

**PENGARUH WAKTU PENYIMPANAN SAMPEL SPUTUM
UNTUK PEMERIKSAAN TUBERKULOSIS DENGAN
METODE ZN (ZIEHL NEELSEN)**

SKRIPSI



**OLEH :
RACHMAT NURPRABOWO
N15221143**

**PROGRAM STUDI D4 ANALIS KESEHATAN
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2023**

LEMBAR PERSETUJUAN

Skripsi :

PENGARUH WAKTU PENYIMPANAN SAMPEL SPUTUM UNTUK PEMERIKSAAN TUBERKULOSIS DENGAN METODE ZN (ZIEHL NEELSEN)

**Oleh :
Rachmat Nurprabowo
N 15221143**

Surakarta, 12 Juli 2023

Menyetujui Untuk Ujian Sidang Skripsi,

Menyetujui,

Pembimbing Utama



Dra. Nony Puspawati, M.Si
NIS : 01198311012003

Pembimbing Pendamping



Rahmat Budi Nugroho, S.Si., M.Sc
NIS : 01201403161181

LEMBAR PENGESAHAN





Proposal Skripsi :

PENGARUH WAKTU PENYIMPANAN SAMPEL SPUTUM UNTUK PEMERIKSAAN TUBERKULOSIS DENGAN METODE ZN (ZIEHL NEELSEN)

Oleh :

**Rachmat Nurprabowo
N 15221143**

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
Pada tanggal 12 Juli 2023

	Tanda Tangan	Tanggal
1. Penguji I : D. Andang Arif Wibawa S.P, M.Si		22/7 2023
2. Penguji II : Rinda Binugraheni, S.Pd., M.Sc		2/8 2023
3. Penguji III : Rahmat Budi Nugroho S.Si., M.Sc		1/8 2023
4. Penguji IV : Dra. Nony Puspawati. M.Si		1/8 2023

Mengetahui,

Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Setia Budi

Ketua Program Studi
D4 Analis Kesehatan




Prof. dr. Marsetyawan HNE Soesatyo, M.Sc., Ph.D
NIDK. 8893090018



Dr. Dian Kresnadipayana, S.Si., M.Si
NIS.012001304161170

HALAMAN PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : RACHMAT NURPRABOWO

NIM : N15221143

**Program Studi : D4 ANALIS KESEHATAN FAKULTAS ILMU
KESEHATAN UNIVERSITAS SETIA BUDI**

Dengan ini menyatakan bahwa benar saya membuat skripsi yang berjudul :

“Pengaruh Waktu Penyimpanan Sampel Sputum
Untuk Pemeriksaan Tuberkulosis Dengan
Metode Zn (Ziehl Neelsen)”

Skripsi ini saya buat berdasarkan jurnal-jurnal tanpa menjiplak.

Surakarta, 12 Juli 2023



Yang Membuat,

Rachmat Nurprabowo

KATA PENGANTAR

Assalamu 'alaikum warahmatullahi wabarakatuh,

Puji syukur saya panjatkan kepada Allah SWT yang telah memberikan umur panjang, kesehatan dan kemudahan segala urusan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Terimakasih juga penulis ucapkan kepada :

1. Dr.Ir.Djobi Tarigan,MBA selaku rektor Universitas Setia Budi
2. Prof.dr.Marsetyawan HNES., M.Sc., Ph.D selaku Dekan fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi
3. Dr. Dian Kresnadipayana, S.Si.,M.Si selaku Ketua Program Studi Diploma 4 Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi
4. Penguji Skripsi : bapak D. Andang Arif Wibawa S.P, M. Si dan ibu Rinda Binugraheni, S.Pd., M.Sc.
5. Pembimbing skripsi : Ibu Dra. Nony Puspawati, M.Si dan bapak Rahmat Budi Nugroho, S.Si., M.Si.
6. Keluarga dan teman terkasih yang turut membantu

Berkat dukungan semua, apa yang diperjuangkan dapat terselesaikan. Penulis menyadari masih ada kekurangan dan kesalahan dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu, saya meminta maaf atas segala kesalahan dalam skripsi. Penulis harap isi skripsi yang berjudul “Pengaruh Waktu Penyimpanan Sampel Sputum untuk Pemeriksaan Tuberkulosis dengan Metode ZN (Ziehl Neelsen)” bisa bermanfaat bagi pembaca.

Penulis mengharapkan kritik maupun saran, sehingga penulis bisa memperbaikinya dikemudian hari.

Penulis

Rachmat Nurprabowo

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAM JUDUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
DAFTAR SINGKATAN	xi
INTISARI	xii
ABSTRACT	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Landasan Teori.....	5
1. Definisi.....	5
2. Epidemiologi e	6
3. Patogenesis dan Penularan.....	7
4. Penegakan Diagnosa	9
B. Host (Manusia).....	11
C. Lingkungan (Kondisi Fisik Rumah)	12
D. Pemeriksaan Sputum Bakteri Tahan Asam (BTA) pada Tuberkulosis.....	14
1. Cara Pengumpulan dan Waktu Pemeriksaan	14
2. Prosedur Pemeriksaan.....	16
3. Pembacaan Hasil Pemeriksaan	17

E. Hipotesis	17
BAB III METODE PENELITIAN.....	18
A. Rancangan Penelitian.....	18
B. Waktu dan Tempat Penelitian	18
C. Populasi dan Sampel	18
1. Populasi.....	18
2. Sampel	18
D. Variabel Penelitian.....	19
1. Identifikasi Variabel utama.....	19
2. Klasifikasi Variable Utama.....	19
E. Alat dan Bahan.....	20
1. Alat.....	20
2. Bahan	20
F. Prosedur penelitian.....	20
1. Persiapan Sampel	20
2. Prosedur pelaksanaan penelitian	20
3. Interpretasi Hasil.....	24
G. Teknik Pengumpulan data.....	25
H. Teknik Analisis Data.....	25
I. Alur penelitian	26
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	27
A. Hasil Pemeriksaan Sampel Sputum Dengan Alat TCM (Tes Cepat Molekular)	27
B. Identifikasi TBdengan menggunakan metode Zeihl Nelssen.....	28
1. Pewarnaan BTA dengan penyimpanan 0 jam	28
2. Pewarnaan BTA dengan penyimpanan 8 jam suhu Ruang	30
3. Pewarnaan BTA dengan penyimpanan 8 jam pada suhu 2 °C – 8 °C	32
C. Keterbatasan Penelitian.....	34
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	35
A. Kesimpulan	35
B. Saran	35
DAFTAR PUSTAKA.....	36
LAMPIRAN	38

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4. 1 Hasil pemeriksaan sampel sputum dengan alat TCM.....	27
Tabel 4. 2 Hasil Pewarnaan Ziehl Nelssen dengan penyimpanan 0 jam	28
Tabel 4. 3 Hasil Pewarnaan Ziehl Nelssen dengan penyimpanan 8 jam suhu ruang.....	30
Tabel 4. 4 Hasil Pewarnaan Ziehl Nelssen dengan penyimpanan 8 jam suhu 2 °C – 8 °C.....	33

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 3. 1. Kerangka Alur Penelitian	26

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Negatif TCM	38
Lampiran 2. Positif TCM.....	39
Lampiran 3. Ijin Etik Penelitian	40
Lampiran 4. Dokumentasi	41

DAFTAR SINGKATAN

BTA	: Bakteri tahan Asam
IUATLD	: International Union Against Tuberculosis and Lung Disease
TB	: Tuberkulosis
TCM	: Tes Cepat Molekular
UPTS	: Unit Pelaksanaan Teknis Dinas
WHO	: World Health Organization
ZN	: Ziehl Neelsen

INTISARI

Nurprabowo, R. 2023. Pengaruh Waktu Penyimpanan Sampel Sputum untuk Pemeriksaan Tuberkulosis dengan Metode ZN (Ziehl Neelsen). Program Studi D4 Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi.

Tuberkulosis merupakan suatu penyakit menular langsung yang disebabkan oleh bakteri TB yaitu *Myobacterium tuberculosis*. Latar belakang peneliti melakukan penelitian di UPTD Laboratorium Kesehatan daerah Kabupaten Magetan adalah karena masih sering atau banyaknya penyimpanan pemeriksaan yang dilakukan Tujuan Penelitian untuk mengetahui pengaruh waktu penyimpanan sampel sputum untuk pemeriksaan tuberkulosis dengan menggunakan metode ZN (Ziehl-Neelsen) secara mikroskopis yang dilakukan penyimpanan 8 jam suhu ruang dan 8 jam pada suhu 2°C – 8°C di UPT Laboratorium Kesehatan Daerah Kabupaten Magetan.

Data penelitian berjenis data primer berupa sampel sputum dari UPTD Puskesmas se kabupaten magetan yang di kirim ke UPT Laboratorium Kesehatan Daerah Kabupaten Magetan. Pengaruh waktu penyimpanan sampel sputum untuk pemeriksaan Tuberkulosis dengan menggunakan metode Ziehl Neelsen di interpretasi menggunakan skala internasional International Union Against Tuberculosis and Lung Disease (IUATLD)

Hasil dari 30 sampel yang dilakukan pemeriksaan TCM didapatkan 22 sampel yang terkonfirmasi positif dan selanjutnya dilakukan pemeriksaan ZN dengan 3 perlakuan. Penyimpanan 0 jam ke 8 jam suhu ruang terdapat perubahan interpretasi hasil yang mana jumlah bakteri bertambah sehingga menyebabkan perubahan terhadap hasil positif, sedangkan dari penyimpanan 0 jam ke 8 jam suhu 2 °C – 8 °C si dapatkan hasil yang sama persis terhadap interpretasi hasil, bahkan ada sampel yang jumlah bakteri menurun dan meningkat, tetapi tidak mengubah interpretasi hasil positif pada sampel. Berdasarkan dari hasil ke tiga perlakuan di atas dapat disimpulkan bahwa tidak ada pengaruh waktu penyimpanan sampel sputum yang di gunakan untuk pemeriksaan Tuberkulosis, tetapi dengan anjuran bahwa sampel sebaiknya harus disimpan pada suhu 2 °C – 8 °C.

Kata Kunci : *Myobacterium tuberculosis*, ZN (Ziehl-Neelsen)

ABSTRACT

Nurprabowo, R. 2023. Effect of Sputum Sample Storage Time for Tuberculosis Examination with the ZN Method (Ziehl Neelsen). D4 Health Analyst Study Program, Faculty of Health Sciences, Setia Budi University.

Tuberculosis is a direct infectious disease caused by TB bacteria, namely *Mycobacterium tuberculosis*. The background of the researchers conducting research at the UPTD Health Laboratory in the Magetan Regency area was due to the frequent or large number of examinations being stored. The aim of the study was to determine the effect of storage time for sputum samples for tuberculosis examination using the ZN (Ziehl-Neelsen) method microscopically which was stored for 8 hours room temperature and 8 hours at 2°C – 8°C at UPT Regional Health Laboratory of Magetan Regency.

Research data was in the form of primary data in the form of sputum samples from the UPTD Health Centers in Magetan district which were sent to the UPT Regional Health Laboratory in Magetan Regency. The effect of storage time for sputum samples for tuberculosis examination using the Ziehl Neelsen method is interpreted using the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease (IUATLD) international scale.

The results of the 30 samples that were tested for TCM showed that 22 samples were confirmed positive and ZN was then examined with 3 treatments. Storage 0 hours to 8 hours at room temperature there is a change in the interpretation of the results where the number of bacteria increases causing a change in the positive results, whereas from storage 0 hours to 8 hours at 2 °C – 8 °C the results are exactly the same as the interpretation of the results, there are even samples in which the number of bacteria decreased and increased, but did not change the interpretation of a positive result in the sample. Based on the results of the three treatments above, it can be concluded that there was no effect on the storage time of the sputum samples used for tuberculosis examination, but with the recommendation that samples should be stored at a temperature of 2 °C – 8 °C..

Keywords : *Mycobacterium tuberculosis*, ZN (Ziehl-Neelsen)

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Tuberkulosis merupakan jenis penyakit dengan disebarkan langsung oleh bakteri tuberkulosis. Selain itu *Mycobacterium tuberkulosis*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium africanum*, dan *Mycobacterium leprae* (Departemen Kesehatan RI, 2018). *Mycobacterium tuberkulosis* ditemukan oleh Robert Koch dalam bentuk batang lurus yang membentuk rantai ramping dengan tinggi 2-4 μm dan lebar 0,2-0,5 μm . Mikroba ini sering disebut mikroba tahan asam karena mampu bertahan hidup pada lingkungan asam (Zanita, 2019).

Mycobacterium tuberculosis menyerang organ tubuh manusia, tepatnya pada bagian paru-paru. Penyakit yang bersifat menular melalui bakteri ini tersebar lewat udara dikala pasien TB bersin atau batuk. Pasien TB akan mengeluarkan droplet ke udara berupa dahak (*droplet nuclei*). Setiap satu kali batuk, pasien dapat mentransmisikan droplet sebanyak 3.000 percikan (Aja *et al*, 2022).

Sejumlah 10,4 juta kasus TB tercatat di tahun 2016, secara detail sejumlah 120 - 148 kejadian pada tiap 100.000 penduduk. Tingginya kasus itu terdapat pada negara Cina, Filipina, Pakistan, India, dan Indonesia. Riskesdas melaporkan bahwa tahun 2018, penduduk di negara Indonesia didiagnosis jenis TB Paru sebanyak 0,4%. Hasil yang sama juga ditunjukkan pada penelitian tahun 2013 tercatat angka kasus TB tertinggi terdapat di Papua dengan 0,8% dan Banten 0,8%, disusul Jawa Barat dengan 0,6% dan Aceh 0,5%.

Penggunaan Tes Cepat Molekuler (TCM) sangat disarankan oleh WHO untuk pemeriksaan awal pada pasien yang menderita penyakit *tuberkulosis* (TB) paru, serta pasien dengan TB paru yang diduga memiliki resistensi terhadap rifampisin. TCM memiliki sejumlah keunggulan, yakni tidak memerlukan tenaga kerja yang besar dan mampu memberikan diagnosis TB yang akurat dan cepat, sambil juga dapat mengidentifikasi ketahanan terhadap penggunaan rifampisin. Penggunaan TCM ini sudah mulai digunakan di 59 kabupaten maupun kota di Indonesia di tahun 2014-2015. Sedangkan pada akhir Desember 2016, mesin TCM sudah

didistribusikan di 143 fasilitas kesehatan di Indonesia, salah di puskesmas. Hingga akhir 2017, mesin TCM atau Gene Xpert *Mycobacterium tuberculosis* Rifampicin (MTB/RIF) sudah berhasil didistribusikan ke 600 fasilitas Kesehatan di Indonesia (Nelly, dkk., 2020).

Pemeriksaan dahak menggunakan mikroskop (mikroskopis) merupakan hal penting dalam penegakan terdeteksi pada pasien TB. Selain itu, penelitian ini menentukan klasifikasi pasien, keputusan untuk memulai pengobatan, dan kemajuan pasien. Keberhasilan pengendalian tuberkulosis ditentukan oleh hasil pemeriksaan laboratorium. Setiap fasilitas kesehatan yang melayani guna mengkonfirmasi TB, pemeriksaan BTA dengan mikroskop harus dilakukan oleh tenaga medis. Melalui penelitian Teguh Budiharjo di tahun 2016, pemeriksaan BTA dapat menunjukkan hasil optimal bergantung pada kualitas sputumnya. Sputum yang sehat memiliki beberapa butiran atau sedikit kental serta mengandung lendir, mengandung nanah dengan warna hijau sedikit kekuningan. Setelah pengambilan, sputum perlu dikirim ke laboratorium secepatnya dan segera dilakukan pemeriksaan, untuk menjamin mutu dahak tersebut dan mengoptimalkan hasil pemeriksaan. Jika sputum didiamkan pada suhu ruang ($\pm 24^{\circ}\text{C}$) dapat menyebabkan sputum menjadi encer, berbau tajam dan kualitasnya menjadi tidak baik. Dalam penelitian Budiharjo dan Adi di tahun 2016, tercatat bahwasannya sputum yang berkualitas adalah sputum yang memiliki kekentalan yang tinggi, memiliki warna hijau kekuningan, dan memiliki aroma yang khas. Pemeriksaan sputum, terutama yang dilakukan pada suhu dan didiamkan terlalu lama akan menyebabkan sputum akan mencair dan kemungkinan akan berpengaruh pada mutu sputum dan akurasi hasil diagnosis TB. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Yuliastri di tahun 2020, mencatat jika sputum dalam jangka waktu 1x24 jam dengan suhu 2°C sampai 8°C dapat mempengaruhi jumlah bakteri, dimana bakteri tersebut akan menjadi lebih sedikit dari jumlah sebelumnya. Tetapi, jumlah bakteri tetap berada dalam kategori interpretasi yang telah ditetapkan. Temuan ini sejalan dengan penelitian Kalma dan Adrika pada tahun 2018 yang menemukan tidak ada perbedaan signifikan jumlah AFB saat dahak diperiksa langsung dan disimpan selama 24 jam pada suhu $2-8^{\circ}\text{C}$. Oleh karena itu, dianjurkan untuk menyimpan dahak pada suhu dingin sekitar 2-

8°C dan dapat bertahan selama 48 jam. Kualitas yang berbeda ini akan mempengaruhi hasil pemeriksaan BTA mikroskopis pasien TB.

Sputum dapat dikatakan baik apabila memenuhi 6 syarat Standar kualitas sediaan sputum yang telah ditetapkan oleh Kementerian Kesehatan yaitu ukuran, ketebalan, pewarnaan, kualitas contoh uji kerataan dan kebersihan, seperti yang tercatat oleh Kemenkes RI di tahun 2017. Ketersediaan sputum juga dianggap berkualitas ketika memiliki bentuk yang oval, permukaan yang datar dan kokoh, serta memiliki panjang sekitar 3 cm dengan lebar sekitar 2 cm, menurut Kemenkes RI di tahun 2012. Sputum memenuhi persyaratan inilah kemudian akan disimpan di dalam pot transparan ideal dengan volume sputum 3,5- 5 ml (Kemenkes RI, 2022).

Ada banyak faktor yang dapat mempengaruhi penyimpanan spesimen sputum di fasilitas pelayanan kesehatan di Indonesia, diantaranya adalah beban kerja petugas pemeriksa yang tidak hanya memeriksa sputum TB saja sehingga terkadang sputum yang sudah di ambil tidak segera diperiksa dan disimpan pada suhu ruang untuk diperiksa di kemudian hari. Selain itu, jumlah laboratorium dengan tenaga pemeriksa yang sedikit juga masih banyak yang yang menunda pemeriksaan BTA mikroskopis dengan alasan keterbatasan sumber daya manusia dan banyaknya pasien TB sehingga pemeriksaan BTA dengan sputum yang disimpan sehari atau lebih menyebabkan pemeriksaan tidak berjalan optimal dan hasil pemeriksaan yang diberikan tidak akurat (Budiharjo dan Purjanto, 2016). Berdasarkan penelitian dari Hermansyah *et al*, 2022, purulent sputum yang tidak segera dilakukan pemeriksaan menyebabkan akan menyebabkan hasil pemeriksaan mikroskopis tidak akurat dan bisa saja menunjukkan hasil yang palsu.

Berdasarkan penjabaran diatas, peneliti melakukan penelitian di UPTD Laboratorium Kesehatan daerah Kabupaten Magetan karena masih sering atau banyaknya penyimpanan dan penundaan pemeriksaan sputum dengan segera karena adanya pekerjaan yang mengharuskan analis turun langsung ke lapangan sehingga terjadinya penyimpanan dan sampel harus di simpan. Selain itu letak puskesmas yang tidak dekat dari LABKESDA dan bahkan belum ada akomodasi atau lamanya pengiriman sampel yang di tujukan ke Laboratorium.

Hal ini menjadi alasan utama untuk meneliti tentang efek penyimpanan penanganan sputum untuk sampel Tuberkulosis apabila dilakukan penyimpanan dalam waktu tertentu dan dilakukan dengan menggunakan metode Bakteri Tahan Asam secara langsung di UPTD Laboratorium Kesehatan Daerah.

B. Perumusan Masalah

Mengacu pada penjelasan latar belakang yang telah diberikan, maka dapat diungkapkan permasalahan sebagai berikut:

“Bagaimana pengaruh waktu penyimpanan sampel sputum untuk pemeriksaan Tuberkulosis yang dilakukan perlakuan langsung diperiksa dan dilakukan penyimpanan 8 jam pada suhu ruang dengan 8 jam dalam suhu $2^{\circ}\text{C} - 8^{\circ}\text{C}$?”

C. Tujuan Penelitian

Mengetahui pengaruh waktu penyimpanan sampel sputum terhadap hasil pemeriksaan tuberkulosis dengan menggunakan metode ZN (Zihl-Neelsen) secara mikroskopis yang dilakukan penyimpanan 8 jam suhu ruang dan 8 jam pada suhu $2^{\circ}\text{C} - 8^{\circ}\text{C}$ di UPT Laboratorium Kesehatan Daerah Kabupaten Magetan.

D. Manfaat Penelitian

1. Menyempurnakan pemahaman tenaga kesehatan tentang dampak penyimpanan sampel sputum terhadap interpretasi hasil uji dengan metode ZN (Zihl Neelsen) pada individu yang menderita tuberkulosis.
2. Memperkuat peran tenaga kesehatan dalam memberikan pendidikan kesehatan tentang penelitian tuberkulosis kepada masyarakat.