

PENGARUH PENDINGINAN PREPARAT BAKTERI TAHAN ASAM PADA INKUBATOR TERHADAP HASIL PEMERIKSAAN MIKROSKOPIK

*Nining Kurniati, *Shufiyani

Abstrak

Target utama pengendalian penyakit tuberculosis paru (TB) adalah menemukan pasien TB menular (BTA positif) dan menyembuhkan penyakitnya. Dengan memprioritaskan pada penemuan pasien TB dengan BTA positif, maka laboratorium merupakan kunci utama dalam mendiagnosis pasien TB. Pemeriksaan mikroskopik sediaan dahak merupakan salah satu cara yang paling efisien untuk mengidentifikasi penderita TB. Penderita dengan sediaan positif, sepuluh kali lebih infeksius dibandingkan dengan penderita dengan sediaan negatif. ⁽⁹⁾Berdasarkan hasil pemeriksaan data pemeriksaan makroskopik, mikroskopik dan kultur maka didapatkan hasil penelitian sebagai berikut, 1) Tidak ada pengaruh pada pendinginan pada suhu kamar dan suhu inkubator. 2) Gambaran hasil preparat BTA pada pendinginan suhu 20⁰ C (suhu kamar) dan suhu incubator (50⁰ C, 60⁰ C dan 70⁰ C), untuk sampel positif 1 didapatkan hasil 100% hasil pemeriksaan mikroskopik positif 1, dan sampel positif 3 didapatkan hasil 100 % pemeriksaan mikroskopik positif 3. 3) Gambaran stabilitas hasil preparat BTA pada pendinginan suhu 20⁰ C (suhu kamar) dan suhu incubator (50⁰ C, 60⁰ C dan 70⁰ C) selama 3 minggu 100% hasilnya sama menunjukkan preparat tersebut stabil.

Kata Kunci: BTA, Preparat, TB.

*Dosen Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Banten

Pendahuluan

Target utama pengendalian penyakit tuberculosis paru (TB) adalah menemukan pasien TB menular (BTA positif) dan menyembuhkan penyakitnya. Dengan memprioritaskan pada penemuan pasien TB dengan BTA positif, maka laboratorium merupakan kunci utama dalam mendiagnosis pasien TB. Hal ini ditegaskan pada komponen kedua strategi DOTS, yaitu penegakan diagnosis menggunakan pemeriksaan mikroskopik. Pemeriksaan mikroskopik BTA dari specimen sputum memegang peran penting dalam diagnosis awal dan pemantauan pengobatan Tuberculosis paru. Rangkaian kegiatan yang baik diperlukan untuk mendapatkan hasil yang akurat, mulai dari cara pengumpulan

sputum, pemilihan bahan sputum yang akan diperiksa, pembuatan sediaan apus sputum, teknik pewarnaan dan alat-alat atau bahan/reagen harus diperhatikan kualitasnya.⁽¹⁾

Terkadang setelah pewarnaan hasil pembacaan sediaan BTA positif akan berubah setelah penyimpanan lebih dari 3 bulan, BTA positif berubah menjadi negatif pada saat akan melakukan *cross-check*. Pemantapan mutu sediaan mikroskopik BTA untuk mendiagnosis tuberculosis mengandalkan mikroskopik sediaan dahak. Pemeliharaan atas mutu mikroskopik sangat penting untuk memastikan layanan pemeriksaan Program TB Nasional yang tepat dan terpercaya.⁽²⁾

Seiring dengan tingkat kesadaran masyarakat untuk memeriksakan diri pada tempat pelayanan kesehatan, termasuk Puskesmas, jumlah slide yang akan diperiksa oleh laboratorium puskesmas tentu akan semakin banyak dan memerlukan kesigapan petugas laboratorium. Namun salah satu proses dalam pemeriksaan dahak

secara mikroskopik, yaitu pengeringan slide pada suhu ruangan sesudah pewarnaan Ziehl Neelsen, memakan waktu yang cukup lama sehingga seorang Analis Kesehatan memerlukan waktu yang lama pula untuk memberikan informasi hasil pemeriksaan dahak kepada dokter.⁽³⁾

Oleh sebab itu akan dilakukan penelitian mengenai pengaruh pengeringan preparat BTA dengan menggunakan suhu incubator terhadap hasil pemeriksaan mikroskopik.

Metode Penelitian

Pemeriksaan Laboratorium

Tuberkulosis Paru

Pemeriksaan mikroskopik dahak :

Pemeriksaan mikroskopik sediaan dahak merupakan salah satu cara yang paling efisien untuk mengidentifikasi penderita TB. Penderita dengan sediaan positif, sepuluh kali lebih infeksius dibandingkan dengan penderita dengan sediaan negatif.⁽⁹⁾

Fungsi pemeriksaan mikroskopis dahak :

1. Menegakkan diagnosis TB

2. Menentukan tingkat penularan
3. Memantau kemajuan pengobatan
4. Menentukan terjadinya kegagalan pada akhir pengobatan

Pengumpulan dahak

Dibutuhkan 3 spesimen dahak untuk menegakkan diagnosis TB, untuk kenyamanan penderita, pengumpulan dahak dilakukan dengan prinsip sewaktu-pagi-sewaktu.

Sewaktu Hari Ke-1: Kumpulkan spesimen pertama pada saat penderita berkunjung ke klinik. Beri pot dahak pada saat penderita pulang untuk keperluan pengumpulan dahak pada pagi hari berikutnya.

Pagi Hari Ke-2: Penderita mengumpulkan dahak pada pagi hari kedua segera setelah bangun tidur (specimen kedua) dan bawa ke klinik.

Sewaktu Hari Ke-2: kumpulkan spesimen ketiga di klinik pada hari kedua dengan membawa dahak pagi.⁽⁹⁾

Cara mengumpulkan spesimen:

Jangan berdiri di depan penderita pada saat pengumpulan spesimen. Beri petunjuk penderita untuk: 1. Tarik nafas dalam-dalam 2 sampai 3 kali dan setiap kali hembuskan nafas dengan kuat. 2. Batukkan dengan keras dari dalam dada. 3. Letakkan pot yang sudah dibuka dekat dengan mulut dan keluarkan dahak ke dalam pot. 4. Tutup pot dengan ketat dengan cara memutar tutupnya.⁽⁹⁾

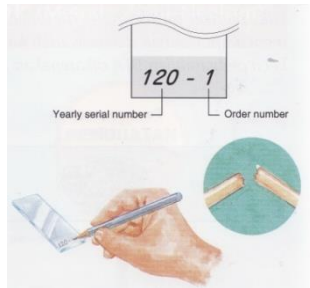
Kualitas spesimen yang baik adalah yang mukoid, purulen. Kualitas spesimen yang jelek adalah spesimen yang encer dan seperti air atau sebagian besar terdiri dari gelembung-gelembung.⁽⁹⁾

Cara Pembuatan Sediaan BTA dan Pewarnaan sediaan dahak (Ziehl Nelsen):

- a. Pemberian nomor sediaan

Pilih kaca sediaan yang baru, bersih, bebas-minyak, tanpa goresan dan bebas dari sidik jari. Pastikan nomor tiap sediaan sesuai dengan nomor pada wadah dahak. Tulis nomor

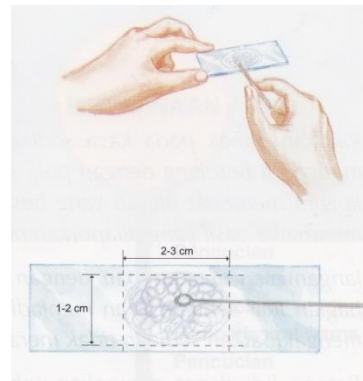
urutan tahun dan nomor spesimen dahak pada ujung kaca sediaan.



Gambar 2.3 Pemberian nomor sediaan⁽¹⁰⁾

a. Pembuatan sediaan dahak

Gunakan lidi/batang bambu yang dipatahkan untuk mengambil dahak, pilih dan ambil dahak yang purulen/kental kuning kehijauan. Ratakan dahak pada kaca sediaan, oleskan dengan pola melingkar kecil-kecil sampai sediaan berbentuk oval dengan ukuran lebar 1-2cm dan panjang 2-3cm. Sengkelit/ose dengan diameter 3 mm dapat juga digunakan untuk memindah dahak untuk membuat suatu olesan.



Gambar 2.4 Pembuatan sediaan dahak⁽¹⁰⁾

b. Pengeringan dan fiksasi sediaan dahak

Keringkan sediaan dahak pada suhu kamar. Jangan dikeringkan dibawah panas matahari atau di atas api, setelah sediaan benar-benar kering, pegang sediaan memakai pinset/penjepit dengan permukaan sediaan dahak menghadap ke atas. Lewatkan sediaan di atas api 2-3 kali, sekitar 2-3 detik. Jangan memanaskan sediaan terlalu lama atau mendiamkannya di atas api, karena sediaan akan hangus.



Gambar 2.5 Pengeringan dan fiksasi sediaan dahak⁽¹⁰⁾

c. Penyusunan sediaan dahak

Sediaan disusun menurut nomor seri pada rak pewarnaan dengan permukaan sediaan menghadap ke atas. Beri jarak yang cukup antar sediaan untuk mencegah pemindahan bahan dan cairan mengalir dari kaca sediaan satu ke lainnya.

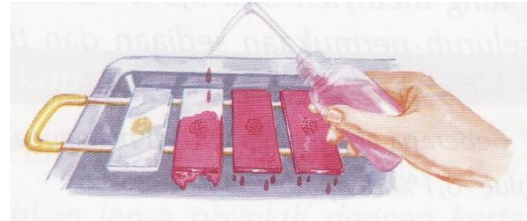


Gambar 2.6 Penyusunan sediaan di rak pewarnaan⁽¹⁰⁾

d. Pewarnaan dengan larutan karbol fuchsin

Genangi seluruh permukaan sediaan dengan larutan karbol fuchsin, jika cairan karbol fuchsin mengalir, tambahkan

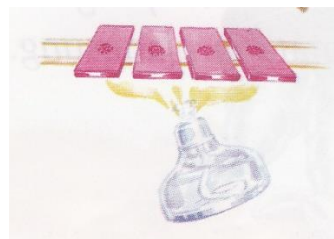
lebih banyak untuk menutupi seluruh kaca sediaan.



Gambar 2.7 Pewarnaan dengan larutan karbol fuchsin⁽¹⁰⁾

e. Pemanasan sediaan

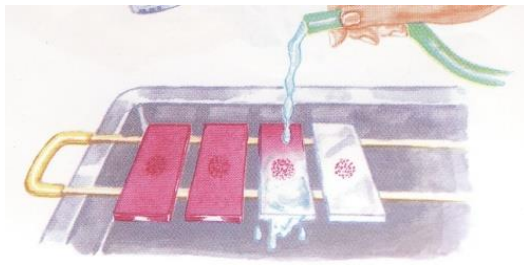
Panaskan sediaan sampai timbul uap. Jangan didihkan atau membiarkan sediaan kering, karena akan timbul kristal pada sediaan. Biarkan 5 menit dan jangan biarkan larutan mengering.



Gambar 2.8 Pemanasan sediaan⁽¹⁰⁾

f. Pembilasan sediaan

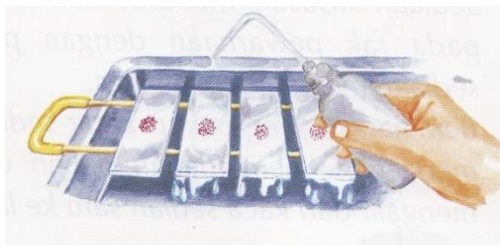
Miringkan kaca sediaan untuk mengalirkan kelebihan pewarna dan cuci cairan pewarnaan perlahan dengan air mengalir. Miringkan kaca sediaan untuk mengalirkan kelebihan air cucian.



Gambar 2.9 Pembilasan sediaan⁽¹⁰⁾

g. Dekolorisasi

Genangi seluruh permukaan sediaan dengan larutan asam alkohol (etanol-asam hidroklorida 3% atau larutan asam sulfat 20-25%) dan biarkan sekitar 3 menit. Ulangi beberapa kali sampai sediaan bersih.



Gambar 2.10 Dekolorisasi⁽¹⁰⁾

h. Pembilasan sediaan

Cuci kaca sediaan dengan air mengalir perlahan dan miringkan untuk mengalirkan kelebihan air cucian.

i. Pewarnaan methylen biru

Tuang methylen biru 0,3% untuk menutupi seluruh permukaan

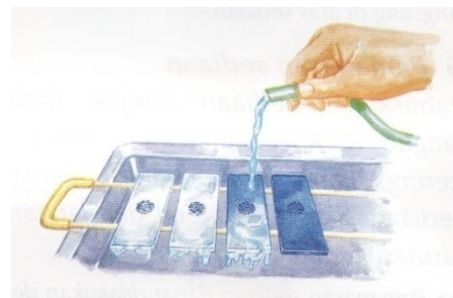
sediaan dan tidak boleh lebih dari 30 detik.



Gambar 2.11 Pewarnaan methylen biru⁽¹⁰⁾

j. Pembilasan sediaan

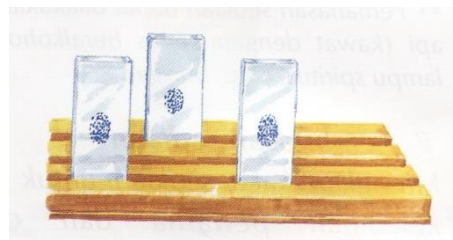
Tuang larutan methylen biru 0,3% dan bilas sediaan dengan air yang mengalir perlahan.



Gambar 2.12 Pembilasan sediaan⁽¹⁰⁾

k. Pengeringan sediaan yang telah diwarnai

Miringkan dan letakkan sediaan pada rak sediaan dan keringkan di udara.



Gambar 2.13 Pengeringan sediaan yang telah diwarnai⁽¹⁰⁾

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dilakukan pembuatan preparat dahak dari dua sampel BTA positif yaitu : BTA positif 1 dan BTA positif 3, masing-masing 20

preparat BTA. Kemudian dilakukan pewarnaan dan pengeringan pada suhu kamar dan inkubator, pembagian sampel dapat dilihat pada tabel berikut ini :

Tabel 3.1 Sampel Preparat BTA

	BTA positif 1				BTA positif 3			
	Suhu kamar	Suhu Inkubator			Suhu kamar	Suhu Inkubator		
		50°C	60°C	70°C		50°C	60°C	70°C
Nomor Sampel	1A1	1B1	1C1	1D1	3A1	3B1	3C1	3D1
	1A2	1B2	1C2	1D2	3A2	3B2	3C2	3D2
	1A3	1B3	1C3	1D3	3A3	3B3	3C3	3D3
	1A4	1B4	1C4	1D4	3A4	3B4	3C4	3D4
	1A5	1B5	1C5	1D5	3A5	3B5	3C5	3D5

Dari data tersebut didapatkan hasil pembuatan preparat BTA positif 1 dan positif 3 pada suhu

kamar, 50°C, 60°C dan 70°C masing-masing 5 preparat.

Tabel 3.2 Hasil Pemeriksaan Mikroskopik Preparat BTA

No	Suhu	Nomor Sampel	Jumlah BTA	Hasil	No	Suhu	Nomor Sampel	Jumlah BTA	Hasil
1	Suhu kamar	1A1	78	Positif 1	21	Suhu kamar	3A1	> 1000	Positif 3
2		1A2	68	Positif 1	22		3A2	> 1000	Positif 3
3		1A3	82	Positif 1	23		3A3	> 1000	Positif 3
4		1A4	81	Positif 1	24		3A4	> 1000	Positif 3
5		1A5	76	Positif 1	25		3A5	> 1000	Positif 3
6	50°C	1B1	71	Positif 1	26	50°C	3B1	> 1000	Positif 3
7		1B2	67	Positif 1	27		3B2	> 1000	Positif 3
8		1B3	89	Positif 1	28		3B3	> 1000	Positif 3
9		1B4	54	Positif 1	29		3B4	> 1000	Positif 3
10		1B5	67	Positif 1	30		3B5	> 1000	Positif 3
11	60°C	1C1	76	Positif 1	31	60°C	3C1	> 1000	Positif 3
12		1C2	78	Positif 1	32		3C2	> 1000	Positif 3
13		1C3	87	Positif 1	33		3C3	> 1000	Positif 3
14		1C4	73	Positif 1	34		3C4	> 1000	Positif 3
15		1C5	63	Positif 1	35		3C5	> 1000	Positif 3

16	70°C	1D1	56	Positif 1	36	70°C	3D1	> 1000	Positif 3
17		1D2	76	Positif 1	37		3D2	> 1000	Positif 3
18		1D3	46	Positif 1	38		3D3	> 1000	Positif 3
19		1D4	74	Positif 1	39		3D4	> 1000	Positif 3
20		1D5	65	Positif 1	40		3D5	> 1000	Positif 3

Didapatkan hasil pemeriksaan mikroskopis dengan pengeringan suhu kamar, 50°C, 60°C dan 70°C. Masing-masing pengeringan mendapatkan hasil positif sesuai dengan sampel awal.

Setelah dilakukan pengeringan dengan berbagai suhu maka dilakukan uji stabilitas setiap minggu selama 3 minggu, dapat dilihat hasilnya pada tabel berikut ini :

Tabel 3.3 Hasil Pemeriksaan Stabilitas Preparat BTA

No	Suhu	Nomor Sampel	Hasil			% Stabilitas	Rata-rata %
			Minggu Ke-1	Minggu Ke-2	Minggu Ke-3		
1	Suhu kamar	1A1	Positif 1	Positif 1	Positif 1	100 %	100 %
2		1A2	Positif 1	Positif 1	Positif 1	100 %	
3		1A3	Positif 1	Positif 1	Positif 1	100 %	
4		1A4	Positif 1	Positif 1	Positif 1	100 %	
5		1A5	Positif 1	Positif 1	Positif 1	100 %	
6	50°C	1B1	Positif 1	Positif 1	Positif 1	100 %	
7		1B2	Positif 1	Positif 1	Positif 1	100 %	
8		1B3	Positif 1	Positif 1	Positif 1	100 %	
9		1B4	Positif 1	Positif 1	Positif 1	100 %	
10		1B5	Positif 1	Positif 1	Positif 1	100 %	
11	60°C	1C1	Positif 1	Positif 1	Positif 1	100 %	
12		1C2	Positif 1	Positif 1	Positif 1	100 %	
13		1C3	Positif 1	Positif 1	Positif 1	100 %	
14		1C4	Positif 1	Positif 1	Positif 1	100 %	
15		1C5	Positif 1	Positif 1	Positif 1	100 %	
16	70°C	1D1	Positif 1	Positif 1	Positif 1	100 %	
17		1D2	Positif 1	Positif 1	Positif 1	100 %	
18		1D3	Positif 1	Positif 1	Positif 1	100 %	
19		1D4	Positif 1	Positif 1	Positif 1	100 %	
20		1D5	Positif 1	Positif 1	Positif 1	100 %	

21	Suhu kamar	3A1	Positif 3	Positif 3	Positif 3	100 %
22		3A2	Positif 3	Positif 3	Positif 3	100 %
23		3A3	Positif 3	Positif 3	Positif 3	100 %
24		3A4	Positif 3	Positif 3	Positif 3	100 %
25		3A5	Positif 3	Positif 3	Positif 3	100 %
26	50°C	3B1	Positif 3	Positif 3	Positif 3	100 %
27		3B2	Positif 3	Positif 3	Positif 3	100 %
28		3B3	Positif 3	Positif 3	Positif 3	100 %
29		3B4	Positif 3	Positif 3	Positif 3	100 %
30		3B5	Positif 3	Positif 3	Positif 3	100 %
31	60°C	3C1	Positif 3	Positif 3	Positif 3	100 %
32		3C2	Positif 3	Positif 3	Positif 3	100 %
33		3C3	Positif 3	Positif 3	Positif 3	100 %
34		3C4	Positif 3	Positif 3	Positif 3	100 %
35		3C5	Positif 3	Positif 3	Positif 3	100 %
36	70°C	3D1	Positif 3	Positif 3	Positif 3	100 %
37		3D2	Positif 3	Positif 3	Positif 3	100 %
38		3D3	Positif 3	Positif 3	Positif 3	100 %
39		3D4	Positif 3	Positif 3	Positif 3	100 %
40		3D5	Positif 3	Positif 3	Positif 3	100 %

Simpulan

Berdasarkan hasil pemeriksaan data pemeriksaan makroskopik, mikroskopik dan kultur maka didapatkan hasil penelitian sebagai berikut, 1) Tidak ada pengaruh pada pengeringan pada suhu kamar dan suhu inkubator. 2) Gambaran hasil preparat BTA pada pengeringan suhu 20⁰ C (suhu kamar) dan suhu incubator (50⁰ C, 60⁰ C dan 70⁰ C), untuk sampel positif 1 didapatkan hasil 100% hasil pemeriksaan mikroskopik positif 1, dan sampel

positif 3 didapatkan hasil 100 % pemeriksaan mikroskop positif 3. 3) Gambaran stabilitas hasil preparat BTA pada pengeringan suhu 20⁰ C (suhu kamar) dan suhu incubator (50⁰ C, 60⁰ C dan 70⁰ C) selama 3 minggu 100% hasilnya sama menunjukkan preparat tersebut stabil.

DAFTAR PUSTAKA

1. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2012. Pedoman Nasional Penanggulangan Tuberculosis Edisi 2. Jakarta.

2. Direktorat Jenderal Pemberantasan Penyakit Menular Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan. 2004. Kajian Riset Operasional Intensifikasi Pemberantasan Penyakit Menular Tahun 1998/1999 – 2003. Jakarta.
3. Bonang, Gerard & Enggar S. Koeswardono. 1982. Mikrobiologi Kedokteran untuk
5. Staf Pengajar FKUI. 1994. Mikrobiologi Kedokteran. Jakarta: Binarupa Aksara.
6. Moeliono AM. 1990. Kamus Besar Bahasa Indonesia. Balai Pustaka Jakarta
7. Murray, Patrick R.,. 2002. Manual of Clinical Microbiology (9th edition) Washington D.C: ASM PRESS.
8. <http://2.bp.blogspot.com/hNzXtPQyZcs/SxotBkNLnZI/AAAAAAAAAAU/tJgwBxgGnxc/s320/penyakit-tbc.jpg>
9. Fujiki, Akiko. 2009. *BTA Pelatihan Mikroskopis*.
10. Lay, Bibiana. 1994. Analisis Mikroba di laboratorium. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada.
11. Laboratorium dan Klinik. Jakarta: PT. Gramedia.