

PENGARUH PERBEDAAN SUHU DAN LAMA PENYIMPANAN SPUTUM TERHADAP JUMLAH BAKTERI TAHAN ASAM

Dwi Handayani¹, Yusianti Silviani²

^{1,2}Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional

e-mail: yusianti.silviani@stikesnas.ac.id

ABSTRAK

Tuberkulosis merupakan suatu penyakit menular langsung yang disebabkan oleh bakteri TB yaitu *Myobacterium Tuberculosis*. Sampai saat ini, Tuberkulosis (TBC) masih menjadi tantangan besar untuk pemerintah Indonesia. Untuk kepentingan diagnosis dengan cara pemeriksaan sputum mikroskopis langsung, terduga pasien TB diperiksa contoh uji sputum dengan pewarnaan Ziehl Neelsen. Namun, di beberapa daerah di Indonesia, jauhnya fasilitas kesehatan terkadang mengharuskan sampel BTA mengalami penundaan pemeriksaan karena melalui proses pengiriman terlebih dahulu. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya pengaruh perbedaan suhu dan lama penyimpanan sputum terhadap jumlah Bakteri Tahan Asam. Desain penelitian ini adalah desain penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan acak lengkap (RAL). Penelitian dilakukan dengan 5 perlakuan yaitu penyimpanan selama 0 jam, 24 jam pada suhu 2-8°C, 24 jam pada suhu 25°C, 48 jam pada suhu 2-8°C dan 48 jam pada suhu 25°C. Berdasarkan pengamatan mikroskopis dan pengolahan data, diperoleh hasil p value > 0,05 maka Ho diterima dan Ha ditolak. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat pengaruh dari perbedaan suhu dan lama penyimpanan terhadap jumlah BTA +.

Kata kunci: Tuberkulosis, Perbedaan Suhu, Lama Penyimpanan

ABSTRACT

Tuberculosis is a direct infectious disease caused by the TB bacteria, named Myobacterium tuberculosis. Until now, Tuberculosis (TBC) is still a big challenge for the Indonesian government. For the purpose of diagnosis by direct microscopic examination of sputum, suspected TB patients are examined for sputum samples with Ziehl Neelsen staining. However, in some areas in Indonesia, the distance from health facilities sometimes requires that Acid-Fast Bacilli samples undergo a delay in examination because they go through the delivery process first. Therefore, the purpose of this study was to determine the effect of differences in temperature and storage time on the amount of Acid-Fast Bacilli +. The design of this study is a laboratory experimental research design with a completely randomized design. The study was conducted with 5 treatments, that stored for 0 hours, 24 hours at a temperature of 2-8°C, 24 hours at a temperature of 25°C, 48 hours at a temperature of 2-8°C and 48 hours at a temperature of 25°C. After microscopic observation and data processing, the results obtained p value > 0.05, then Ho is accepted and Ha is rejected. From these results it can be concluded that there is no effect of differences in temperature and storage time on the amount of acid-fast bacilli +.

Keywords: Tuberculosis, Temperature Differences, Storage Time

1. PENDAHULUAN

Tuberkulosis merupakan suatu penyakit menular langsung yang disebabkan oleh bakteri TB yaitu *Mycobacterium Tuberculosis*. Bakteri ini ditemukan pada tanggal 24 Maret 1882 oleh Robert Koch (Danusantoso, 2018). Bakteri *Mycobacterium Tuberculosis* adalah bakteri dengan bentuk batang lurus ataupun bengkok yang ramping dengan panjang 2-4 μm dan lebar 0,2 – 0,5 μm dan bergabung membentuk rantai. Bakteri ini memiliki sifat tahan asam, oleh karena itu sering disebut Bakteri Tahan Asam/ BTA (Zanita, 2019).

Beberapa penegakan diagnosa TB paru yaitu dengan melihat gejala klinis dan pemeriksaan bakteriologis yang meliputi pemeriksaan mikrobiologis langsung, biakan dan tes cepat. Namun pemeriksaan biakan memerlukan waktu lebih lama dan memerlukan peralatan khusus. Pemeriksaan mikroskopis dinilai lebih mudah, spesifik, sensitif serta efisien waktu dan biaya. Faktor yang mempengaruhi hasil mikroskopis antara lain kualitas sampel, jumlah bakteri, kualitas sediaan, kualitas pewarna dan kualitas sediaan. Sensitivitas pemeriksaan dengan metode ini akan sangat terganggu ketika jumlah bakteri kurang dari 10.000 kuman/ml sampel dahak. Pemeriksaan BTA menggunakan metode Tes Cepat Molekuler (TCM) dapat mendeteksi hingga jumlah minimal kuman BTA 131 kuman/ml sampel dahak (Das, Ganguly dan Mandal, 2019). Pada pemeriksaan mikroskopis, sputum pasien akan diperiksa dengan pewarnaan Ziehl Nelsen.

Suhu optimum pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* adalah 37°C, pH pembenihan antara 6,0-8,0 dengan pH optimum antara 6,5-6,8 (Nurlaily, 2015). Bakteri ini tahan terhadap suhu rendah antara 4°C sampai minus 70°C, namun sangat

peka terhadap sinar matahari dan sinar ultraviolet sehingga sebagian besar bakteri akan mati dalam waktu beberapa menit. Sedangkan dalam dahak pada suhu antara 30-37°C akan mati dalam waktu lebih kurang 1 minggu (Kesehatan, 2017).

Sampai saat ini, Tuberkulosis (TBC) masih menjadi tantangan besar untuk pemerintah Indonesia. Pada tahun 2021 Indonesia menjadi penyumbang dua pertiga kasus Tuberkulosis di seluruh dunia, dengan perkiraan kasus 845.000 dan jumlah kematian 98.000 (Wulandari, 2021).

Bakteri ini tidak bergerak dan tidak membentuk spora atau kapsul (Irianto and Koes, 2013). Selain itu, *Mycobacterium tuberculosis* dindingnya banyak mengandung lipid sehingga sulit terwarnai oleh pengecatan Gram. Pewarnaan ZN dilakukan untuk mengidentifikasi adanya *Mycobacterium tuberculosis* atau BTA di dalam sediaan (Juliantina and Agustiningtyas, 2020). *Mycobacterium tuberculosis* akan terlihat berbentuk panjang, berwarna merah dengan latar belakang biru. Sementara itu, untuk menginterpretasi hasil pemeriksaan mikroskopis BTA digunakan skala IUATLD (Kesehatan, 2017). Untuk waktu terbaik pengumpulan sputum adalah setelah bangun tidur, karena sekresi abnormal bronkus cenderung untuk berkumpul pada waktu tidur (Somantri, 2012).

Namun, di beberapa daerah di Indonesia, jauhnya fasilitas kesehatan terkadang mengharuskan sampel BTA mengalami penundaan pemeriksaan karena melalui proses pengiriman terlebih dahulu. Terkadang terdapat juga situasi dimana jumlah tenaga laboratorium sangat minim sedangkan terdapat kegiatan rutin laboratorium lain yang harus dilakukan. Hal ini juga mengakibatkan sampel BTA tidak dapat langsung dikerjakan.

Pada penelitian sebelumnya Pengaruh Lama Penyimpanan Dahak Pagi pada Suhu Kamar Terhadap Jumlah Bakteri Tahan Asam diperoleh hasil tidak ada pengaruh lamanya penyimpanan dahak pagi yang langsung dikerjakan, ditunda 3 jam dan 6 jam pada suhu kamar terhadap jumlah BTA (Muin *et al.*, 2020)

Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh perbedaan suhu dan lama penyimpanan sputum terhadap jumlah BTA + dengan waktu tunda yang lebih panjang yaitu 24 jam dan 48 jam, lalu dengan suhu ruang dan suhu dingin (2-8°C) dilakukan.

2. METODOLOGI PENELITIAN

Menurut jenisnya penelitian ini termasuk penelitian analitik eksperimental yang menguji pengaruh antara perbedaan suhu dan lama penyimpanan terhadap jumlah BTA +. Desain penelitian ini adalah desain penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan acak lengkap (RAL). Penelitian dilakukan dengan 5 perlakuan yaitu penyimpanan selama 0 jam, 24 jam pada suhu 2-8°C, 24 jam pada suhu 25°C, 48 jam pada suhu 2-8°C dan 48 jam pada suhu 25°C.

Perhitungan pengulangan pada penelitian ini menggunakan rumus Federer : $(t-1)(r-1) \geq 15$

Keterangan:

t = treatment (perlakuan)

r = replikasi (pengulangan)

15 = derajat kebebasan umum

$(t-1)(r-1) \geq 15$

$(5-1)(r-1) \geq 15$

$$4r \geq 15 + 4$$

$$4r \geq 19. r \geq 4.75$$

(ulangan yang digunakan adalah 5 kali)

Berdasarkan perhitungan di atas, ditetapkan jumlah pengulangan sebanyak lima kali untuk setiap perlakuan, sehingga keseluruhan jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini harus lebih dari 15. Peneliti menggunakan jumlah sampel sebanyak 25 (Wahyuningrum dan Probosari, 2012)

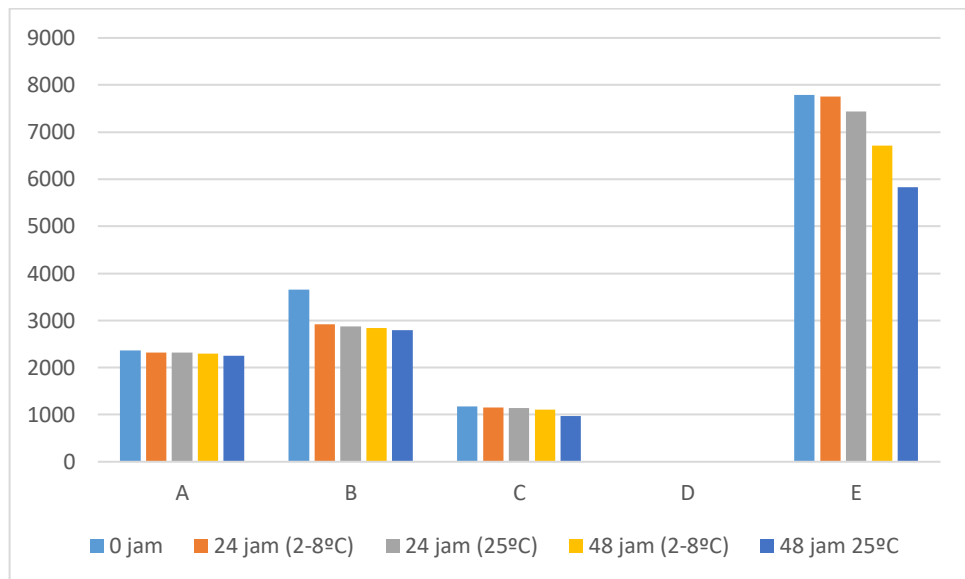
Populasi penelitian adalah sputum dengan BTA positif dari pasien yang menjalani pemeriksaan sputum di Balai Kesehatan Paru Masyarakat (BKPM) Purwokerto. Sampel dipilih berdasarkan penggunaan kriteria tertentu. Kriteria inklusi adalah sputum sewaktu dengan konsistensi kental dan purulen, sedangkan kriteria eksklusi adalah sputum bercampur darah (Setiyoningsih dan Sukundarno, 2020). Jumlah sampel yang diambil adalah lima sputum sewaktu dengan pengulangan sebanyak lima kali, sehingga total sampel yang digunakan adalah sebanyak 25 sampel. Sputum ini kemudian diperiksa jumlah BTA segera setelah pengumpulan, setelah dilakukan penyimpanan 24 jam pada suhu 2-8°C, 24 jam pada suhu 25°C, 48 jam pada suhu 2-8°C dan 48 jam pada suhu 25°C.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, didapatkan data-data sebagai berikut:

Tabel 1. Karakteristik Sampel Sputum

No	1	2	3	4	5
Kode sputum	A	B	C	D	E
	Volume < 3 ml	Volume < 3 ml	Volume < 3 ml	Volume < 3 ml	Volume < 3 ml
	Dahak	Dahak	Dahak	Dahak+nanah	Dahak
	Purulen	Purulen	Purulen	Purulen	Purulen
	Konsistensi purulen	Konsistensi purulen	Konsistensi purulen	Nanah lendir	Konsistensi purulen
	Konsistensi lebih encer	Konsistensi lebih encer	Konsistensi lebih encer	Konsistensi lebih encer	Konsistensi lebih encer
	Konsistensi purulen	Konsistensi purulen	Konsistensi purulen	Seperti air	Konsistensi purulen
	Konsistensi lebih encer	Konsistensi lebih encer	Konsistensi lebih encer	Konsistensi lebih encer	Konsistensi lebih encer



Gambar 1 Jumlah Bakteri Tahan Asam

Tabel 2. Jumlah Bakteri Tahan Asam Berdasar Gradasi

Kode sputum		A	B	C	D	E
0	Gradasi	3+	3+	3+	1+	3+
24 jam (2-8°C)	Gradasi	3+	3+	3+	1+	3+
24 jam (25°C)	Gradasi	3+	3+	3+	Scanty	3+
48 jam (2-8°C)	Gradasi	3+	3+	3+	Scanty	3+
48 jam (25°C)	Gradasi	3+	3+	3+	Scanty	3+

Sputum A, B, C, D maupun E yang disimpan pada suhu 25oC cenderung

menjadi lebih encer dibandingkan sputum yang disimpan pada suhu 2-

80C. Sementara itu, jumlah BTA semua sputum pada penyimpanan 25°C mengalami penurunan dibandingkan sputum yang disimpan pada suhu 2-80C.

Berdasarkan Gambar 1 dan Tabel 2 diketahui bahwa terjadi penurunan jumlah BTA baik sputum A, B, C, D maupun E seiring semakin lama penyimpanannya. Berdasarkan gradasi maka tidak terdapat perubahan gradasi pada sputum A, B, C dan E dari yang dikerjakan langsung, disimpan 24 jam pada suhu 2-8°C, 24 jam pada suhu 25°C, 48 jam pada suhu 2-8°C maupun 48 jam pada suhu 25°C. Tetapi terdapat pengecualian pada sputum D dengan lama penyimpanan 24 jam pada suhu 2-8°C ke lama penyimpanan 24 jam

pada suhu 25°C karena terjadi penurunan gradasi dari 1+ menjadi scanty. Namun perubahan gradasi ini dapat disebabkan karena gradasi 1+ pada sputum D dengan lama penyimpanan 24 jam pada suhu 2-8°C hanya memiliki jumlah BTA sebanyak 10, dimana angka ini merupakan angka minimal untuk gradasi 1+. Sehingga bila jumlah BTA berkurang bahkan hanya satu, hal ini sudah dapat mengubah hasil gradasinya. Selain dari pada data jumlah bakteri, melalui tabel 3 di bawah ini dapat dilihat jika data penelitian yang diperoleh berdistribusi normal sehingga dilanjutkan dengan uji Repeated ANOVA.

Tabel 3. Uji Normalitas

	0	24 jam (2-8°C)	24 jam (25°C)	48 jam (2-8°C)	48 jam (25°C)
Number of values	5	5	5	5	5
Minimum	10.00	10.00	9.000	5.000	3.000
Maximum	7790	7750	7440	6710	5830
Range	7780	7740	7431	6705	5827
Mean	2998	2832	2755	2593	2369
Std. Deviation	3001	2967	2842	2549	2221
Std. Error of Mean	1342	1327	1271	1140	993.4

Tabel 4. Hasil Uji Repeated ANOVA

	0	24 jam (2-8°C)	24 jam (25°C)	48 jam (2-8°C)	48 jam (25°C)
Test for normal distribution					
Shapiro-Wilk test					
W	0.9231	0.8807	0.8882	0.9139	0.9430
P value	0.5500	0.3125	0.3480	0.4912	0.6871
Passed normality test (alpha=0.05)?					
P value summary	ns	ns	ns	ns	ns
Number of values	5	5	5	5	5

Dilihat dari tabel 4 di atas, nilai p yang dimiliki oleh sampel BTA 0 jam yaitu sebesar 0.5500, sampel BTA 24 jam (2-8°C) dengan nilai p = 0.3125,

sampel BTA 24 jam (25°C) sebesar 0.3480, sampel BTA 48 jam (2-8°C) dengan nilai p = 0.4912 dan sampel BTA 48 jam (25°C) dengan p

= 0.6871. Berdasarkan tabel 3 dapat disimpulkan bahwa seluruh data berdistribusi normal. Hal ini dikarenakan seluruh nilai p sampel BTA > 0.05. Berdasarkan hasil pengolahan data melalui uji repeated Anova diperoleh nilai p sebesar 0.2101. Nilai p > 0.05 maka H_0 diterima dan H_a ditolak, artinya tidak ada pengaruh yang signifikan perbedaan suhu dan lama penyimpanan terhadap jumlah BTA +.

Berdasarkan hasil penelitian pada tabel 2, semakin lama disimpan jumlah BTA mengalami penurunan. Penurunan ini juga terjadi pada sputum yang disimpan pada suhu 25°C dibandingkan dengan sputum yang disimpan pada suhu 2-8°C. Hal ini dapat dilihat dari tabel yang menunjukkan jumlah BTA pada sputum yang langsung dikerjakan, disimpan 24 jam pada suhu 2-8°C, 24 jam pada suhu 25°C, 48 jam pada suhu 2-8°C maupun 48 jam pada suhu 25°C. Penurunan jumlah BTA 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 dapat bertahan hidup. Pada sputum, BTA hanya dapat menggunakan nutrisi yang ada di dalamnya. Berbeda ketika berada di dalam tubuh, BTA bisa mendapatkan nutrisi yang cukup dari inangnyanya. Nutrisi dalam sputum ini terbatas jumlahnya, sehingga ketika nutrisi dalam sputum akhirnya habis akibat digunakan secara terus menerus, BTA akan kehilangan sumber energinya dan mati. Hal ini sesuai dengan teori 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 (Wuryanti, 2012)

Penurunan jumlah BTA adalah proses enzimatik yang terjadi dalam sputum. Sel lekosit dalam sputum mengandung enzim- *neutrophil elastase* dan *alpha-naphthyl acetate esterase* yang masih dapat bekerja sampai 72 jam meski aktivitasnya akan terus menurun. Neutrofil elastase disekresikan oleh neutrofil selama peradangan, dan menghancurkan bakteri dan jaringan inang. Jugniot., et al. 2019). Sementara itu, *alpha-naphthyl acetate esterase* adalah esterase non spesifik yang digunakan sebagai penanda adanya sel limfosit T matang dalam jumlah banyak (Bayraktaroglu et al., 2015). Kondisi lingkungan seperti pH dan suhu memegang peranan penting pada aktivitas enzim ini. Aktivitas enzim-enzim inilah yang akan mengakibatkan terjadinya lisis pada bakteri maupun pada sel lekosit itu sendiri (Zanchet et al., 2007). Proses enzimatik ini menyebabkan rusaknya struktur dinding BTA sehingga menghilangkan sifat tahan asam yang dimiliki BTA. Bakteri tahan asam yang seharusnya menyerap warna merah dari karbol fuchsin tidak dapat lagi mempertahankan warnanya saat ditambahkan dengan alkohol asam dan ikut terwarnai oleh metilen blue sehingga berwarna biru. Akibatnya sel tidak terbaca sebagai BTA. Proses enzimatik ini juga dapat melisis sel BTA. Sel BTA yang lisis/hancur sudah tidak dapat lagi terwarnai sehingga berpengaruh pada penurunan jumlah BTA.

Besarnya aktivitas enzim ini dipengaruhi oleh suhu penyimpanan. Enzim-enzim lekosit optimal bekerja pada suhu tubuh ($\pm 37^\circ\text{C}$). Suhu penyimpanan pada penelitian ini adalah 2-8°C dan 25°C. Suhu yang jauh di bawah suhu optimal enzim lekosit ini menyebabkan aktivitas enzim dalam sputum tidak seaktif

ketika dalam tubuh sehingga meski ada penurunan jumlah BTA, penurunan ini tidak signifikan.

Penyebab lain yang mengakibatkan penurunan jumlah BTA adalah karena adanya perubahan konsistensi sputum yang menjadi lebih encer. Penyebab encernya sputum dapat disebabkan karena suhu hangat yang menyebabkan pecahnya granula-granula pada senyawa sputum sehingga cairan akan keluar dari granula dan sputum tampak lebih encer (Budiharjo and Purjanto, 2016). Perubahan konsistensi ini menyebabkan sulitnya pembuatan preparat. Konsistensi sputum yang cair menyebabkan sputum sulit terambil pada saat pembuatan preparat sehingga banyak sel BTA yang tidak ikut terbawa. Apusan sputum juga akan lebih sulit melekat pada kaca objek sehingga menyebabkan preparat menjadi sulit untuk diwarnai dan dibaca. Akibatnya jumlah sel BTA yang dihitung menjadi lebih sedikit dari yang seharusnya.

Berdasarkan data jumlah BTA hasil pemeriksaan, ada penurunan jumlah BTA dari sputum dengan suhu penyimpanan 2-8°C ke suhu 25°C baik pada lama penyimpanan 24 jam maupun 48 jam. Selain itu terjadi pula penurunan jumlah BTA dari sputum yang dikerjakan langsung, ke sputum yang disimpan 24 jam lalu ke sputum dengan penyimpanan 48 jam. Namun, apabila dilihat dari gradasinya, tidak terjadi perubahan gradasi pada sputum A baik yang langsung dikerjakan, disimpan 24 jam pada suhu 2-8°C, 24 jam suhu 25°C, 48 jam pada suhu 2-8°C maupun 48 jam pada suhu 25°C. Hasil ini juga didapatkan pada sputum B, C dan E. Tetapi pada sputum D, memang terjadi perubahan gradasi dari 1+ menjadi scanty, namun perubahan gradasi ini dapat disebabkan karena gradasi 1+ sputum D dengan lama penyimpanan 24 jam pada suhu 2-

8°C hanya memiliki jumlah BTA sebanyak 10, dimana angka ini merupakan angka minimal untuk gradasi 1+. Sehingga saat terjadi penurunan jumlah BTA sebanyak satu BTA pada sputum dengan lama penyimpanan 24 jam pada suhu 25°C hal ini sudah dapat mengubah hasil gradasinya.

Oleh karena itu secara umum, berdasarkan analisis uji repeated Anova diperoleh hasil tidak ada pengaruh yang signifikan perbedaan suhu dan lama penyimpanan terhadap jumlah BTA +. Hasil yang diperoleh pada penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Muin, dkk pada tahun 2020. Hasil tersebut menunjukkan tidak ada pengaruh lamanya penyimpanan dahak pagi terhadap jumlah BTA dari sembilan sampel dengan masing-masing sampel dilakukan tiga perlakuan yaitu diperiksa segera, ditunda selama 3 jam dan 6 jam.

4. KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh perbedaan suhu dan lama penyimpanan terhadap jumlah BTA +.

5. SARAN

1. Bagi tenaga laboratorium
Penyimpanan sputum pada suhu tinggi akan mempercepat perubahan konsistensi sputum, sehingga sputum sebaiknya disimpan pada refrigerator untuk menjaga konsistensinya.
2. Bagi peneliti selanjutnya
Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan variabel lain seperti kualitas sampel dan kondisi lingkungan (pH).

6. UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih penulis ucapkan kepada:

1. Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional yang telah membantu selama proses penelitian.

2. Seluruh Bapak dan Ibu dosen Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional yang telah membimbing selama proses penelitian.

REFERENSI

- Bayraktaroğlu, A.G., Kurum, A., Simsek, O., Arıkan, S (2015) ‘Determination of alpha-naphthyl acetate esterase (anae) activity in peripheral blood leukocytes of pregnant, adult, and kitten angora cats’, *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 39(1), pp. 57–61. doi:10.3906/vet-1407-44.
- Budiharjo, T. and Purjanto, K.A. (2016) ‘Pengaruh Penanganan Sputum Terhadap Kualitas Sputum Penderita TBC Secara Mikroskopis Bakteri Tahan Asam’, *Jurnal Riset Kesehatan*, 1, pp. 42–44. doi:<https://doi.org/10.31983/jrk.v5i1.622>.
- Danusantoso, H. (2018) *Ilmu Penyakit Paru. 3rd edn. Edited by J. Suyono*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Available at: <https://opac.perpusnas.go.id/DetailOpac.aspx?id=1077003>.
- Das, P., Ganguly, S. and Mandal, B. (2019) ‘Sputum smear microscopy in tuberculosis: It is still relevant in the era of molecular diagnosis when seen from the public health perspective’, *Biomedical and Biotechnology Research Journal (BBRJ)*, 3(2), p. 77. doi:10.4103/bbrj.bbrj_54_19.
- Irianto and Koes (2013) *Mikrobiologi: Menguk Dunia Mikroorganisme*. 2nd edn. Bandung: Bandung Yrama Widya.
- Jugniot, N., Voisin, P., Bentaher, A., Mellet, P. (2019) Neutrophil Estalase Activity Imaging: Recent Approaches in Design and Application of Activity Based Probes and Substrats Based Probes. *Contrast Media & Molekuler Imaging Volume 2019*. p. 1-12. doi: [10.1155/2019/7417192](https://doi.org/10.1155/2019/7417192)
- Juliantina, F. and Agustiningtyas, I. (2020) *Pencegatan Ziehl Neelsen (ZN)*. Available at: <https://fk.uui.ac.id/mikrobiologi/materi/pencegatan-ziehl-neelsen-zn/>.
- Kesehatan, K. (2017) ‘Pelatihan laboratorium tuberculosis bagi petugas di fasyankes’, (*MODUL PELATIHAN LABORATORIUM TUBERKULOSIS BAGI PETUGAS DI FASYANKES*), p. 43.
- Muin, W.O.N., Kalma, K., Artati, A., Rafika. (2020) ‘Pengaruh Lama Penyimpanan Dahak Pagi Pada Suhu Kamar Terhadap Jumlah Bakteri Tahan Asam (Bta)’, *Jurnal Media Analis Kesehatan*, 11(2), p. 104. doi:10.32382/mak.v11i2.1785.
- Nurlaily, D. (2015) Resistensi Mycobacterium tuberculosis Terhadap Antibiotik Rifampisin Pada Pasien Domisili Cilacap Dengan Kriteria MDRTB Drop Out Tuberculosis Paru di RSUD Cilacap. UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PURWOKERTO. *Skripsi* Available at: <http://repository.ump.ac.id/id/eprint/1841>.
- Setiyonongsih, N.E., Sakundarno, M. (2020). Gambaran Tata Cara Pengeluaran Sputum dan Kualitas Sputum Pasien Curiga Tuberculosis di Puskesmas Gajah II Kabupaten Demak. *Visikes* 19 (1) p. 58-71.
- Somantri, I. (2012) *Asuhan Keperawatan Pada Klien Dengan Gangguan Sistem Pernafasan*. 2nd edn. Jakarta: Salemba Meedika. Available at: <https://onsearch.id/Record/IOS2846.slims-4694>.
- Wahyuningrum, M.R., Probosari, E (2012) Pengaruh Pemberian Buah Pepaya (Carica papaya L) Terhadap Kadar Trigliserida Pada Tikus SPRAGUE DAWLEY DENGAN HIPERKOLESTEROLEMIA. *Jurnal of Nutrition College* 1 (1) p192-198.
- Wulandari, F. (2021) *Kemenkes: Indonesia Sumbang Dua Pertiga*

- Kasus TBC di Dunia, Tribun Kesehatan.* Available at: www.tribunnews.com/kesehatan/2021/03/01/kemenkes-indonesia-sumbang-dua-pertiga-kasus-tbc-di-dunia (Accessed: 17 October 2021).
- Wuryanti, W. (2012) 'Pengaruh Penambahan Biotin Pada Media Pertumbuhan Terhadap Produksi Sel *Aspergillus niger*', *Bioma : Berkala Ilmiah Biologi*, 10(2), p. 46. doi:10.14710/bioma.10.2.46-50.
- Zanchet, R.C., Feijo, G., Gastaldi, A.C., Jardim, RB. (2007) 'O muco traqueobrônquico humano mantido em temperatura ambiente e suas propriedades físico-químicas', *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, 33(1), pp. 57–61. doi:10.1590/S1806-37132007000100012.
- Zanita (2019) 'Penatalaksanaan TB Paru', *Jurnal Kesehatan*, 53(9), pp. 1689–1699. Available at: [http://eprints.poltekkesjogja.ac.id/1362/4/BAB II.pdf](http://eprints.poltekkesjogja.ac.id/1362/4/BAB%20II.pdf).