGSUNG DENGAN SPUTUM DISIMPAN SELAMA 24 JAM DI SUHU RUANG DI UPT PUSKESMAS SAWAH</b></p>			
<p align="center">SKRIPSI Written By: Helga Kartika Pasaribu Thesis advisor: 1. Putra Rahmadea U., A.Md.AK., S.Si., M. Biomed 2. Melly Siska Suryani, S. S., M.Hum</p>			
<p align="center"><b>Abstract</b></p> <p>Tuberculosis or TB is an infectious disease caused by the bacteria <i>Mycobacterium tuberculosis</i>. Microscopic examination of <i>Mycobacterium tuberculosis</i> using the Ziehl Neelsen (ZN) method aims to determine the differences in the results of the Ziehl Neelsen method of <i>Mycobacterium tuberculosis</i> examination on sputum examined directly with sputum stored for 24 hours at room temperature. This type of analytical research uses a cross-sectional approach design. The type of data collected is primary data, with 26 samples. The comparative quantitative analysis method compares the two samples to find differences. The frequency distribution of samples based on gender obtained the most <i>Mycobacterium tuberculosis</i> examinations in female respondents as many as 19 people (73.1%), while men 7 people (26.9%). Based on age, the most results were obtained in respondents aged 31-45 as many as 11 people (42.3%). Based on occupation, the highest number of results was found in housewives (13) (50%). Based on the results of <i>Mycobacterium tuberculosis</i> examinations on directly examined sputum, 19 samples (73.1%) were negative, 1 sample (3.8%), 1 sample (7.7%), 2 samples (11.5%), and 3 samples (3.8%) were scanty. Meanwhile, sputum stored for 24 hours at room temperature yielded negative results in 20 samples (76.9%), 1 sample (3.8%), 1 sample (11.5%), and 2 samples (7.7%). The Wilcoxon statistical test yielded a p-value of 0.01 (p-value &lt;0.05), indicating a significant difference in <i>Mycobacterium tuberculosis</i> test results in sputum examined directly and sputum stored for 24 hours at room temperature.</p> <p><b>Keywords:</b> Pulmonary TB, <i>Mycobacterium tuberculosis</i>, Sputum Storage Time</p>			
<p align="center">This thesis has been defended in front of the examiners and declared PASSED on the Day/Date: Thursday, July 24, 2025. The abstract has been approved by the examiners.</p>			
Signature	1. 	2. 	3. 
Bright Name	Putra Rahmadea U., A.Md.AK., S. Si., M. Biomed	Melly Siska Suryani, S. S., M.Hum	Dr. Almurdi, DMM, M.Kes

  
 Head of The Study Program  
 Dr. Apt. Dewi Nudiana Shinta, M.Si  
 NIDN: 10103576025

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 Latar Belakang**

Tuberkulosis atau TBC adalah penyakit menular yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. TBC utamanya menyerang paru-paru, namun juga dapat menyerang organ tubuh lain seperti selaput otak, kulit, tulang, kelenjar getah bening dan lainnya. Ketika bakteri TBC keluar dari paru-paru melalui aliran darah maka kondisi ini disebut dengan TBC Ekstra Paru. Hanya sekitar 10% diantara orang yang terinfeksi akan jatuh sakit. Bakteri TBC dapat hidup dalam kondisi non-aktif (laten) seumur hidup dan menjadi aktif saat daya tahan tubuh melemah (Kemenkes RI, 2024).

Faktor-faktor yang erat hubungannya dengan penularan tuberkulosis antara lain adalah adanya sumber penularan, tingkat paparan, virulensi, imunitas tubuh yang erat kaitannya dengan faktor genetik, penurunan fungsi fisiologi tubuh, jenis kelamin, usia, status gizi, perumahan dan jenis pekerjaan. Faktor lingkungan menjadi media penularan yang sama khususnya lingkungan dimana individu berinteraksi sehari-hari. *Mycobacterium tuberculosis* berbentuk batang, lurus atau berbentuk filament. Bakteri ini bersifat aerobik, tidak membentuk spora, non motil, tahan asam. *Mycobacterium tuberculosis* merupakan bakteri Gram positif (Anam & Rahmawati, 2022).

Laporan tuberkulosis Global WHO (2023) memberikan penilaian komprehensif dan terkini tentang epidemi TB, serta kemajuan dalam pencegahan, diagnosis, dan pengobatan penyakit tersebut, di tingkat global, regional, dan negara. Hal ini dilakukan

dalam konteks komitmen, strategi, dan target TB global Laporan tuberkulosis edisi 2023 terutama didasarkan pada data yang dikumpulkan oleh WHO dari kementerian kesehatan nasional dalam putaran pengumpulan data tahunan. Pada tahun 2023, 192 negara dan wilayah (dari 215) dengan lebih dari 99% populasi dunia dan kasus TB data yang dilaporkan. Pada tahun 2022, perkiraan proporsi penderita TBC yang menderita MDR/RR-TB adalah 3,3% di antara kasus baru dan 17% di antara kasus baru mereka yang pernah dirawat sebelumnya. Angka pada tahun 2015 adalah 4,0% dan 25% masing-masing. Pada tahun 2020 angkanya adalah 3,4% dan 20% (World Organization Health, 2023).

Saat ini Indonesia masih masuk dalam delapan negara-negara dengan beban tinggi (87%) kasus tuberkulosis (TBC) dunia, yaitu India 27%; Indonesia 10%; China 7,1%; Filipina 7%; Pakistan 5,7%; Nigeria 4,5%; Bangladesh 3,6%; dan Republik Demokratik Kongo 3%. Indonesia menjadi penyumbang nomor dua kasus terbanyak. Per-tanggal 25 bulan Januari 2025 kasus orang dengan TBC sebanyak 1.090.000, orang dengan resisten obat sebanyak 30.000, angka kematian akibat TBC 30.000 jiwa dan keberhasilan pengobatan sebanyak 87%. Berdasarkan Global TB Report (2023), Indonesia berada di peringkat kedua dunia untuk jumlah kasus tuberkulosis (TBC) terbanyak, setelah India dan diikuti oleh China. Disisi program hal ini sangat baik, artinya surveilans TBC berjalan. Sehingga semakin banyak yang ditemukan maka potensi diobati semakin tinggi sehingga TBC dapat dikendalikan. Disisi lain juga dengan banyaknya kasus TBC, juga membuat beban TBC semakin meningkat pula (Kemenkes RI, 2024).

Kasus TB untuk Provinsi Riau berdasarkan informasi yang diperoleh dari Dinas Kesehatan Provinsi Riau, Estimasi Insiden TB Tahun 2023 ditargetkan sebesar 29.449 kasus, dari target yang ditetapkan ini, capaian Riau adalah sebesar 15.398 kasus atau senilai *Treatment Coverage* sebesar 56%. Tahun 2023 ini Riau penyumbang kasus peringkat 10 diantara 38 provinsi yang ada di Indonesia. Capaian ini juga merupakan capaian dengan rekor tertinggi sejak TBC dinyatakan sebagai program prioritas nasional di Riau, namun bila dilihat dari angka penemuan suspek pasien TB dengan hasil pemeriksaan bakteri tahan asam (BTA) positif per Kabupaten/Kota Provinsi Riau tahun 2023, maka ada 2 kabupaten/kota yang terlalu ketat penemuan kasus TBC yaitu Kota Pekanbaru sebanyak 2.605 kasus dan Kabupaten Rokan Hilir sebanyak 971 kasus (Dinas Kesehatan Provinsi Riau, 2023).

Kabupaten Kampar khususnya instansi Dinas Kesehatan memiliki 31 puskesmas disetiap kecamatan yang ada di Kampar. Masing-masing puskesmas mempunyai program TB. Setelah diakumulasikan semua pelaporan kasus TB yang terdapat pada sistem SITB (Sistem Informasi Tuberkulosis) Kabupaten Kampar, maka angka capaian program TB pada tahun 2023 untuk kasus penemuan TBC sebanyak 1.968 atau sekitar diangka 72%. Target capaian program TB pada tahun 2023 sebanyak 2.733. Cakupan inisiasi pengobatan kasus TBC Sensitif Obat (SO) sebesar 84 %. Cakupan inisiasi pengobatan kasus TBC Resisten Obat (RO) sebesar 67% (Dinas Kesehatan Kabupaten Kampar, 2023).

UPT Puskesmas Sawah adalah salah satu puskesmas dibawah naungan Dinas Kesehatan Kabupaten Kampar. Di puskesmas tersebut memiliki capaian tersendiri

untuk kasus TB. Pada laporan tahun 2024 didapatkan jumlah suspek kasus penemuan TB sebanyak 268 kasus. Hasil terkonfirmasi positif kuman bakteri *Mycobacterium tuberculosis* sebanyak 45 kasus. Hasil terkonfirmasi negatif TB sebanyak 223 kasus (Pedoman TB- 01 dan 04, Laboratorium UPT Puskesmas Sawah).

Pemeriksaan *Mycobacterium tuberculosis* secara mikroskopis dengan metode Ziehl Neelsen (ZN) digunakan sebagai penegakan diagnosa penemuan kasus TBC. Pewarnaan ZN memiliki pengertian sebagai pewarnaan diferensial. Pewarnaan difrensial yakni pewarnaan yang menggunakan lebih dari satu macam zat warna dan dapat membedakan bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Hal tersebut dikenal dengan istilah bakteri tahan asam (BTA) dan bakteri yang bukan tahan asam. Bakteri tahan asam (BTA) ditunjukkan dengan adanya warna merah pada sediaan ketika diperiksa dibawah mikroskop dan yang bukan BTA akan luntur ketika didekolorasi oleh zat asam alkohol 3% (Anam & Rahmawati, 2022).

Sputum atau dahak adalah lendir atau riak berupa sekret yang dibatukkan dan berasal dari paru-paru, bukan bahan yang berasal dari tenggorokkan, hidung atau mulut. Mutu spesimen sputum untuk pemeriksaan sangat perlu untuk diperhatikan karena diduga berkaitan dengan jumlah kuman yang mungkin ditemukan dalam pemeriksaan BTA (Anam & Rahmawati, 2022). Idealnya spesimen dahak harus segera diperiksa. Jika karena suatu hal sehingga spesimen dahak tidak dapat segeradiperiksa, maka biasanya spesimen disimpan di tempat dingin dengan harapan tidak mengalami perubahan dan menghindarkan dari serangga misalnya di dalam lemari pendingin. Tidak dianjurkan membiarkan



spesimen dahak pada suhu ruangan (Kalma & Adrika, 2019).

Adapun kesalahan yang cukup sering terjadi di lapangan adalah terkait penyimpanan dari sampel sputum. Sampel sputum yang dilakukan penundaan pemeriksaan terkadang tidak disimpan pada tempat yang dingin. Berdasarkan observasi yang dilakukan di salah satu rumah sakit di Denpasar terkadang sampel sputum dilakukan penundaan pemeriksaan hingga 48jam. Penundaan pemeriksaan dilakukan karena tidak memungkinkan dilakukan pemeriksaan segera. Akibat banyaknya jumlah sampel yang masuk ke laboratorium (Asih et al., 2021).

Menurut Kemenkes RI (2022) menyebutkan bahwa semua spesimen sputum setelah dilakukan pengambilan harus segera diperiksa. Stabilitas spesimen sputum dapat mengalami perubahan antara lain terjadi kontaminasi oleh kuman dan bahan kimia terjadi metabolisme oleh sel-sel hidup pada spesimen, pengaruh suhu dan terkena paparan sinar matahari. Menurut penelitian Arbaina et al., (2022) mengenai pengaruh lama penanganan sampel sputum tuberkulosis terhadap pemeriksaan mikroskopis bakteri basil tahan asam menyebutkan sputum yang ditunda pemeriksaannya dalam suhu ruang akan menjadi encer dan diduga dapat mempengaruhi kualitas sediaan sputum.

Berdasarkan latar belakang diatas, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul “Perbedaan Hasil Pemeriksaan *Mycobacterium tuberculosis* Metode Ziehl Neelsen pada Sputum Diperiksa Langsung dengan Sputum Disimpan Selama 24 Jam di Suhu Ruang di UPT Puskesmas Sawah”.

## 1.2 Rumusan Masalah

Dalam penelitian ini didapatkan rumusan masalah yaitu apakah ada perbedaan hasil pemeriksaan *Mycobacterium tuberculosis* metode Ziehl Neelsen pada sputum diperiksa langsung dengan sputum disimpan selama 24 jam di suhu ruang di UPT Puskesmas Sawah?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui perbedaan hasil pemeriksaan *Mycobacterium tuberculosis* metode Ziehl Neelsen pada sputum yang diperiksa langsung dengan sputum yang disimpan selama 24 jam di suhu ruang di UPT Puskesmas Sawah.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui hasil pemeriksaan *Mycobacterium tuberculosis* metode Ziehl Neelsen pada sputum yang diperiksa langsung.
2. Untuk mengetahui hasil pemeriksaan *Mycobacterium tuberculosis* metode Ziehl Neelsen pada sputum yang disimpan selama 24 jam di suhu ruang.
3. Untuk mengetahui adakah perbedaan hasil pemeriksaan *Mycobacterium tuberculosis* metode Ziehl Neelsen pada pengelolaan sputum yang diperiksa langsung dengan sputum yang disimpan selama 24 jam di suhu ruang.

## **1.4 Manfaat Peniltian**

### **1.4.1 Bagi Peneliti**

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan, pengetahuan dan pengalaman serta dapat mengaplikasikan keterampilan dalam melakukan pemeriksaan laboratorium secara mikroskopis khususnya pemeriksaan *Mycobacterium tuberculosis* pada spesimen sputum.

### **1.4.2 Bagi Institusi Pendidikan**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sebagai bahan acuan dan referensi dalam penelitian selanjutnya juga dijadikan sebagai kepustakaan di Universitas Perintis Padang.

### **1.4.3 Bagi Petugas Laboratorium**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sebagai sumber informasi dan untuk memberikan pemahaman mengenai perbedaan hasil pemeriksaan *Mycobacterium tuberculosis* metode Ziehl Neelsen pada sputum yang diperiksa segera dan yang ditunda selama 24 jam di ruang.

## BAB V

### PEMBAHASAN

#### 5.1 Pembahasan

##### 5.1.1 Karakteristik Umum Responden Berdasarkan Jenis Kelamin, Umur, Pekerjaan

Pada penelitian ini terdapat pengumpul sampel sputum berjenis laki-laki dan perempuan. Hasil terbanyak adalah jenis kelamin perempuan yang melakukan pemeriksaan sampel sputum sebagai terduga TB. Hal tersebut dikarenakan tempat penelitian bekerja masyarakat yang berjenis kelamin perempuan lebih dominan peka terhadap gejala atau tanda-tanda ketidaknyamanan pada kesehatan yang mereka alami sehingga datang pusat pelayanan kesehatan untuk melakukan pemeriksaan kesehatan, sedangkan laki-laki jarang datang ke pusat pelayanan kesehatan dikarenakan sibuk mencari nafkah untuk keluarga dan banyak yang bekerja jauh dari tempat pelayanan kesehatan. Menurut laporan WHO dan data dari berbagai penelitian (Sunarmi,2022) secara umum, laki-laki cenderung lebih rentan terkena TB dibandingkan perempuan. Laki-laki memiliki 1,5 kali lebih besar risiko terkena TB. Hal ini terjadi kemungkinan karena laki-laki lebih terpapar pada faktor risiko TB misalnya merokok dan kurangnya pengetahuan tentang penyakit. Suvei ini menemukan bahwa dari seluruh partisipan laki-laki perokok sebanyak 68,5% dan hanya 3,7% perempuan yang merokok. Faktor perbedaan umur dapat menyebabkan pengaruh terhadap hasil *Mycrobacterium tuberculosis*, hal ini karena pada usia produktif seseorang akan berinteraksi

dilingkungan masyarakat sekitar, mencari nafkah dan menuntut ilmu sehingga memungkinkan terjadinya penularan dan penyebaran penyakit TB. Menurut WHO tahun 2020 pada halaman *Fact sheets* kelompok usia yang paling rentan terkena TB adalah kelompok usia produktif yaitu dari usia 15 tahun sampai usia 54 tahun.

Faktor pekerjaan juga mempengaruhi risiko penyakit TB. Pekerja yang memiliki mobilitas tinggi dan sering berinteraksi dengan banyak orang seperti, petani, wiraswasta dan bahkan ibu rumah tangga lebih rentan terhadap TB karena penularan penyakitnya melalui udara saat pasien TB aktif batuk ataupun bersin bahkan membuang dahak/ sputum dengan sembarangan. Dimana petani merupakan pekerja lapangan yang sering berinteraksi dengan orang lain dan mungkin terpapar debu atau pertikel lain yang dapat mendukung penularan TB. Wiraswasta adalah pekerja yang sering berinteraksi dengan pelanggan dan mungkin terpapar berbagai jenis lingkungan kerja. Ibu rumah tangga merupakan pekerja yang melakukan aktivitas sehari-hari di rumah dan lingkungan sekitar rumah serta mungkin terpapar debu atau dengan warga yang sudah terkena TB sehingga sangat memudahkan penularan penyakit TB tersebut.

#### **5.1.1 Distribusi Perbandingan Hasil Pemeriksaan Mycobacterium tuberculosis Metode Zhiel Neelsen pada Sputum Diperiksa Langsung dengan Disimpan 24 Jam di Suhu Ruang Di UPT Puskesmas Sawah**

Penelitian ini yang telah dilakukan di Laboratorium Puskesmas Sawah pada bulan Februari – April 2025 dengan jumlah sampel sebanyak 26. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 26 sampel sputum terduga TB paru, setelah diperiksa dan datanya dianalisis, ternyata ada terdapat perbedaan bermakna jumlah



BTA antara sampel sputum yang diperiksa langsung dengan sputum yang ditunda pemeriksaannya selama 24 jam di suhu ruang. Hal tersebut ditunjukkan dengan nilai signifikansi  $p < 0,05$  (Tabel 4.6). Hasil pada Tabel 4.4 juga menunjukkan bahwa hasil jumlah BTA atau bakteri *Mycobacterium tuberculosis* mengalami perubahan hasil. Berdasarkan data tersebut penundaan sampel sputum pada suhu ruang tidak disarankan karena dapat berpengaruh terhadap perubahan hasil positif atau negatif mikroskopis BTA. Sputum yang ditunda selama 24 jam di suhu ruang dapat mengakibatkan jumlah bakteri *Mycobacterium tuberculosis* menurun yang dapat menyebabkan hasil negatif palsu.

Penurunan jumlah bakteri ini dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu nutrisi, proses enzimatik pada sputum dan perubahan konsistensi sputum. Sama seperti bakteri lainnya, bakteri tahan asam juga membutuhkan nutrisi untuk bertahan hidup. Pada sputum, *Mycobacterium tuberculosis* hanya dapat menggunakan nutrisi yang ada di dalamnya. Berbeda ketika berada di dalam tubuh, *Mycobacterium tuberculosis* 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, bakteri *Mycobacterium tuberculosis* akan kehilangan sumber energinya dan mati. Hal ini sesuai dengan kurva pertumbuhan yang menyatakan bahwa sebagian besar populasi bakteri akan mulai mengalami kematian karena nutrisi di dalam medium sudah habis, adanya zat racun dan habisnya energi cadangan di dalam sel (Ni Luh Sekar, *et al.* 2021). Penurunan jumlah bakteri *Mycobacterium tuberculosis* atau BTA dipengaruhi oleh proses enzimatik yang terdapat pada sel leukosit dalam

sputum mengandung enzim *neutrophilelastase* dan *alpha-naphthyl acetate esterase* yang masih dapat bekerja sampai 72 jam meski aktivitasnya akan terus menurun. *Neutrophilelastase* disekresikan oleh neutrophil selama peradangan dan menghancurkan bakteri dan jaringan inang (Sugireng, *et al.*, 2023). Proses enzimatik ini menyebabkan rusaknya struktur dinding BTA sehingga menghilangkan sifat tahan asam yang dimiliki BTA yang seharusnya menyerap warna merah dari *Carbol Fuchsin* tidak dapat lagi mempertahankan warnanya saat ditambahkan dengan alkohol asam dan ikut terwarnai oleh *Methylene Blue* sehingga berwarna biru. Akibatnya sel tidak terbaca sebagai bakteri *Mycobacterium tuberculosis* sehingga berpengaruh terhadap penurunan jumlah bakteri *Mycobacterium tuberculosis*.

Penurunan jumlah bakteri *Mycobacterium tuberculosis* juga dapat dipengaruhi oleh suhu dan lama penyimpanan sputum. Sampel sputum diperiksa langsung secara makroskopis ialah berupa lendir yang berwarna kuning kehijauan (mukopurulen), sputum dengan kondisi kental dan lengket (purulent) ataupun lender dan lengket (mukoid), serta memiliki bau sputum yang khas. Sampel sputum dengan penundaan satu hari di suhu ruang ialah kentalnya menurun (mencair) dan encer dan memiliki bau yang tajam dari sputum sebelumnya. Hal tersebut dapat mengurangi jumlah bakteri *Mycobacterium tuberculosis* terhadap penanganan sputum yang diperiksa langsung dan yang dilakukan penundaan selama 24 jam pada suhu ruang. Semakin lama pemeriksaan sampel sputum (dahak) ditunda, jumlah BTA dapat menurun secara signifikan, terutama jika disimpan pada suhu yang tidak tepat. Pemeriksaan sebaiknya dilakukan sesegera

mungkin. Paparan suhu berlebih, baik panas (sinar matahari langsung) maupun terlalu dingin ( $-20^{\circ}\text{C}$ ), dapat merusak atau membunuh bakteri BTA dalam sampel. Sampel idealnya disimpan pada suhu dingin  $2^{\circ}\text{C}$ – $8^{\circ}\text{C}$ . Menurut Zhao et al. (2013) spesimen sputum yang disimpan pada suhu ruang ( $25^{\circ}\text{C}$ ) selama 24 jam atau lebih dapat mengakibatkan sputum mengalami perubahan fisik yang awalnya kental (purelent atau mukopureulen) menjadi encer. Lebih lanjut menurut Ni Wayan Desi Bintari (2021) menyatakan sputum encer bisa terjadi karena suhu ruang yang cenderung hangat dapat membuat konsistensi sputum menurun. Suhu hangat dapat menyebabkan pecahnya granula-granula pada sputum sehingga cairan akan keluar dan sputum tampak lebih encer. Kondisi sputum yang encer artinya kualitas sputum menurun sehingga sulit untuk membuat sediaan BTA. Sediaan menjadi tipis, kadang sulit untuk diratakan dan sediaan menjadi tidak baik. Proses laboratorium dalam pemeriksaan sampel sputum untuk pemeriksaan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* juga dapat terjadi kesalahan pada tahap pra-analitik (seperti pelabelan yang salah), analitik (proses pewarnaan dan pembuatan apusan), hingga pada tahap terakhir di proses pasca-analitik (pembacaan hasil) yang dapat memengaruhi akurasi jumlah bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang dilaporkan.

Hasil penelitian yang didapatkan juga didukung oleh Ni Luh Sekar Asih, et al. (2021) yang melakukan penelitian terhadap pengaruh waktu penyimpanan spesimen sputum pada suhu ruang terhadap hasil penilaian BTA. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa berdasarkan hasil uji terdapat beda nyata ( $p < 0,05$ ) antara sputum yang diperiksa segera dengan sputum yang ditunda 24 jam dan 48

jam terhadap hasil hitung BTA mikroskopis sputum. Hasil penelitian ini juga didukung oleh Sugireng, *et al.* (2023) yang melakukan penelitian tentang pengaruh penundaan sampel sputum yang diperiksa langsung dan ditunda selama 12 jam terhadap hasil pemeriksaan mikroskopis pada penderita suspek TB. Hasil penelitian tersebut menunjukkan adanya penurunan jumlah bakteri BTA pada sputum diperiksa langsung dan ditunda selama 12 jam pada suhu ruang dapat mengakibatkan hasil negatif palsu atau positif palsu. Maka dari itu spesimen sputum untuk pemeriksaan *Mycobacterium tuberculosis* atau 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.