

SKRIPSI

PERBANDINGAN KUALITAS PEWARNAAN PAPANICOLAOU SEDIAAN APUSAN SITOLOGI SPUTUM TB YANG DIBUAT LANGSUNG DENGAN YANG SUDAH MENGALAMI PENUNDAAN WAKTU PEMBUATAN



Oleh :
ARYO PUTRA
NIM : 2410263672

**PROGRAM STUDI SARJANA TERAPAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
FAKULTAS ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA
PADANG
2026**

	No Alumni Universitas	Aryo Putra	No Alumni
	a). Tempat/Tgl : Watumeeto/11 Juni 2001; b). Nama Orang Tua : (Ayah) Alm. Agus Rohi (Ibu) Nursia; c). Program Studi : D.IV Analis Kesehatan/ATLM; d). Fakultas : Ilmu Kesehatan; e). No NIM : 2410263672; f). Tgl Lulus : 28 Maret 2026 ; g). Predikat Lulus : Sangat Memuaskan; h). IPK : 3,98; i). Lama Studi : 1 Tahun; j). Alamat : Jln. Poros Lainea-Kendari, Desa Watumeeto, Kec. Lainea, Kab.Konawe Selatan, Provinsi Sulawesi Tenggara.		

PERBANDINGAN KUALITAS PEWARNAAN PAPANICOLAOU SEDIAAN APUSAN SITOLOGI SPUTUM TB YANG DIBUAT LANGSUNG DENGAN YANG SUDAH MENGALAMI PENUNDAAN WAKTU PEMBUATAN

SKIRPSI

Oleh : Aryo Putra

Pembimbing : 1. Def Primal, M.Biomed, PAK, 2. Nova Mustika , M.Pd

Abstrak

Penelitian ini membandingkan kualitas pewarnaan *Papanicolaou* pada sediaan apusan sitologi sputum pasien Tuberkulosis (TB) yang dibuat langsung dengan sediaan yang ditunda selama 6 jam. Latar belakang penelitian ini adalah tingginya kasus TB di Indonesia serta kendala geografis yang sering menyebabkan penundaan pemrosesan sampel di laboratorium. Kerangka teori mencakup patofisiologi TB, teknik isolasi sputum, dan prinsip pewarnaan polikromatik *Papanicolaou* untuk visualisasi morfologi sel. Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental dengan *purposive sampling* terhadap 10 pasien. Data diperoleh melalui observasi mikroskopis terhadap kualitas pewarnaan inti (*Harris Hematoxylin*) dan sitoplasma (*Orange G/Eosin Azure*), serta kebersihan latar belakang sediaan. Hasil uji *Mann-Whitney U* menunjukkan perbedaan signifikan ($p\text{-value } 0.000 < 0,05$) di antara kedua kelompok. Sediaan langsung memiliki kualitas unggul (90% berkategori "Baik"), sementara sediaan yang ditunda 6 jam mengalami penurunan kualitas drastis (100% berkategori "Buruk") akibat autolisis sel dan degradasi protein. Kesimpulannya, pembuatan sediaan segera dalam 30 menit sangat krusial untuk menjaga akurasi diagnostik sitologi sputum TB.

Pewarnaan *Papanicolaou*, Sitologi Sputum, Tuberkulosis, Penundaan Pembuatan.

Skirpsi ini telah dipertahankan di depan sidang penguji dan dinyatakan Lulus pada 28 Maret 2026, Abstrak telah disetujui oleh penguji

Tanda Tangan	1 	2 	3 
Nama Terang	Def Primal, M.Biomed, PAK	Nova Mustika , M.Pd	dr. Tofrizal, Sp.PA, M.Biomed., Subsp, K.A. (K), PhD

Mengetahui

Ketua Program Studi : Endang Suriani, SKM., M.Kes

	No University Alumni	Aryo Putra	No Alumni
	a). Place/Date : Watumeeto/11 Juni 2001; b). Parents' names : (Father) Alm. Agus Rohi (Mother) Nursia; c). Study Program : D.IV Analis Kesehatan/ATLM; d). Faculty : Ilmu Kesehatan; e). No NIM : 2410263672; f). Grad. Date : 28 Maret 2026 ; g). Grad. Honors : Very Satisfactory; h). IPK : 3,98; i). Study Duration : 1 Tahun; j). Address : Jln. Poros Lainea-Kendari, Desa Watumeeto, Kec. Lainea, Kab.Konawe Selatan, Provinsi Sulawesi Tenggara.		

A COMPARISON OF PAPANICOLAOU STAINING QUALITY IN TB SPUTUM CYTOLOGY SMEARS PREPARED IMMEDIATELY AND THOSE WITH DELAYED PREPARATION TIME

THESIS

Oleh : Aryo Putra

Pembimbing : 1. Def Primal, M.Biomed, PAK, 2. Nova Mustika , M.Pd

Abstract

This study compares the quality of Papanicolaou staining in Tuberculosis (TB) sputum cytology smears prepared immediately versus those delayed for 6 hours. The research is driven by Indonesia's high TB burden and geographical challenges that often cause processing delays in Pathology Anatomy laboratories. The theoretical framework integrates TB pathophysiology, sputum isolation techniques, and the principles of Papanicolaou polychromatic staining for cellular morphology visualization. This experimental study utilized purposive sampling of 10 TB patients. Data were collected through microscopic observation of nuclear (Harris Hematoxylin) and cytoplasmic (Orange G/Eosin Azure) staining quality, background cleanliness, and staining uniformity. The Mann-Whitney U test results showed a significant difference (p -value $0.000 < 0.05$) between the two groups. Immediate smears demonstrated superior quality (90% "Good" rating), while 6-hour delayed smears showed a drastic decline (100% "Poor" rating) due to cellular autolysis and protein degradation. In conclusion, immediate preparation within 30 minutes is crucial to maintain diagnostic accuracy and prevent artifacts in TB sputum cytology.

Papanicolaou Staining, Sputum Cytology, Tuberculosis, Preparation Delay.

This thesis has been defended before the examination board and was declared Passed on March 28, 2026. The abstract has been approved by the examiners.

Signature	1 	2 	3 
Full Name	Def Primal, M.Biomed, PAK	Nova Mustika , M.Pd	dr. Tofrizal, Sp.PA, M.Biomed., Subsp, K.A. (K), PhD

Acknowledged by

Head of Department : Endang Suriani, SKM., M.Kes

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tuberkulosis atau disingkat TBC adalah penyakit menular yang disebabkan oleh infeksi kompleks dengan *Mycobacterium tuberculosis*. Gejala utama penyakit ini adalah batuk berdahak lebih dari 2 minggu dan disertai gejala tambahan seperti batuk berdarah, sesak napas, badan lemas, nafsu makan menurun, berat badan turun tanpa sebab, *malaise*, keringat malam tanpa disertai aktivitas fisik kecil, Demam tinggi berlangsung lebih dari 1 bulan, atau nyeri dada. *Tuberkulosis* terutama menyerang parenkim paru (TB paru), tetapi bakteri ini memiliki kemampuan untuk menginfeksi organ lain (TB ekstra paru) (Handayani, 2024)

Menurut laporan *tuberkulosis* global tahun 2023, secara geografis kasus *tuberkulosis* terbanyak berada di kawasan Asia Tenggara (45%), Afrika (24%), Pasifik Barat (17%), dan Mediterania Timur (8,6%), Amerika (3,2%) dan Eropa (2,1%). Hingga 56% kasus *tuberkulosis* di dunia terdapat di 5 negara yaitu India (26%), Indonesia (10%), China (6,8%), Filipina (6,8%) dan Amerika Serikat (10%), Pakistan (6,3%) dan Nigeria (4,6%), Bangladesh (3,5%) dan Republik Demokratik Kongo (3,1%). Berdasarkan data tersebut, Indonesia menempati posisi kedua di dunia dengan jumlah kasus *tuberkulosis* tertinggi (Handayani, 2024).

Metode diagnosis *tuberkulosis* beragam seperti kultur, pemeriksaan basil tahan asam (BTA), uji molekuler, dan pemeriksaan secara mikroskopis baik histopatologi mau pun sitologi. Pemeriksaan secara mikroskopis biasanya sering digunakan karena memiliki sensitivitas 90% dan spesifisitas 96%. Pemeriksaan ini

juga lebih cepat dan ekonomis dibandingkan kultur sebagai *gold standard* diagnosis TB (Olivia dkk, 2022).

Sediaan sitologi bisa dibuat dari berbagai bagian tubuh, seperti urin, dahak, vagina, dan sinus; goresan (kerokan) dapat diambil dari mukosa mulut, lambung, atau saluran pernapasan; selain itu, bisa berasal dari cairan tubuh yang berkumpul (pleura, peritoneum, perikardium) atau dari aspirasi massa yang tampak atau teraba. Ketepatan pemeriksaan sitologi sangat bergantung pada mutu sediaan, termasuk proses persiapan, pewarnaan, dan interpretasinya. Kelemahan pada salah satu tahap tersebut akan menurunkan kualitas sediaan sitologi. Interpretasi yang benar terhadap spesimen sitologi ditentukan oleh beberapa faktor, yaitu cara pengumpulan spesimen, fiksasi dan jenis fiksatif, teknik pembuatan sediaan, serta pewarnaan dan penutupan sediaan (Desthalia, 2023).

Dalam pewarnaan Papanicolaou, sediaan apus difiksasi menggunakan alkohol 96%. Tujuan fiksasi adalah mencegah denaturasi dan terbentuknya ikatan silang protein, menghambat sitolisis, serta menjaga kekuatan spesimen selama proses preparasi. Dengan demikian morfologi seluler dan susunan intraseluler tetap terpelihara mendekati kondisi saat sel masih hidup. Pengeringan dapat menimbulkan artefak, oleh karena itu apusan harus segera difiksasi agar kualitas sediaan terjaga (Dani dkk., 2022).

Pewarna yang digunakan dalam pewarnaan *Papanicolaou* ada 3 macam. Pertama, pewarna *Haematoxylin Harris* yang berguna untuk pewarnaan inti. Kedua, pewarna *Orange G* yang berguna untuk pewarnaan sitoplasma, yang

biasanya terwarnai pada sitoplasma yang memiliki komponen keratin. Ketiga, pewarna *Eosin Azure* yang merupakan pewarna polikrom (S. Hardian, dkk, 2023).

Pewarnaan Papanicolaou memiliki keunggulan yaitu mampu mewarnai inti sel dengan jelas sehingga memudahkan pemeriksaan adanya tanda keganasan. Warna sitoplasmanya yang cerah juga memungkinkan pengamatan sel-sel yang saling menumpuk di lapisan bawah (Dani dkk, 2022).

Penelitian oleh Dani dkk. (2022) meneliti perbedaan hasil fiksasi menggunakan alkohol 96% selama 15 menit dan 30 menit pada pewarnaan Papanicolaou untuk pemeriksaan pap smear. Hasilnya menunjukkan adanya perbedaan antara kedua durasi fiksasi. Untuk fiksasi 15 menit, rata-rata 62,5% preparat menunjukkan inti sel tampak jelas, 37,5% inti sel tampak kurang jelas, 12,5% sitoplasma tampak cerah, dan 87,5% sitoplasma tampak kurang cerah. Sedangkan pada fiksasi 30 menit, rata-rata 100% preparat memperlihatkan inti sel yang jelas; untuk sitoplasma, 87,5% tampak cerah dan 12,5% tampak kurang cerah. Hasil ini mengindikasikan bahwa fiksasi alkohol 96% selama 30 menit memberikan kualitas pewarnaan Papanicolaou yang lebih baik dibandingkan fiksasi selama 15 menit.

Berdasarkan uraian di atas, belum ada penelitian tentang Perbandingan Kualitas pewarnaan *Papanicolaou* Apusan Sitologi Sputum TB yang Dibuat Langsung dengan yang sudah Mengalami Penundaan Waktu Pembuatan. Selain itu, berdasarkan kondisi peneliti terdapat beberapa penundaan disebabkan tempat kerja peneliti tidak ada pemeriksaan sitologi, akses lokasi yang jauh dengan instalasi laboratorium patologi anatomi dan juga untuk melihat perubahan karakteristik dari

sediaan sitologi sehingga peneliti melakukan penundaan pembuatan preparat selama 6 jam. Adapun yang melatar belakangi peneliti menggunakan sampel sputum pada Pasien TB dalam penelitian ini karena sampel yang mudah didapatkan, Hal tersebut yang mendorong peneliti untuk melakukan dan mengetahui perbandingan kualitas hasil pewarnaan *Papanicolaou* apusan sitologi sputum TB yang dibuat langsung dengan yang sudah mengalami penundaan waktu pembuatan.

1.2 Perumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini tentang Apakah ada perbedaan kualitas hasil pewarnaan Papanicolaou pada apusan sputum TB yang langsung dibuat dengan yang ditunda pembuatannya selama 6 jam ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui perbandingan kualitas pewarnaan Papanicolaou pada sediaan apusan sitologi sputum TB yang dibuat langsung dengan yang ditunda pembuatannya selama 6 jam.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Mengidentifikasi kualitas hasil pewarnaan Papanicolaou pada sediaan apusan sitologi sputum TB yang dibuat langsung
- b. Mengidentifikasi kualitas hasil pewarnaan papanicolaou pada sediaan apusan sitologi sputum TB yang ditunda pembuatannya selama kurang lebih 6 jam
- c. Menganalisis pengaruh durasi penundaan pembuatan selama 6 jam terhadap penurunan kualitas hasil pewarnaan Papanicolaou

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Dapat mengembangkan keilmuan dan keterampilan penulis dalam bidang sitologi serta peningkatan kompetensi teknis laboratorium dalam pembuatan sediaan apusan sitologi sputum TB untuk pewarnaan Papanicolaou.

1.4.2 Bagi Institusi Pendidikan

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam meningkatkan reputasi akademik institusi di mata masyarakat atau di lembaga lain, dapat dijadikan bahan studi kasus dalam mata kuliah sitologi dan dapat menjadi sumber referensi yang kredibel bagi mahasiswa lain dalam melakukan penelitian sejenis serta dapat mendorong budaya riset yang berkelanjutan di lingkungan institusi.

BAB V

PEMBAHASAN

5.1 Pembahasan

5.1.1 Karakteristik Responden Berdasarkan Jenis Kelamin dan Usia

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan di Instalasi Laboratorium RSUD Kota Kendari Provinsi Sulawesi Tenggara terhadap pasien TBC sebanyak 10 responden. Pada tabel 4.1 meunjukkan bahwa responden penelitian didominasi oleh laki-laki, yaitu sebanyak 9 orang (90%), sementara responden perempuan hanya berjumlah 1 orang (10%) dari total responden 10 orang (100%). Dilihat dari distribusi usia, responden paling banyak berada pada kelompok usia 23 – 33 tahun dengan jumlah 5 orang (50%). Selanjutnya, kelompok usia 34 – 43 tahun berjumlah 3 orang (30%), dan kelompok usia 44 – 53 tahun merupakan kelompok terkecil dengan jumlah 2 orang (20%). Hasil ini sejalan dengan penelitian (Ayu dkk 2022) dimana data menunjukkan bahwa pemeriksaan BTA dengan hasil positif pada pasien dengan diagnosis klinis tuberkulosis paru berdasarkan umur, ditemukan pada kelompok umur remaja (17%) dan dewasa (83%) yang didominasi oleh pasien laki-laki (61%) sedangkan pasien perempuan hanya 39%.

Kasus TB paru cenderung terjadi pada laki-laki, kondisi ini dapat diakibatkan oleh perilaku merokok yang kebanyakan dimiliki oleh laki-laki, yang jika berlangsung dalam waktu lama serta intens maka kebiasaan ini dapat berakibat pada penurunan sistem kekebalan tubuh, gangguan aliran darah dan produksi saliva oleh kelenjar ludah, kondisi inilah yang meningkatkan resiko infeksi bakteri TB paru (Ayu dkk, 2022).

5.1.2 Kualitas Sediaan yang Dibuat Langsung

Sediaan apusan sitologi sputum TB yang dibuat langsung menunjukkan kualitas pewarnaan secara keseluruhan yang lebih baik, dengan 90% (9 dari 10 sediaan) mencapai kategori baik pada pewarnaan inti sel, sitoplasma, dan hasil akhir pewarnaan. Latar belakang sediaan mencapai 100% baik, sementara kerataan pewarnaan 80% baik dimana preparat apusannya difiksasi langsung ke alkohol 96% tanpa menunggu kering dan saat diamati di bawah mikroskop nampak jelas sel epitel skuamosa superfisial dan sel inflamasi neutrofil (leukosit polimorfonuklear). Hasil ini selaras dengan penelitian (Dani dkk, 2022) dimana data menunjukkan bahwa terdapat perbedaan hasil fiksasi alkohol 96% selama 15 menit dan 30 menit pada pewarnaan papanicolaou dan didapatkan nilai rata-rata fiksasi alkohol 96% selama 15 menit pada pewarnaan papanicolaou yaitu 62,5% inti sel terlihat jelas, 37,5% inti sel terlihat kurang jelas dan 12,5% sitoplasma terlihat cerah, 87,6% sitoplasma terlihat kurang cerah. Dan nilai rata-rata fiksasi alkohol 96% selama 30 menit pada pewarnaan papanicolaou yaitu 100% inti sel terlihat jelas dan 87,7% sitoplasma terlihat cerah, 12,5% sitoplasma terlihat kurang cerah. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan terdapat perbedaan.

Penundaan minimal (kurang dari 30 menit) memungkinkan preservasi morfologi sel epitel respiratori dan mukus sputum, di mana Haematoxylin Harris mewarnai inti sel secara jelas, Orange G menonjolkan keratin pada sitoplasma, serta latar belakang tetap bersih tanpa artefak yang signifikan. Hal ini mendukung tinjauan pustaka bahwa fiksasi segera menghambat autolisis dan mempertahankan struktur intraseluler dan menjaga sel dari kerusakan atau kehilangan komponen sel

layaknya ketika sel masih dalam kondisi hidup serta menghentikan pertumbuhan selular dan mikroorganisme juga meningkatkan diferensiasi optik dan meningkatkan pewarnaan struktur serta komponen sel (Nurhilalayah dkk, 2024). Selain itu, karena prinsip fiksasi basah menggunakan alkohol 96% yang dilakukan segera setelah pengambilan sampel, sehingga mencegah pengeringan dan degenerasi sel yang dapat menimbulkan artefak (Dani dkk, 2022).

5.1.3 Kualitas Sediaan yang Mengalami Penundaan 6 Jam

Pada kelompok penundaan 6 jam, kualitas pewarnaan menurun secara signifikan, dengan hanya 60% baik pada pewarnaan inti sel, 50% pada sitoplasma dan hasil akhir, serta 0% baik pada latar belakang dan kerataan pewarnaan. Sampel disimpan ke dalam cool box menggunakan ice pack selama 6 jam sebelum dilakukan fiksasi dan pewarnaan papanicoalou. Sebanyak 100% sediaan menunjukkan artefak pada latar belakang dan kerataan pewarnaanya tidak merata, yang mengindikasikan degradasi sampel akibat paparan waktu lama dalam proses penyimpanan sebelum fiksasi. Hasil ini sesuai dengan penelitian (Wahyuni, 2023) dimana data menunjukkan jaringan dengan penundaan fiksasi menggunakan Buffer Netral Formalin 10% selama 4 jam dikategorikan tidak baik, karena intensitas warna inti sel dan sitoplasma kurang jelas, sebagian besar sel mengkerut dan sebagian besar sel lisis.

Hal ini disebabkan oleh proses autolisis alami pada sputum, di mana enzim lisis dan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* memicu perubahan pH dan denaturasi protein, menghasilkan turbiditas latar dan pewarnaan sitoplasma kurang cerah. Temuan ini konsisten dengan studi Dani dkk (2022) yang menunjukkan bahwa

penundaan fiksasi mengurangi kejernihan inti sel dibandingkan fiksasi optimal, serta faktor waktu penyimpanan maupun fiksasi yang mengakibatkan terbentuknya artefak.

5.1.4 Perbandingan dan Signifikansi Statistik

Uji Mann-Whitney U menghasilkan p-value 0,000 ($<0,05$), menolak hipotesis nol (H_0) dan menerima hipotesis alternatif (H_a), sehingga terdapat perbedaan signifikan antara kedua kelompok. Kelompok langsung rata-rata skor 9-10 (baik), sementara kelompok penundaan selama 6 jam dengan rata-rata skor 5-7 (tidak baik), sesuai kriteria Tabel 2.5.2. Perbedaan ini paling mencolok pada latar belakang (100% vs 0% baik) dan kerataan (80% vs 0% baik), yang krusial untuk deteksi sel abnormal pada sitologi sputum TB. Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian dari (Dani dkk, 2022) dimana diketahui hasil uji wilcoxon diketahui bahwa nilai signifikan adalah $p = 0,024$. Nilai yang didapatkan adalah $p \leq 0,05$. sehingga disimpulkan bahwa terdapat perbedaan hasil fiksasi alkohol 96% selama 15 menit dan 30 menit dimana perbedaan rata-rata inti sel (62,5% vs 100% baik), dan sitoplasma (12,5% vs 87,5% baik).

Faktor utama adalah durasi pembuatan yang memengaruhi permeabilitas membran sel dan diferensiasi pewarna (OG-6 dan EA-50), sebagaimana diuraikan pada bagian 2.5.3. Penelitian ini mengonfirmasi bahwa pembuatan sediaan langsung dianjurkan untuk sputum TB guna menjaga sensitivitas diagnostik $>90\%$, menghindari *false-negative* akibat artefak, terutama di fasilitas terpencil seperti BLUD UPTD Puskesmas Benua.