

## PENGARUH SUHU DAN WAKTU PENYIMPANAN TERHADAP KUALITAS PEWARNAAN SEDIAAN BASIL TAHAN ASAM (BTA)

*The Effect of Temperature and Storage Time on The Staining Quality of Acid-Fast Bacillus (AFB) Smear*

Irawati <sup>1\*</sup>, Asep Dermawan <sup>2</sup>, Mamat Rahmat <sup>3</sup>, Iis Kurniati <sup>4</sup>

<sup>1234</sup> Program Studi Sarjana Terapan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Kesehatan Kemenkes Bandung  
Email: [irawati16986@gmail.com](mailto:irawati16986@gmail.com)

### ABSTRACT

Diagnosis of a patient with indications of Tuberculosis (TB) can be made through laboratory examination with microscopic examination, where examination of sputum preparations for TB must be carried out by a laboratory that is part of a network of TB laboratory services. TB diagnosis relies on microscopy of sputum preparations, so maintenance of quality microscopy is essential to ensure reliable and accurate microscopy services from the National TB Eradication Program. The purpose of this study was to analyze the staining quality of Acid-Fast Bacilli (AFB) preparations stored at room temperature using an air conditioner (AC) and room temperature without using an air conditioner for 0, 2, 4, 6, and 8 weeks. The type of research used is quasi-experimental. The research was conducted at Laboratorium Kesehatan Daerah (Labkesda) Kabupaten Bandung Barat with a total sample of 5 in each group. The results of this study were that the average quality of coloring preparations at room temperature using AC (Air Conditioner) with a storage time of 0, 2, 4, 6 and 8 weeks was 3 with a p-value (Sig. Shapiro-Wilk) < 0,05. The average staining quality at room temperature without using air conditioning with storage times of 0, 2, 4, 6 and 8 weeks was 2.94 with a p-value (Sig. Shapiro-Wilk) <0.05. The interaction of all variables > 0.05 (Significance Level), so there is no significant difference between variables so that there is no effect between temperature and storage time on the quality of staining of AFB preparations.

**Key words:** temperature, storage time, Acid-Fast Bacillus (AFB)

### ABSTRAK

Diagnosis penderita yang terindikasi Tuberkulosis (TB) dapat dilakukan melalui pemeriksaan laboratorium dengan pemeriksaan mikroskopis, dimana pemeriksaan sediaan sputum untuk TB harus dilaksanakan oleh laboratorium yang terjaln dalam suatu jejaring pelayanan laboratorium TB. Diagnosis TB bergantung pada mikroskopis sediaan dahak, maka pemeliharaan atas mutu mikroskopi sangat penting untuk memastikan layanan mikroskopi dari Program Pemberantasan TB Nasional yang bisa diandalkan dan akurat. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis kualitas pewarnaan terhadap sediaan Basil Tahan Asam (BTA) yang disimpan pada suhu ruangan yang menggunakan *Air Conditioner* (AC) dan suhu ruangan yang tidak menggunakan AC selama 0, 2, 4, 6, dan 8 minggu. Jenis penelitian yang digunakan adalah kuasi eksperimen. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kesehatan Daerah (Labkesda) Kabupaten Bandung Barat dengan jumlah sampel sebanyak 5 sampel pada tiap kelompok. Hasil dari penelitian ini adalah rata-rata kualitas pewarnaan sediaan pada suhu ruangan yang menggunakan AC (*Air Conditioner*) dengan waktu penyimpanan 0, 2, 4, 6 dan 8 minggu adalah 3 dengan nilai p-value ( Sig. Shapiro-Wilk ) < 0,05. Rata-rata kualitas pewarnaan sediaan pada suhu ruangan yang tidak menggunakan AC dengan waktu penyimpanan 0, 2, 4, 6 dan 8 minggu adalah 2,94

dengan nilai p-value ( Sig. Shapiro-Wilk ) < 0,05. Interaksi seluruh variabel > 0,05 ( Taraf Signifikansi ) maka tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar variabel sehingga tidak ada pengaruh antara suhu dan lama penyimpanan terhadap kualitas pewarnaan sediaan BTA.

**Kata kunci:** suhu, waktu penyimpanan, Basil Tahan Asam (BTA)

## PENDAHULUAN

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit menular langsung yang disebabkan oleh bakteri berbentuk basil yang dikenal dengan nama *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) dan menyerang berbagai organ atau jaringan tubuh. Penyakit TB menjadi masalah kesehatan masyarakat yang penting di dunia karena menyebabkan kematian terbesar, dengan angka kematian sebanyak 8000 orang setiap hari dan 2-3 juta orang setiap tahunnya. Pada tahun 1993 WHO mencanangkan TB sebagai *Global Emergency*.<sup>25</sup>

Diagnosis penderita yang terindikasi Tuberkulosis (TB) dapat dilakukan melalui pemeriksaan laboratorium dengan pemeriksaan mikroskopis, dimana pemeriksaan sediaan sputum untuk TB harus dilaksanakan oleh laboratorium yang terjalani dalam suatu jejaring pelayanan laboratorium TB. Karena diagnosa TB bergantung pada mikroskopis sediaan dahak, maka pemeliharaan atas mutu mikroskopi sangat penting untuk memastikan layanan mikroskopi dari Program Pemberantasan TB Nasional yang bisa diandalkan dan akurat. Untuk menghindari kesalahan baca oleh petugas mikroskopis, maka seorang petugas mikroskopis lainnya harus menilai pembacaan petugas mikroskopis yang pertama. Layanan ini disebut sebagai Penjaminan Mutu Eksternal.<sup>5</sup>

Menurut Fihiruddin dan Inayati (2015) waktu penyimpanan sediaan sputum dengan pewarnaan *Ziehl Neelsen* (ZN) yang baik adalah kurang dari 1 bulan. Penyimpanan sediaan sputum yang dilakukan selama 3 bulan dengan konsentrasi *Carbol Fuchsin*

yang berbeda-beda menunjukkan bahwa BTA tertinggi terlihat pada awal penyimpanan dan semakin berkurang pada akhir penyimpanan yaitu sampai 3 bulan.<sup>6</sup>

Menurut Kethmany (2016) setelah penyimpanan berbulan-bulan dalam suasana tidak ber-AC, warna merah akibat *Carbol Fuchsin* sudah hampir hilang. ZN memudar dengan cepat terutama di iklim panas. Secara eksperimental, dengan kelembaban mendekati 100%, BTA menjadi tidak terlihat setelah 2 hingga 3 minggu pada suhu 40 derajat celsius dan 3 sampai 4 minggu pada suhu 35 derajat celsius.<sup>19</sup> Berdasarkan penelitian Dian (2021) terdapat perbedaan terhadap hitung jumlah BTA pada preparat yang disimpan pada suhu lemari pendingin dan preparat yang disimpan pada suhu ruang. Ada pengaruh suhu dan lama penyimpanan preparat terhadap hitung jumlah BTA.

Berdasarkan uraian tersebut, untuk mengurangi error rate yang tinggi pada laboratorium pemeriksa, maka perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh suhu dan waktu penyimpanan terhadap kualitas pewarnaan sediaan basil tahan asam (BTA), dimana penyimpanan dilakukan pada suhu ruangan yang menggunakan *Air Conditioner* (AC) dan ruangan yang tidak menggunakan *Air Conditioner* (AC) selama 0, 2, 4, 6 dan 8 minggu. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan gambaran perbedaan kualitas pewarnaan sediaan BTA yang disimpan pada ruangan yang menggunakan AC dan ruangan yang tidak menggunakan AC sehingga penelitian ini dapat bermanfaat bagi fasyankes yang melakukan pemeriksaan sediaan BTA untuk

pemeriksaan uji silang sehingga dapat meningkatkan mutu layanan fasyankes.

## **METODE**

Penelitian ini merupakan penelitian kuasi eksperimen, yang dilakukan pada bulan Maret sampai April 2023. Pada penelitian ini sediaan Basil Tahan Asam (BTA) positif satu (1+) yang diwarnai dengan pewarnaan Ziehl Neelsen disimpan pada ruangan yang menggunakan AC dan ruangan yang tidak menggunakan AC sedangkan pembacaan hasil sediaan tersebut dibedakan menjadi sediaan yang disimpan selama 0, 2, 4, 6 dan 8 minggu.

Sampel dari penelitian ini adalah sediaan BTA positif satu (1+) dengan pewarnaan Ziehl Neelsen. Bahan dan alat yang digunakan pada penelitian ini adalah pewarna Ziehl Neelsen yang terdiri dari Carbol Fuchsin 1%, asam alkohol 3%, methylene blue 0,1%, obyek glass, lidi, disinfektan, pot sputum, lampu spiritus, AC dan mikroskop.

Sampel sputum dibuat sediaan dengan menggunakan lidi dan difiksasi. Sediaan tersebut selanjutnya ditetesi dengan carbol fuchsin kemudian dipanaskan diatas nyala api spiritus sampai menguap tetapi zat warna tidak boleh mendidih atau kering dan didiamkan selama 10 menit, kemudian dicuci dengan air kran. Selanjutnya sediaan ditetesi dengan asam alkohol sampai warna merah hilang dan dibilas dengan air mengalir. Selanjutnya sediaan ditetesi dengan methylene blue 0,1% selama 1 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Sediaan hapusan sputum yang sudah

kering diperiksa menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 1000x dan ditambahkan minyak imersi. Pembacaan sediaan berdasarkan menggunakan skala *International Union Against Tuberculosis Lung Diseases* (IUTLD), dengan cara dilakukan pemeriksaan BTA bentuk batang dan berwarna merah sebanyak 100 lapang pandang mikroskop. Selanjutnya sediaan hapusan sputum yang sudah diperiksa disimpan pada ruangan yang menggunakan AC dan ruangan yang tidak menggunakan AC selama 2, 4, 6, dan 8 minggu, dimana pada masing-masing waktu penyimpanan sediaan hapusan sputum 1+ tersebut juga diperiksa secara mikroskopis untuk melihat kualitas pewarnaan BTA. Data yang didapatkan selama penelitian dianalisis secara statistik menggunakan analisis statistik non-parametrik dan dilanjutkan dengan uji Kruskal Wallis.

Penelitian ini sudah dilakukan kaji etik ke Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Direktorat Poltekkes Bandung dengan nomor 45/KPEK/EC/III/2023.

## **HASIL**

Dari hasil pemeriksaan sediaan hapusan sputum 1+ secara mikroskopis berdasarkan masing-masing penyimpanan pada suhu ruangan yang menggunakan AC dan ruangan yang tidak menggunakan AC sehingga dan waktu penyimpanan sediaan hapusan sputum 1+, yang dikelompokkan menjadi penyimpanan selama 0, 2, 4, 6 dan 8 minggu dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1. Uji Normalitas**

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Suhu	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Nol_Minggu	AC	.	15	.	.	15	.
	Tanpa AC	.	15	.	.	15	.
Dua_Minggu	AC	.	15	.	.	15	.
	Tanpa AC	.	15	.	.	15	.
Empat_Minggu	AC	.	15	.	.	15	.
	Tanpa AC	.	15	.	.	15	.
Enam_Minggu	AC	.	15	.	.	15	.
	Tanpa AC	.514	15	.000	.413	15	.000
Delapan_Minggu	AC	.	15	.	.	15	.
	Tanpa AC	.514	15	.000	.413	15	.000

a. Lilliefors Significance Correction

Berdasarkan hasil pengolahan data dengan menggunakan Aplikasi SPSS didapatkan nilai p-value ( Sig. Shapiro-Wilk ) dari seluruh variabel < 0,05 karena nilai p-value < 0,05 maka seluruh variabel penelitian berdistribusi tidak normal sehingga analisis statistik

berikutnya memakai metode analisis statistik non-parametrik.

**Tabel 2. Uji Statistik Kruskal Wallis**

Test Statistics <sup>a,b</sup>					
	Nol_Minggu	Dua_Minggu	Empat_Minggu	Enam_Minggu	Delapan_Minggu
Kruskal-Wallis H	.000	.000	.000	2.071	2.071
df	1	1	1	1	1
Asymp. Sig.	1.000	1.000	1.000	.150	.150

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Suhu

Berdasarkan hasil pengolahan data dengan menggunakan Aplikasi SPSS didapatkan p-value (Asymp.Sig) seluruh variabel > 0,05 ( Taraf Signifikansi ) maka tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar variabel sehingga tidak ada pengaruh antara suhu dan lama penyimpanan terhadap kualitas pewarnaan sediaan BTA.

## PEMBAHASAN

Pada tabel 4.1 rata- rata kualitas pewarnaan sediaan pada suhu ruangan yang menggunakan AC (*Air Conditioner*) dengan waktu penyimpanan 0, 2, 4, 6 dan 8 minggu adalah 3. Rata- rata kualitas pewarnaan sediaan pada suhu ruangan yang tidak menggunakan AC dengan waktu penyimpanan 0, 2, 4, 6 dan 8 minggu adalah 2,94.

Berdasarkan hasil analisis uji Kruskal Wallis didapatkan p-value (Asymp.Sig) seluruh variabel > 0,05 ( Taraf Signifikansi ) maka tidak terdapat

perbedaan yang signifikan antar variabel sehingga tidak ada pengaruh antara suhu dan lama penyimpanan terhadap kualitas pewarnaan sediaan BTA.

Untuk mendapatkan hasil pemeriksaan yang tepat dan teliti, maka diperlukan pengawasan pada tahap praanalitik, analitik, dan pasca analitik. Pada tahap praanalitik dimulai dengan persiapan pasien, pengambilan dan penanganan spesimen dahak, memberi identitas pada spesimen sampai dengan melakukan uji kualitas reagen. Pada tahap analitik dimulai dengan penyusunan prosedur tetap, mengolah dan memeriksa spesimen dahak sesuai dengan prosedur tetap, dan pemeliharaan mikroskop. Penilaian pembuatan sediaan dengan memperhatikan 6 unsur menggunakan skala sarang laba- laba yang meliputi kualitas spesimen, pewarnaan, kebersihan, ukuran, ketebalan dan kerataan sediaan. Pada tahap pasca analitik mulai dari mencatat hasil pemeriksaan, interpretasi hasil sampai dengan pelaporan (Latifah, Permana, Lukman, 2016).

Pemantapan mutu Internal (PMI) adalah kegiatan pencegahan dan pengawasan yang dilaksanakan oleh setiap laboratorium secara terus menerus agar diperoleh hasil pemeriksaan hasil pemeriksaan yang tepat. Kegiatan ini mencakup tiga proses, yaitu pra analitik, analitik dan pasca analitik. Kegiatan pemantapan mutu internal antara lain: persiapan penderita, pengambilan dan penanganan sampel, kalibrasi peralatan, uji kualitas reagen, uji ketelitian dan ketepatan, pencatatan dan pelaporan hasil (Jumayanti, 2016).

Untuk uji ketepatan dan ketelitian mutu pemeriksaan, maka sediaan apusan sputum tersebut harus diperiksa ulang oleh Laboratorium Rujukan Intermediet (LRI). Penurunan intensitas warna atau hilangnya warna merah hasil pewarnaan ZN pada sediaan hapusan

sputum dapat disebabkan karena lamanya waktu pengiriman sediaan sputum ke laboratorium LRI untuk dilakukan pemeriksaan uji silang sehingga sesuai dengan program pemerintah dalam penanggulangan TB paru yang menetapkan bahwa kesalahan pemeriksaan laboratorium tidak boleh lebih dari 5% (Fihiruddin dan Inayati, 2015).

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan mengenai pengaruh suhu dan waktu penyimpanan terhadap kualitas pewarnaan sediaan BTA, dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar variabel sehingga tidak ada pengaruh antara suhu dan lama penyimpanan terhadap kualitas pewarnaan sediaan BTA.

Penyimpanan sediaan BTA yang disimpan pada ruangan yang menggunakan Air Conditioner (AC) sebaiknya dilakukan selama kurang dari 8 minggu. Sedangkan penyimpanan sediaan BTA pada ruangan yang tidak menggunakan AC sebaiknya dilakukan selama kurang dari 4 minggu.

## DAFTAR RUJUKAN

1. Achmadi, A., Mardiah, M. M., & Wahyu, S. 2021. *Penerapan Pemantapan Mutu Internal terhadap Kualitas Sediaan Pewarnaan Ziehl Nielsen untuk Deteksi Mycobacterium TB. Jurnal Ilmiah Kesehatan (JIKA)*, 3(3), 124-133.
2. Amelia, Reski, Sitti hadijah, and Muhammad Nasir. 2019. *Pengaruh Konsentrasi Asam Alkohol terhadap Hasil Pemeriksaan Basil Tahan Asam Metode Ziehl Neelsen*.
3. Aulia, Vamella. 2020. *Hubungan Penerapan Pemantapan Mutu Internal dengan Hasil Pemeriksaan Mikroskopis Basil Tahan Asam Metode*

- Ziehl-Neelsen pada Diagnostik Tuberkulosis Paru di Puskesmas Air Tawar.*
4. Budiharjo, T., and K. A. Purjanto. 2016. *Pengaruh Penanganan Sputum Terhadap Kualitas Sputum Penderita TBC Secara Mikroskopis Bakteri Tahan Asam. Jurnal Riset Kesehatan* 5(1):40–44.
  5. Depkes. 2009. *Penjaminan Mutu Eksternal untuk Mikroskopis AFB pada Level Operasional.*
  6. FIIHIRUDDIN, Fihiruddin; INAYATI, Nurul. 2018. *KONSENTRASI CARBOL FUCHSIN DAN WAKTU PENYIMPANAN SEDIAAN HAPUSAN SPUTUM +2 HASIL PEWARNAAN ZIEHL NEELSEN.* *Jurnal Kesehatan Prima*, [S.l.], v. 9, n. 2, p. 1478-1485, apr. 2018. ISSN 2460-8661.
  7. Fujiki, A. 2015. *Mikroskopis TB Untuk Program Tubekulosis Nasional.* Jepang.
  8. Siti Nur Azizah, Eneng. 2018. *Perbandingan Tingkat Kepositifan antara Pewarnaan Basil Tahan Asam Konvensional Metode Ziehl Neelsen dengan Penambahan Bleach 2& untuk Mendiagnosis Tuberkulosis pada Spesimen Sputum.* Jakarta.
  9. Girsang, Merryani. 1999. *Kesalahan-Kesalahan Dalam Pemeriksaan Sputum BTA.*
  10. Iskamto, B. 2009. *Bakteriologi Kesehatan.* UNS Pres. Surakarta.
  11. Kalma, and Adrika. 2019. *Perbandingan Hasil Pemeriksaan Basil Tahan Asam Antara Spesimen Dahak Langsung Diperiksa Dengan Ditunda 24 Jam. Jurnal Media Analis Kesehatan* 9(2):130–35. doi: 10.32382/mak.v9i2.682.
  12. Karuniawati, A, dkk. 2005. *Perbandingan Tan Thiam Hok, Ziehl Neelsen dan Fluorokom sebagai Metode Pewarnaan Basil Tahan Asam untuk Pemeriksaan Mikroskopis Sputum.* *Makara, Kesehatan*, vol. 9: 29-33.
  13. Kemenkes. 2012. *Standar Prosedur Operasional Pemeriksaan Mikroskopis TB.* Jakarta.
  14. Kemenkes. 2013. *Pedoman Jejaring dan Pemantapan Mutu Pemeriksaan Mikroskopis Tuberkulosis.* Jakarta.
  15. Kemenkes RI. 2013. *Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran Tata Laksana Tuberkulosis.* 1st ed. Jakarta.
  16. Kemenkes RI. 2016. *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 67 Tahun 2016 Tentang Penanggulangan Tuberkulosis.* Jakarta.
  17. Kemenkes RI. 2017. *Kebijakan Program Penanggulangan Tuberkulosis Indonesia. Modul Pencegahan Dan Pengendalian Penyakit 1–23.*
  18. Kemenkes RI. 2022. *Petunjuk Teknis Pemeriksaan Mikroskopis Tuberkulosis.* Jakarta.
  19. Kethmany, dkk. 2017. *Usefulness and Limits of Ziehl-Nelseen staining to detect paragonimiasis in highly endemic tuberculosis areas.* *Parasite Epidemiology and Control*, Volume 2, Issue 1, Pages 1-7, ISSN 2405-6731.
  20. Lio, Tiara Mayang Pratiwi, Wa Ode Yuliastri, and Angela Jayanti Fimilio. 2020. *Pengaruh Penyimpanan Sputum BTA Terhadap Pemeriksaan Mikroskopis Di Puskesmas Poasia Kota Kendari.* *Journal OMedialab Mandala Waluya Kendari* 4(2):156–66.
  21. Muin, Wa Ode Nur Alfiyani, Kalma, Artati, and Rafika. 2020. *Pengaruh Lama Penyimpanan Dahak Pagi Pada*

- Suhu Kamar Terhadap Jumlah Bakteri Tahan Asam (BTA). Jurnal Media Analis Kesehatan 11(2):104–11.*
22. Perhimpunan Dokter Paru Indonesia. 2021. *Pedoman Diagnosis dan Penatalaksanaan Tuberkulosis di Indonesia.*
  23. Romi, Yoga. 2020. *Penambahan Carbol Fuchsin Dan Pemanasan Sputum Sebelum Dan Sesudah Pembuatan Sediaan. Jurnal Riset Kesehatan Poltekkes Depkes Bandung 11(1):253–61.*
  24. Sumiati, Dede, and Kroya Ii. 2019. *Hasil Temuan Suspect BTA Sebelum Dan Sesudah Program Ketuk Pintu Oleh Kader Berdasarkan Kualitas Sampel Dahak BTA Suspect Findings Before and After Knocking on the Doors Program by Cadre Based on Quality of Sputum Samples TEGUH BUDI HARDJO Jurusan Analis K. 01(01):34–37.*
  25. WHO, Global tuberculosis report 2020.
  26. Z. Sidiq, dkk. 2016. *Random blinded rechecking of AFB smears in a pilot project at an intermediate reference laboratory. The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease.*