

**GAMBARAN HASIL PERBANDINGAN PEMERIKSAAN  
MIKROSKOPIS BASIL TAHAN ASAM DENGAN VARIASI  
CARBOL FUCHSIN DAN METHYLEN BLUE**

**SKRIPSI**

**Diajukan sebagai salah satu syarat menyelesaikan  
Pendidikan Diploma IV Kesehatan  
Program Studi Analis Kesehatan**



**Diajukan Oleh :**

**Alvinova Adriyani  
NIM. G1C215060**

**PROGRAM STUDI D IV ANALIS KESEHATAN  
FAKULTAS ILMU KEPERAWATAN DAN KESEHATAN  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SEMARANG**

**2016**

## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini telah diajukan pada sidang Ujian Jenjang Pendidikan Tinggi Diploma IV Kesehatan Program Studi Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang.

Tanggal Sidang, 15 September 2016

### Susunan Tim Penguji

No	Nama	Nara Sumber	Tanda Tangan	Tanggal
1	Dr. Sri Darmawati, M.Si	Penguji I		
2	Dra. Sri Sinto Dewi, M.Si.Med	Penguji II		
3	Muhammad Evy Prastiyanto, M.Sc	Penguji III		

## HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi dengan judul “ Gambaran Hasil Perbandingan Pemeriksaan Mikroskopis Basil Tahan Asam Dengan Variasi Carbol Fuchsin dan Methyelen Blue” oleh Alvinova Adriyani (NIM G1C215060).

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan D IV Kesehatan Program Studi Analis Kesehatan .

Telah disetujui oleh :

Pembimbing I

Pembimbing II

**Dra. Sri Sinto Dewi, M.Si. Med**

**NIK. 28.6.1026.034**

**Muhammad Evy Prastiyanto, M. Sc**

**NIK. 28.6.1026.297**

**Tanggal, September 2016**

**Tanggal, September 2016**

**Mengetahui :**

**Ketua Program Studi D IV Analis Kesehatan  
Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan**

**Dra. Sri Sinto Dewi, M.Si. Med**

**NIK. 28.6.1026.034**

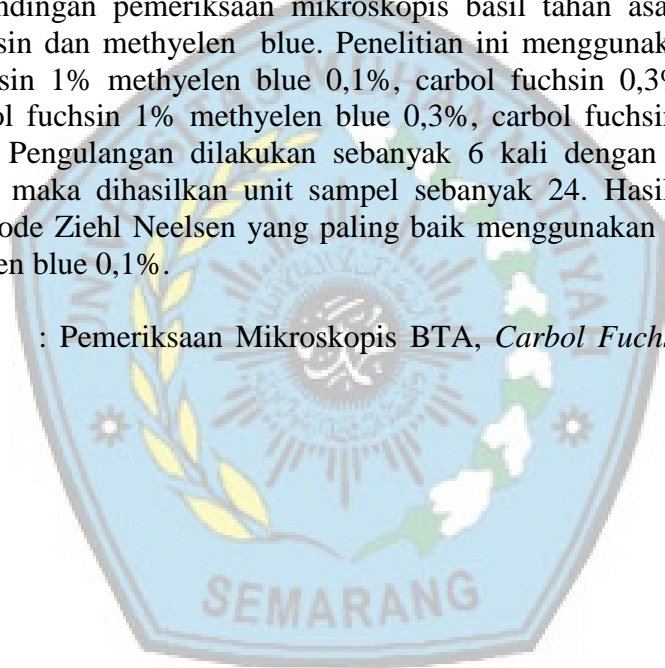
**GAMBARAN HASIL PERBANDINGAN PEMERIKSAAN MIKROSKOPIS  
BASIL TAHAN ASAM DENGAN VARIASI CARBOL FUCHSIN DAN  
METHYLEN BLUE**

Alvinova Adriyani<sup>1</sup>, Sri Sinto Dewi<sup>2</sup>, Muhammad Evy Pratiyanto<sup>2</sup>

**ABSTRAK**

Tuberkulosis (TB) merupakan salah satu penyakit yang sampai saat ini masih menjadi penyebab utama kematian di dunia terutama di Indonesia. Penegakan diagnosis TB melalui pemeriksaan mikroskopis merupakan kunci utama untuk memulai pengobatan. Secara global disepakati pemeriksaan dahak dengan menggunakan metode Ziehl Neelsen yang terdiri dari carbol fuchsin, alcohol asam, methyelen blue. Tujuan penelitian untuk mengetahui gambaran hasil perbandingan pemeriksaan mikroskopis basil tahan asam dengan variasi carbol fuchsin dan methyelen blue. Penelitian ini menggunakan metode variasi carbol fuchsin 1% methyelen blue 0,1%, carbol fuchsin 0,3% methyelen blue 0,1%, carbol fuchsin 1% methyelen blue 0,3%, carbol fuchsin 0,3% methyelen blue 0,3%. Pengulangan dilakukan sebanyak 6 kali dengan jumlah perlakuan sebanyak 4 maka dihasilkan unit sampel sebanyak 24. Hasil pewarnaan BTA dengan metode Ziehl Neelsen yang paling baik menggunakan carbol fuchsin 1% dan methyelen blue 0,1%.

Kata kunci : Pemeriksaan Mikroskopis BTA, *Carbol Fuchsin* dan *Methyelen Blue*



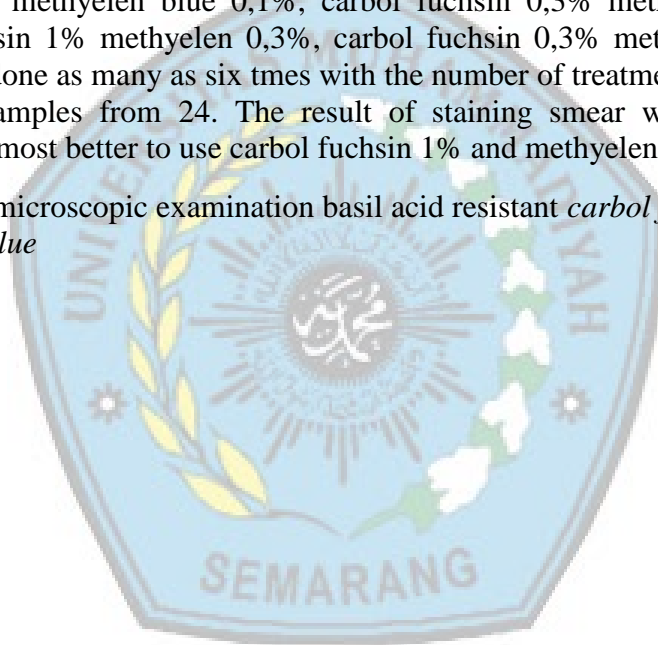
**DESCRIPTION OF MICROSCOPIC EXAMINATION RESULTS COMPARED  
WITH BASIL RESISTANT ACID AND VARIATION CARBOL FUCHSIN  
METHYLEN BLUE**

Alvinova Adriyani<sup>1</sup>, Sri Sinto Dewi<sup>2</sup>, Muhammad Evy Pratiyanto<sup>2</sup>

**ABSTRACT**

Tuberculosis (TB) is one disease that until recently was is still a the main cause of death of the world especially in Indonesia. The diagnosis of tuberculosis enforcement through microscopic examination is the key main to start treatment. Globally agreed examination phlegm by using the method ziehl neelsen consisting of carbol fuchsin, alcohol acid, methyelen blue. The purpose of research know the picture the result of comparison microscopic examination basil acid resistant with variations carbol fuchsin and methyelen blue. This research in a variation carbol fuchsin 1% methyelen blue 0,1%, carbol fuchsin 0,3% methyelen blue 0,1%, carbol fuchsin 1% methyelen 0,3%, carbol fuchsin 0,3% methyelen blue 0,3%. Repetition done as many as six tmes with the number of treatment as much as 4 so produced samples from 24. The result of staining smear with methods ziehl neelsen the most better to use carbol fuchsin 1% and methyelen blue 0,1%

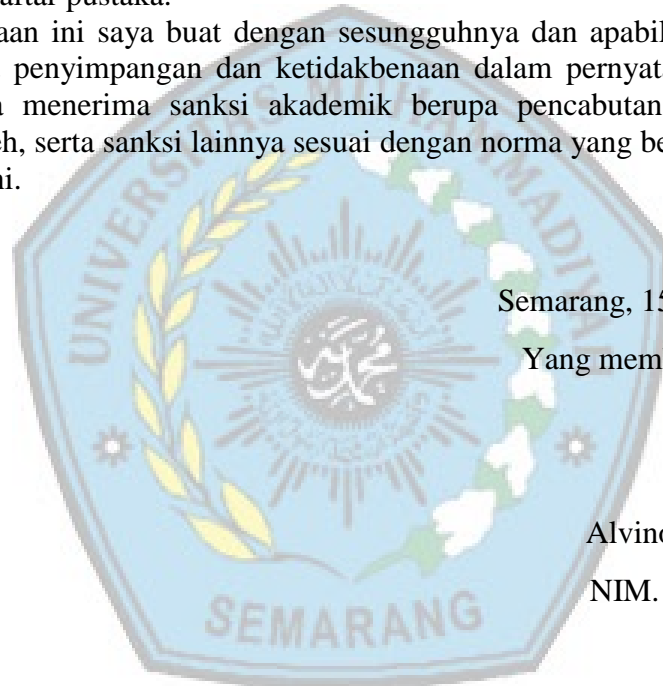
Password : microscopic examination basil acid resistant *carbol fuchsin* and *methyelen blue*



## **SURAT PERNYATAAN ORIGINALITAS**

Dengan ini saya menyatakan bahwa :

1. Skripsi ini asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik (sarjana), baik di Universitas Muhammadiyah Semarang maupun di perguruan tinggi lain.
2. Skripsi ini murni gagasan, rumusan, dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan pihak lain, kecuali arahan Tim Pembimbing dan masukan Tim Penguji.
3. Dalam skripsi ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai sumber acuan dengan disebutkan nama pengarang dan di cantumkan dalam daftar pustaka.
4. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila dikemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaan dalam pernyataan ini maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh, serta sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi ini.



Semarang, 15 September 2016

Yang membuat pernyataan,

Alvinova Adriyani

NIM. G1C215060

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan segala rahmat, hidayah dan inayah-Nya, sholawat dan salam kepada junjungan kita Baginda Rasulullah SAW beserta keluarga dan para Sahabat-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul “Gambaran Hasil Perbandingan Pemeriksaan Mikroskopis Basil Tahan Asam Dengan Variasi Carbol Fuchsin dan Methylen Blue”. Penyusunan skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan Diploma IV Analis Kesehatan di Universitas Muhammadiyah Semarang. Penulis menyadari bahwa terselesainya Tugas Akhir ini tidak lepas dari bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu pada kesempatan ini, Penulis menyampaikan ucapan Terima Kasih kepada:

1. Ibu Dra. Sri Sinto Dewi, M.Si. Med, selaku pembimbing pertama yang dengan sabar dan telaten memberikan bimbingan, saran koreksi dan petunjuk bagi penulis sehingga skripsi ini dapat diselesaikan.
2. Bapak Muhammad Evy Prastiyanto, M. Sc, selaku pembimbing kedua yang dengan sabar memberikan bimbingan, saran, koreksi dan petunjuk bagi penulis sehingga skripsi ini dapat diselesaikan.
3. Ibu Dra. Sri Sinto Dewi, M.Si. Med, selaku Ketua Program Studi DIV Analis Kesehatan yang memberikan kesempatan dan petunjuk bagi penulis sehingga skripsi ini dapat diselesaikan.
4. Rekan – Rekan dan Semua pihak yang tidak dapat penulis sebut satu per satu yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari masih banyak ketidak sempurnaan dan kekurangan dalam penulisan tugas akhir ini. Penulis berharap masukan, kritik dan saran yang dari semua pihak. Semoga tugas akhir ini bermanfaat dan menambah wawasan bagi pembaca.

Semarang, Agustus 2016

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>ABSTRAK.....</b>	<b>iv</b>
<b>SURAT PERNYATAAN ORIGINALITAS.....</b>	<b>vi</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xi</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	5
C. Tujuan Penelitian.....	5
D. Ruang Lingkup Penelitian.....	5
E. Manfaat Penelitian.....	6
F. Orisinalitas Penelitian .....	7
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
A. Tinjauan Teori .....	8
1. Basil Tahan Asam .....	8
2. <i>Mycobacterium Tuberculosis</i> .....	9
3. Patogenesis.....	11
4. Penegakkan Diagnosis .....	12
5. Pewarnaan Metode Ziehl Neelsen.....	16
6. Carbol Fuchsin .....	18
7. Asam Alkohol .....	19
8. Methyelen Blue .....	19
9. Reagensia yang diperlukan untuk Pewarnaan.....	19
10. Pembacaan Mikroskopis Sediaan.....	22



B. Kerangka Teori.....	26
C. Kerangka Konsep .....	27
D. Hipotesis.....	28
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN</b>	
A. Jenis Penelitian.....	29
B. Desain Penelitian.....	29
C. Variabel Penelitian .....	30
D. Definisi Operasional.....	32
E. Sampel Penelitian.....	32
F. Tempat dan Waktu Penelitian .....	33
G. Instrumen Penelitian.....	33
H. Prosedur Penelitian.....	33
I. Teknik Pengumpulan Data.....	37
J. Pengolahan dan Analisis Data.....	37
<b>BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN</b>	
A. Hasil Penelitian .....	38
B. Pembahasan.....	40
<b>BAB V PENUTUP</b>	
A. Kesimpulan.....	43
B. Saran.....	43
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	
<b>LAMPIRAN</b>	

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Keaslian Penelitian .....	7
Tabel 2. Kombinasi Perlakuan dan Pengulangan .....	30
Tabel 3. Kualitas Pewarnaan .....	31
Tabel 4. Definisi Operasional .....	32
Tabel 5. Variasi pewarnaan menggunakan carbol fuchsin dengan methyelen blue pada 6 kali Perlakuan.....	38



## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Pembacaan Sediaan Dahak.....	23
Gambar 2. Pengecatan Sediaan dengan Meggunakan Ziehl Neelsen .....	36
Gambar 3. Hasil Variasi Pewarnaan Carbol Fuchsin dan Methyelen Blue..	39



# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Tuberkulosis (TB) merupakan salah satu penyakit yang sampai saat ini masih menjadi penyebab utama kematian di dunia. Prevalensi TB di negara-negara berkembang lainnya cukup tinggi. Diperkirakan sekitar sepertiga penduduk dunia telah terinfeksi oleh *Mycobacterium tuberculosis*. Pada tahun 1995, diperkirakan ada 9 juta pasien TB baru dan 3 juta kematian akibat TB. Di negara – negara berkembang kematian TB merupakan 25 % dari seluruh kematian yang sebenarnya dapat di cegah. Diperkirakan 95 % kasus TB dan 98 % kematian akibat TB di dunia terjadi pada negara- negara berkembang. Kematian wanita karena TB lebih banyak dari pada kematian wanita karena kehamilan, persalinan dan nifas. Menyikapi hal tersebut, pada tahun 1993 WHO mencanangkan TB sebagai kedaruratan dunia (*global emergency*) (Kemenkes,2012).

Tahun 2006, kasus baru di Indonesia berjumlah >600.000 dan sebagian besar diderita oleh masyarakat yang berada dalam usia produktif (15–55 tahun). Angka kematian karena infeksi TB berjumlah sekitar 300 orang per hari dan terjadi >100.000 kematian per tahun. Hal tersebut merupakan tantangan bagi semua pihak untuk terus berupaya mengendalikan infeksi ini. Salah satu upaya penting untuk menekan penularan TB di masyarakat adalah dengan melakukan diagnosis dini yang definitif (Saptawati,2004).

Indonesia berada pada peringkat 5 negara dengan beban TB terbanyak di dunia dengan insidensi 429.000 per tahun setelah sebelumnya berada pada peringkat 3 dengan insidensi 528.000 per tahun (Global Report WHO,2009). Sekitar 75 % pasien TB adalah kelompok usia yang paling produktif secara ekonomis (15 – 50 tahun) (Kemenkes,2012).

Tuberkulosis (TB) adalah penyakit infeksi menular disebabkan oleh bakteri tuberkulosis (*Mycobacterium tuberculosis*) umumnya menyerang paru, tetapi bisa juga menyerang bagian tubuh lainnya seperti kelenjar getah bening, selaput otak, kulit, tulang dan persendian, usus, ginjal dan organ tubuh lainnya. TB sangat berbahaya karena bisa menyebabkan seseorang meninggal dan sangat mudah ditularkan kepada siapa saja dimana 1 orang pasien TB dengan BTA positif bisa menularkan kepada 10-15 orang disekitarnya setiap tahun (PPTI,2010).

*Mycobacterium tuberculosis* sangat mudah menular pada orang lain karena penularannya melalui udara yang tercemar dengan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang dilepaskan penderita TB paru pada saat batuk dalam bentuk droplet infection (Masriady,2012).

Penegakan diagnosis TB melalui pemeriksaan mikroskopis merupakan kunci utama untuk memulai pengobatan. Secara global telah disepakati pemeriksaan mikroskopis dahak dengan menggunakan pewarnaan metode *Ziehl Neelsen*. Zat warna yang digunakan dalam pewarnaan *Ziehl Neelsen* adalah carbol fuchsin, asam alkohol dan methylen blue. Carbol fuchsin merupakan fuchsin basa yang dilarutkan

dalam larutan fenol. Fenol digunakan sebagai pelarut untuk membantu pemasukan zat warna ke dalam sel bakteri sewaktu proses pemanasan. Fungsi pemanasan untuk melebarkan pori-pori lemak BTA sehingga carbol fuchsin bisa masuk walaupun BTA dicuci dengan larutan dekolorisasi yaitu asam alkohol sehingga zat warna pertama tidak mudah dilunturkan. BTA dalam sediaan dahak kemudian dicuci dengan air mengalir untuk menutup pori-pori dan menghentikan dekolorisasi. Bakteri tahan asam akan terlihat berwarna merah sedangkan bakteri tidak tahan asam akan melarutkan carbol fuchsin sehingga sel bakteri tidak berwarna merah. Setelah penambahan zat warna kedua yaitu methylen blue, bakteri tidak tahan asam akan berwarna biru.

Beberapa faktor yang mempengaruhi untuk mendapatkan hasil pemeriksaan laboratorium mikroskopik dahak yang bermutu, antara lain sumber daya manusia, peralatan terutama mikroskop, serta reagensia larutan pewarna *Ziehl Neelsen* (ZN). Saat ini terdapat banyak reagen ZN yang beredar dengan kualitas yang bervariasi. Terlebih lagi dengan adanya kebijakan otonomi daerah menyebabkan Kabupaten / Kota dan propinsi mempunyai wewenang untuk melakukan pengadaan reagen sendiri. Agar hasil pemeriksaan mikroskopis BTA terjamin mutunya, maka perlu dilakukan standarisasi reagen ZN (Depkes, 2008).

Telah dilakukan penelitian oleh Selvakumar, 2005 bahwa penggunaan konsentrasi carbol fuchsin 0,3% dapat mengakibatkan berkurangnya BTA positif sebesar 20% sehingga kurang sensitif

dibandingkan dengan penggunaan konsentrasi carbol fuchsin 1% pada pewarnaan metode Ziehl Neelsen.

*World Health Organization* (WHO) telah merekomendasikan strategi *Directly Observed Treatment Shorthcourse* (DOTS) sebagai strategi dalam pengendalian TB sejak tahun 1995 yang salah satu komponen kuncinya adalah penemuan kasus melalui pemeriksaan dahak mikroskopis yang terjamin mutunya. Mutu hasil pemeriksaan dahak secara mikroskopis perlu didukung oleh reagen yang berkualitas. Tahun 2013 *Global Laboratory Initiative* (GLI) yang merupakan kelompok kerja dibawah naungan WHO mengeluarkan pedoman mikroskopis TB yang menyebutkan bahwa penggunaan konsentrasi carbol fuchsin 1%. Hal tersebut dinyatakan dalam surat edaran nomor HK.03.03/I/4002/2014 tentang “Perubahan Konsentrasi Carbol Fuchsin untuk Pemeriksaan Mikroskopis TB” oleh Kementerian Kesehatan RI tahun 2014.

Mengingat pentingnya pewarnaan BTA pada sputum, yang dapat mendukung diagnosis tuberkulosis maka penelitian ini bertujuan untuk membandingkan variasi pewarnaan carbol fuchsin 1% dengan methylen blue 0,1%; carbol fuchsin 0,3 % dengan methylen blue 0,1 %; carbol fuchsin 1% dengan methylen blue 0,3 %; carbol fuchsin 0,3% dengan methylen blue 0,3 %, pada pewarnaan bakteri tahan asam pada penderita tuberculosi.

## **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang diatas dapat dirumuskan suatu masalah sebagai berikut : “Bagaimanakah gambaran hasil perbandingan pemeriksaan mikroskopis BTA dengan variasi carbol fuchsin dan methyelen blue ?

## **C. Tujuan Penelitian**

### 1. Tujuan Umum

Mengetahui gambaran hasil perbandingan pemeriksaan mikroskopis BTA dengan variasi carbol fuchsin dan methyelen blue.

### 2. Tujuan Khusus

- a. Mengetahui gambaran perbandingan variasi pewarnaan menggunakan carbol fuchsin 1% dengan methyelen blue 0,1%;
- b. Mengetahui gambaran perbandingan variasi pewarnaan menggunakan carbol fuchsin 0,3 % dengan methylen blue 0,1 %;
- c. Mengetahui gambaran perbandingan variasi pewarnaan menggunakan carbol fuchsin 1 % dengan methylen blue 0,3 %;
- d. Mengetahui gambaran perbandingan variasi pewarnaan menggunakan carbol fuchsin 0,3 % dengan methyelen blue 0,3 %;
- e. Menganalisis variasi pewarnaan yang paling baik.

## **D. Ruang Lingkup Penelitian**

Ruang lingkup penelitian adalah di bidang mikrobiologi.



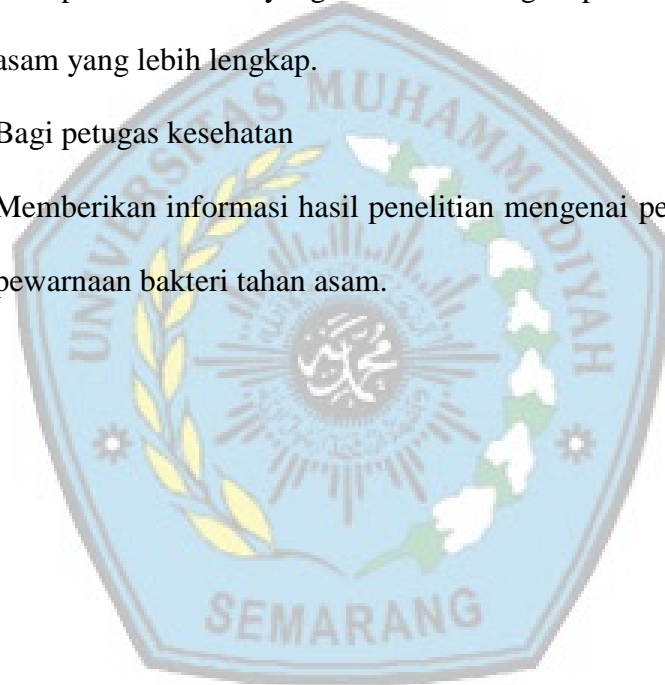
## **E. Manfaat Penelitian**

### 1. Bagi Masyarakat Instansi Kesehatan

Memberikan informasi khususnya tenaga kesehatan paramedis laboratorium kesehatan tentang hasil penelitian mengenai variasi carbol fuchsin dan methyelen blue pada pewarnaan bakteri tahan asam yang sudah dilakukan oleh peneliti agar dilakukan penelitian lanjutan atau penelitian lain yang berkaitan dengan pewarnaan bakteri tahan asam yang lebih lengkap.

### 2. Bagi petugas kesehatan

Memberikan informasi hasil penelitian mengenai perbandingan variasi pewarnaan bakteri tahan asam.



## F. Orisinalitas Penelitian

Adapun penelitian sebelumnya yang sejenis dengan penelitian ini, namun berbeda judul dan variabel yang diteliti. Penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya, antara lain

**Tabel 1. Keaslian Penelitian**

NO	PENGARANG	JUDUL	HASIL
1	N.Selvakumar, M.Gomathi Sekar, F.Rahman, A.Syamsunder, M.Duraipandian, F.Wares, P.R.Narayanan(2005)	Perbandingan variasi larutan carbol fuchsin 0,3 % dengan 1% pada pewarnaan Ziehl Neelsen untuk mendeteksi BTA	Ada perbedaan pada perbandingan variasi carbol fuchsin pada pewarnaan Ziehl Neelsen untuk mendeteksi BTA
2	Jaya Chandra T, Selvaraj R, Sharma Y.V(2013)	Perbandingan variasi carbol fuchsin dan phenol pada pewarnaan Ziehl Neelsen untuk mendeteksi BTA	Ada perbedaan pada perbandingan variasi carbol fuchsin dan phenol pada pewarnaan Ziehl Neelsen untuk mendeteksi BTA

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tinjauan Teori**

##### **1. Basil Tahan Asam**

Bakteri Tahan Asam adalah jenis bakteri yang tidak dapat diwarnai dengan pewarnaan anilin biasa kecuali dengan menggunakan fenol dan dengan pemanasan. Bakteri ini memiliki dinding sel berlilin karena mengandung sejumlah besar materi lipoidal oleh karena itu bakteri ini hanya dapat diwarnai dengan pewarnaan BTA (Acid-FastStain). Dinding sel hidrofobik dan impermeabel terhadap pewarnaan dan bahan kimia lain pada cairan atau larutan encer. Ketika proses pewarnaan, bakteri tahan asam ini melawan dekolorisasi dengan asam sehingga bakteri tersebut disebut bakteri tahan asam (Ball,1997).

Bakteri yang pada pengecatan Ziehl-Neelsen (ZN) tetap mengikat warna pertama, tidak luntur oleh asam dan alkohol, sehingga tidak mampu mengikat warna kedua. Bakteri tersebut ketika diamati dibawah mikroskop tampak berwarna merah dengan warna dasar biru muda. Basil tahan asam juga dapat dikatakan sebagai bakteri yang memiliki kandungan lemak sangat tebal sehingga dalam pewarnaannya tidak dapat dipengaruhi oleh reaksi pewarna lainnya.

Pada kelompok bakteri tersebut disebut dengan bakteri tahan asam (BTA), pada saat pencucian pertama dapat mempertahankan warnanya dengan pelarut pemucat.

Bakteri yang memiliki ciri- ciri yaitu berantai karbon ( C ) yang panjangnya 8 – 95 dan memiliki dinding sel yang tebal yang terdiri dari lapisan lilin dan asam lemak mikolat, lipid yang ada bisa mencapai 60 % dari berat dinding sel ( Syahrurachman,1994).

## 2. *Mycobacterium Tuberculosis*

Tuberculosis adalah penyakit yang menular akut maupun kronis yang terutama menyerang paru, yang disebabkan oleh bakteri tahan asam (BTA) yang bersifat batang gram positif. Golongan bakteri ini biasanya bersifat patogen pada manusia bakteri tersebut dinamakan *Mycobacterium tuberculosis* (Buntuan,2014).

Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* adalah bakteri yang dapat menyebabkan penyakit tuberculosis (TBC). Sumber penularan TB adalah pasien TB BTA positif yang pada waktu batuk atau bersin mengeluarkan percikan dahak (*droplet nuklei*). Sekali batuk dapat menghasilkan 3000 percikan dahak. Melalui udara yang tercemar oleh *Mycobacterium tuberculosis* yang dilepaskan / dikeluarkan oleh penderita TB paru saat batuk. Bakteri akan masuk ke dalam paru-paru dan berkumpul hingga berkembang menjadi banyak terutama pada orang yang memiliki daya tahan tubuh rendah. Sementara, bagi yang mempunyai daya tahan tubuh baik, maka penyakit TB paru tidak akan terjadi. Tetapi bakteri akan tetap

ada di dalam paru dalam keadaan "tidur", namun jika setelah bertahun-tahun daya tahan tubuh menurun maka bakteri yang "tidur" akan "bangun" dan menimbulkan penyakit. Daya penularan seorang pasien ditentukan oleh banyaknya kuman yang dikeluarkan dari parunya. Makin tinggi derajat kepositifan hasil pemeriksaan dahak, makin menular pasien tersebut. Faktor yang memungkinkan seseorang terpajan kuman TB ditentukan oleh konsentrasi percikan dahak dalam udara dan lamanya menghirup udara tersebut. (Depkes,2012).

Mikobacteria berbentuk basil, merupakan bakteri aerobik yang tidak membentuk spora, bersifat aerob obligat yang tumbuh lambat dengan waktu generasi 12 jam atau lebih. *Mycobacterium tuberculosis* tidak terwarnai dengan baik, segera setelah diwarnai mempertahankan dekolonisasi oleh asam atau alkohol, oleh karena itu dinamakan basil "cepat asam".

a. Taksonomi menurut "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology" (edisi 8, 1974).

Kingdom : Procaryotae

Phylum : Bacteria

Class : Schizomycetes

Ordo : Actinomycetales

Family : Mycobacteriaceae

Genus : Mycobacterium

Species : *M. Tuberculosis*

<http://lib.unimus.ac.id>

## b. Morfologi

Bakteri TB paru yang disebut *Mycobacterium tuberculosis* dapat dikenali karena berbentuk batang berukuran panjang 1-4 mikron dan tebal 0,3-0,6 mikron, obligat, tidak membentuk spora, tidak motil, tidak berkapsul, dan bersifat tahan terhadap penghilang zat warna dengan asam alkohol sehingga dikenal sebagai bakteri tahan asam (BTA). Sebagian besar bakteri terdiri dari asam lemak dan lipid, yang membuat lebih tahan asam. Bisa bertahan hidup bertahun-tahun. Sifat lain adalah bersifat aerob, lebih menyukai jaringan kaya oksigen (Lestari,2005).

Secara khas bakteri berbentuk granula dalam paru menimbulkan nekrosis atau kerusakan jaringan. Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* akan cepat mati dengan sinar matahari langsung, tetapi dapat bertahan hidup beberapa jam di tempat gelap dan lembab. Dalam jaringan tubuh dapat dormant, tertidur lama selama bertahun tahun (Achmadi,2008).

## 3. Patogenesis

Terdapat perbedaan yang jelas dalam hal kemampuan berbagai *Mycobacterium* untuk menyebabkan lesi pada berbagai spesies inang. *Mycobacterium tuberculosis* dan *Mycobacterium bovis* sama-sama patogenik terhadap manusia. Jalur infeksi melalui saluran pernafasan atau saluran pencernaan menentukan pola lesi. Mikroorganisme ini tidak menghasilkan toksin. Organisme dalam droplet sebesar 1-5  $\mu\text{m}$  terhirup

dan mencapai alveoli. Organisme yang virulen akan menetap dan berkembang biak serta berinteraksi dengan inang sehingga menimbulkan penyakit. Basil tidak virulen yang disuntikkan misalnya BCG hanya dapat hidup selama beberapa bulan atau beberapa tahun inang normal. Resistensi dan hipersensitivitas inang sangat mempengaruhi perjalanan penyakit. Pembentukan dan perkembangan lesi serta penyembuhan terutama ditentukan oleh jumlah Mycobacterium dalam inokulum dan perkembangbiakan selanjutnya resistensi dan hipersensitivitas dari inang (Jawetz,2007).

#### 4. Penegakkan Diagnosis

Berdasarkan 5 elemen strategi DOTS (*Directly Observed Treatment Shortcourse*) yang salah satu komponennya adalah diagnosis dengan mikroskop merupakan komponen penting dalam penerapan strategi tersebut, baik untuk menegakkan diagnosis maupun *follow up* pasien. Selain itu hasil pemeriksaan dahak yang bermutu merupakan hal penting untuk menetapkan klasifikasi penderita, sehingga mutu hasil laboratorium merupakan inti keberhasilan penanggulangan tuberculosis. Langkah-langkah dalam pemeriksaan dahak secara mikroskopis adalah:

##### a. Pengumpulan Contoh Uji Dahak

##### 1. Persiapan pasien

Sebagai persiapan bagi pasien, pasien harus diberitahu bahwa uji dahak sangat bernilai untuk menentukan status penyakitnya, karena itu anjuran pemeriksaan dahak Sewaktu (S), Pagi (P), Sewaktu (S)

untuk pasien baru serta Sewaktu (S) dan Pagi (P) untuk pasien dalam pemantauan pengobatan harus dipenuhi. Dahak yang baik adalah yang berasal dari saluran nafas bagian bawah, berupa lendir yang berwarna kuning kehijauan (mukopurulen). Pasien berdahak dalam keadaan perut kosong, sebelum makan / minum dan membersihkan rongga mulut terlebih dahulu dengan berkumur dengan air bersih. Bila ada kesulitan berdahak, pasien harus diberi obat ekspektoran yang dapat merangsang pengeluaran dahak dan diminum pada malam sebelum mengeluarkan dahak (Kemenkes,2012).

**2. Persiapan alat yang diperlukan adalah sebagai berikut :**

Pot dahak bersih dan kering dengan diameter mulut pot 6 cm, transparan, berwarna bening, bertutup ulir. Pot tidak boleh bocor. Sebelum diserahkan kepada pasien, pot dahak harus sudah diberi identitas sesuai identitas/ nomor register (pada form TB 05) ; Formulir Permohonan Pemeriksaan Laboratorium (TB 05) ; Label, pensil, spidol (Kemenkes,2012).

**3. Cara pengeluaran dahak yang baik**

Pada saat berdahak, aerosol/ percikan dapat menulari orang yang ada di sekitarnya. Karena itu tempat berdahak adalah ruang khusus yang jauh dari kerumunan orang, apabila di ruang terbuka harus dengan sinar matahari langsung dan apabila di ruang tertutup harus dengan ventilasi yang baik.



Cara berdahak :

Kumur-kumur dengan air bersih sebelum mengeluarkan dahak, bila memakai gigi palsu, lepaskan sebelum berkumur lalu tarik nafas dalam (2-3 kali), buka tutup pot, dekatkan ke mulut, berdahak dengan kuat dan ludahkan ke dalam pot dahak, tutup pot yang berisi dahak dengan rapat, pasien harus mencuci tangan dengan air dan sabun antiseptik (Kemenkes RI, 2012).

Waktu pengambilan dahak :

- 1) S (Sewaktu, pertama) : Dahak dikumpulkan saat datang pada kunjungan pertama ke laboratorium;
- 2) P (Pagi) : Dahak dikumpulkan pagi segera setelah bangun tidur pada hari ke-2, dibawa langsung oleh pasien ke laboratorium
- 3) S (Sewaktu, kedua) : Dahak dikumpulkan di laboratorium pada hari ke-2 saat menyerahkan dahak pagi.

Adapun kualitas dahak yang baik dapat dilihat dari :

- 1) Volume : 3,5 – 5 ml
- 2) Kekentalan: mukoid
- 3) Warna : hijau kekuningan (purulen) (Kemenkes, 2012).

Dahak yang sudah diserahkan kepada petugas

laboratorium harus segera diperiksa, karena stabilitas spesimen dahak dapat berubah. Faktor-faktor yang mempengaruhi stabilitas spesimen dahak antara lain :

- 1) Suhu : apabila terjadi penundaan pemeriksaan, dahak dapat disimpan dalam lemari es (suhu 2-8<sup>0</sup>C) untuk satu hari saja (Depkes,2009).
- 2) Waktu : spesimen dahak diambil pada pagi hari dimasukkan dalam wadah steril dan diproses dalam waktu 2 jam (Depkes, 2009).
- 3) Paparan sinar matahari: sinar matahari dapat membunuh kuman BTA (Kemenkes,2012).

b. Pembuatan Sediaan Dahak

1) Peralatan pemeriksaan sediaan dahak

Untuk pembuatan sediaan apus dibutuhkan peralatan sebagai berikut: BSC ( Bio Safety Cabinet ), Kaca sediaan yang baru dan bersih, sebaiknya frosted end slide, Bambu/ lidi, Wadah pembuangan lidi bekas, Desinfektan ( lisol 5%, alkohol 70%, hipoklorit 0,5%)

2) Pemberian identitas

Sebelum melaksanakan pembuatan sediaan dahak, terlebih dulu kaca sediaan yang diberi identitas dengan menuliskan pada bagian frosted atau diberi label dengan nomor identitas sesuai dengan Form TB 05.

3) Pemilihan contoh uji dahak yang berkualitas

Pilih dahak yang kental berwarna kuning kehijauan, ambil dengan lidi yang ujungnya berserabut kira-kira sebesar biji kacang hijau.

4) Pembuatan sediaan dahak sesuai standar

Pembuatan sediaan dahak sesuai standar terdiri dari :

a) Pembuatan sediaan dahak

Ambil contoh uji dahak pada bagian yang purulen dengan lidi kemudian sebarkan diatas kaca sediaan dengan bentuk oval ukuran 2x3 kemudian ratakan dengan gerakan spiral kecil-kecil. Jangan membuat gerakan spiral bila sediaan dahak sudah kering karena akan menyebabkan aerosol.

b) Pengeringan

Pengeringan dilakukan pada suhu kamar kemudian masukan lidi bekas kedalam wadah berisi desinfektan

c) Fiksasi

Fiksasi dilakukan dengan memegang kaca sediaan dengan pinset, pastikan kaca sediaan menghadap ke atas. Lewatkan sediaan diatas api bunsen yang berwarna biru 2-3 kali selama 1-2 detik (Kemenkes,2012).

## 5. Pewarnaan metode Ziehl Neelsen

Pewarna Ziehl-Neelsen, juga dikenali sebagai pewarna tahan asid, pertamakali ditemukan oleh dua orang doktor Jerman; Franz Ziehl 1859

hingga 1926), pakar bakteri bakteriologi dan Friedrich Neelsen (1854 hingga 1894), ahli patologi. ZN merupakan pewarna bakteri khas yang digunakan organisme tahan asid, terutama Mycobacteria. ZN membantu mendiagnosis *Mycobacterium tuberculosis* kerana dinding lipid yang banyak selnya.

Pewarnaan Ziehl Neelsen merupakan pewarnaan diferensial, artinya pewarnaan yang menggunakan lebih dari satu macam zat warna, seperti pewarnaan gram dan pewarnaan tahan asam, dapat membedakan bakteri tahan asam dengan bakteri yang bukan tahan asam.

Pada dasarnya prinsip pewarnaan *Mycobacterium* yang dinding selnya tahan asam karena mempunyai lapisan lemak atau lilin, sehingga sukar ditembus cat. Oleh pengaruh phenol dan pemanasan, maka lapisan lilin dapat ditembus oleh cat Basic Fuchsin. Pada pengacatan Ziehl Neelsen setelah BTA mengambil warna basic fuchsin, kemudian dicuci dengan air mengalir, lapisan lilin yang terbuka pada waktu dipanasi akan merapat kembali, karena terjadi pendinginan pada waktu dicuci. Sewaktu dituangi dengan HCl dan Alkohol 70%, warna merah dari basic fuchsin pada BTA tidak akan dilepas atau luntur. Bakteri yang tidak tahan asam akan melepaskan warna merah, sehingga menjadi pucat atau tidak berwarna. Akhirnya pada waktu dicat dengan Methylene Blue, BTA tidak mengambil warna biru. (Kumala,2006).

## 6. Carbol fuchsin

Fuchsine pertama kali dibuat oleh August Wilhelm von Hofmann dari anilin dan karbon tetraklorida pada tahun 1858. François-Emmanuel Verguin menemukan zat ini terlepas dari Hofmann pada tahun yang sama dan dipatenkannya. Fuchsine dinamai oleh pembuat aslinya Renard frères et Franc, biasanya disebut dengan salah satu dari dua etimologi: dari warna bunga-bunga dari tanaman genus *Fuchsia*, dinamai untuk menghormati ahli botani Leonhart Fuchs, atau sebagai Fuchs terjemahan bahasa Jerman nama Perancis Renard, yang berarti rubah. Sebuah artikel dalam *repertoarde Pharmacie* 1861 mengatakan bahwa nama itu dipilih untuk kedua alasan.

Fuchsine basa adalah suatu campuran homolog dari fuchsin dasar, yang diubah dengan penambahan gugus sulfonat. Sedangkan ini menghasilkan 12 kemungkinan isomer. Dalam larutan bersama fenol (juga disebut asam karbolat) sebagai accentuator disebut carbol fuchsin dan digunakan untuk untuk pewarnaan Ziehl-Neelsen dan pewarnaan asam cepat serupa lainnya dari mikobakteri yang menyebabkan tuberkulosis, kusta dll. Fuchsine dasar banyak digunakan dalam biologi untuk mewarnai inti.

Carbol fuchsin yang terdiri dari larutan fuchsin dan larutan phenol yang mempunyai fungsi membuka lapisan lilin agar menjadi lunak sehingga cat dapat menembus masuk ke dalam sel bakteri *Mycobacterium tuberculosis* (Jutono dkk,1980).

## 7. Asam alkohol

Larutan yang terdiri dari HCL 37% 30 ml dan ethanol 96 % 970 ml yang berfungsi untuk membilas atau melunturkan zat warna (decolorization) pada sel bakteri (mikroorganisme). Saat sel – sel bakteri sudah mampu menyerap warna carbol fuchsin maka dinding sel tersebut akan kembali tertutup pada suhu semula, sehingga sebelum ditambahkan asam alkohol ditunggu 5 menit dan pada saat penambahan asam alkohol ini, maka bakteri yang bukan BTA akan dilunturkan kembali oleh carbol fuchsin tersebut karena tidak mampu mengikat kuat seperti halnya bakteri BTA.

## 8. Methylen Blue

Metilena biru adalah senyawa kimia aromatik heterosiklik dengan rumus kimia  $C_{16}H_{18}N_3SCl$ . Senyawa ini banyak digunakan pada bidang biologi dan kimia. Pada pembuatan preparat BTA methylen blue terdiri dari methylen blue dan aquadest. Methylen blue berfungsi sebagai cat lawan dan pada pemberian methylen blue pada bakteri akan tetap berwarna merah dengan latar belakang biru atau hijau (Jutono dkk, 1980).

## 9. Reagensia yang diperlukan untuk pewarnaan adalah :

- 1) Carbol fuchsin 0,3% dan 1 % :

Fuchsin, Ethanol 96%, Phenol kristal, Aquadest

- 2) Asam alkohol 3% :

Ethanol 96%, HCL 37%

3) Methylene blue 0,3% dan 0,1 % :

Methylene blue, Aquadest (Kemenkes,2014).

Adapun faktor-faktor yang mempengaruhi kualitas reagen Ziehl Neelsen apabila reagen tersebut dibuat sendiri, yaitu kadar bahan, konsentrasi bahan, langkah-langkah pembuatan, penyimpanan pada botol reagen, cara uji mutu.

Pewarnaan yang baik apabila diperiksa dibawah mikroskop akan tampak bakteri *Mycobacterium tuberculosis* berwarna merah baik sendiri atau bergerombol dengan warna latar biru dan terlihat jelas gambaran leukosit (Kemenkes,2012).

Teknik pewarnaan Ziehl-Neelsen, yaitu dengan menggunakan zat warna carbol fuchsin 0,3 %, asam alkohol 3%, dan methylen blue 0,3 %. Pada pemberian warna pertama , yaitu carbol fuchsin, BTA bersifat mempertahankannya. Carbol fuchsin merupakan fuchsin basa yang dilarutkan dalam larutan fenol 5 %. Larutan ini memberikan warna merah pada sediaan dahak. Fenol digunakan sebagai pelarut untuk membantu pemasukan zat warna ke dalam sel bakteri sewaktu proses pemanasan. Fungsi pemanasan untuk melebarkan pori – pori lemak BTA sehingga carbol fuchsin dapat masuk sewaktu BTA dicuci dengan larutan pemucat, yaitu asam alkohol, maka zat warna pertama tidak mudah dilunturkan. Bakteri kemudian dicuci dengan air mengalir untuk menutup pori – pori lemak BTA sehingga carbol fuchsin dapat masuk

sewaktu BTA dicuci dengan larutan pemucat, yaitu asam alkohol, maka zat warna pertama tidak mudah dilunturkan. Bakteri kemudian dicuci dengan air mengalir untuk menutup pori – pori dan menghentikan pemucatan. BTA akan terlihat berwarna merah, sedangkan bakteri yang tidak tahan asam akan melarutkan carbol fuchsin dengan cepat sehingga sel bakteri tidak berwarna. Setelah penambahan zat warna kedua methylen blue, bakteri tidak tahan asam akan berwarna biru (Lay,1994).

Pada pewarnaan bakteri dengan metode Ziehl Neelsen dapat menggolongkan bakteri menjadi dua, yaitu

1. Bakteri yang berwarna merah dengan pewarnaan Ziehl Neelsen disebut bakteri tahan asam (acid fast )
2. Bakteri yang berwarna biru dengan pewarnaan Ziehl Neelsen disebut bakteri tidak tahan asam (non acid fast) (Entjang,2003).

Larutan kimia yang digunakan adalah asam 3%, carbol fuchsin 0,3 %, methylen blue 0,3 % yang masing – masing mempunyai fungsi antara lain asam alkohol digunakan sebagai peluntur, carbol fuchsin mempunyai fungsi membuka lapisan lilin agar menjadi lunak sehingga cat dapat menembus masuk ke dalam sel bakteri M. Tuberculosis. Methylen blue berfungsi sebagai cat lawan dan pada pemberian methylen blue pada bakteri akan tetap berwarna merah dengan latar belakang biru atau hijau (Jutono dkk,1980).



## 10. Pembacaan mikroskopis sediaan

Pemeriksaan mikroskopis harus dilaksanakan menggunakan mikroskopis binokuler yang sesuai standar. Agar hasil pemeriksaan mikroskopis bermutu harus menggunakan mikroskop dengan kondisi dan fungsi yang baik. Petugas harus melakukan perawatan mikroskop secara teratur dan dengan cara yang benar, yaitu dengan cara :

### 1) Pembersihan lensa

Lensa dibersihkan dengan pembersih yang sesuai dengan bahan lensa mikroskop, sesuai dengan ketentuan pabrik, menggunakan kertas lensa dan sikat halus atau peniup udara (*blower*).

### 2) Penggantian bola lampu

Ketahui batas lampu dan sediakan lampu cadangan dengan tegangan/ voltage yang sesuai.

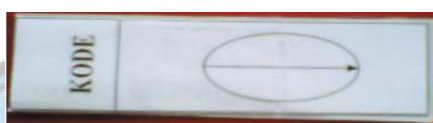
### 3) Penyimpanan

Mikroskop harus disimpan dalam kotak/ lemari yang tidak lembab dengan cara pemasangan lampu 5 watt terus menerus, walaupun mikroskop sedang dipakai atau dengan menempatkan *silica gel* dalam kantung kain. Kotak/ lemari mikroskop harus memiliki lubang untuk pertukaran udara dan harus tertutup sehingga mikroskop bebas dari debu. Debu dapat tertimbun pada bagian saluran dan roda gigi yang dapat menyebabkan bagian-bagian mekanik mikroskop akan susah digerakkan.

Cara pembacaan mikroskopis dahak adalah :

### 1) Pemindaian 100 lapangan pandang

Pembacaan sediaan dahak menggunakan mikroskop dengan lensa objektif 100x dilakukan pembacaan di sepanjang garis horisontal terpanjang dari ujung kiri ke ujung kanan atau sebaliknya. Dengan demikian akan dibaca minimal 100 lapangan pandang.



Gambar 1. Pembacaan sediaan dahak

### 2) Pelaporan hasil pemeriksaan mikroskopis dengan mengacu kepada skala *International Union Against Lung Disease* (IUATLD)

- a) Negatif : tidak ditemukan BTA dalam 100 lapangan pandang
- b) Scanty : ditemukan 1-9 BTA dalam 100 lapangan pandang  
(tuliskan jumlah BTA yang ditemukan)
- c) 1 + : ditemukan 10 – 99 BTA dalam 100 lapangan pandang
- d) 2 + : ditemukan 1 – 10 BTA setiap 1 lapangan pandang  
(periksa minimal 50 lapangan pandang)
- e) 3 + : ditemukan 10 BTA dalam 1 lapangan pandang  
(periksa minimal 20 lapangan pandang)

### 3) Penilaian kualitas sediaan dahak

Sediaan dahak yang baik adalah sediaan yang memenuhi 6 syarat kualitas sediaan yang baik yaitu kualitas contoh uji, ukuran, ketebalan, kerataan, pewarnaan dan kebersihan.

a) Kualitas Contoh Uji (Spesimen)

Spesimen dahak berkualitas apabila ditemukan leukosit 25 per lapang pandang pada perbesaran mikroskop 10x10.

b) Ukuran Sediaan Dahak

Sediaan dahak yang baik berbentuk oval berukuran panjang 3 cm dan lebar 2 cm

c) Ketebalan

Penilaian ketebalan dapat dilakukan sebelum pewarnaan dan pada saat pemeriksaan mikroskopis. Penilaian ketebalan sebelum pewarnaan dilakukan dengan meletakkan sediaan sekitar 4 cm di atas kertas. Penilaian ketebalan dapat juga dilakukan setelah sediaan dahak diwarnai. Pada sediaan yang baik, sel leukosit tidak tampak bertumpuk (*one layer cells*).

d) Kerataan

Penilaian kerataan dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis dengan tidak tampak adanya daerah kosong. Sediaan yang baik pada setiap lapang pandang akan terlihat apusan dahak yang tersebar rata secara mikroskopis.

e) Pewarnaan

Pada sediaan yang baik, tampak jelas kontras antara BTA dan warna latar, bersih dan tidak tampak sisa zat warna. Pada waktu dilihat di bawah mikroskop akan tampak latar berwarna biru dan BTA berwarna merah.

Pengamatan secara makroskopis reagen ZN yang baik apabila :

1. Larutan carbol fuchsin 0,3%

- Larutan berwarna merah dengan kilau logam dipermukaannya

- Larutan tidak ada endapan

2. Larutan asam alkohol 3%

- Larutan bening tidak ada endapan

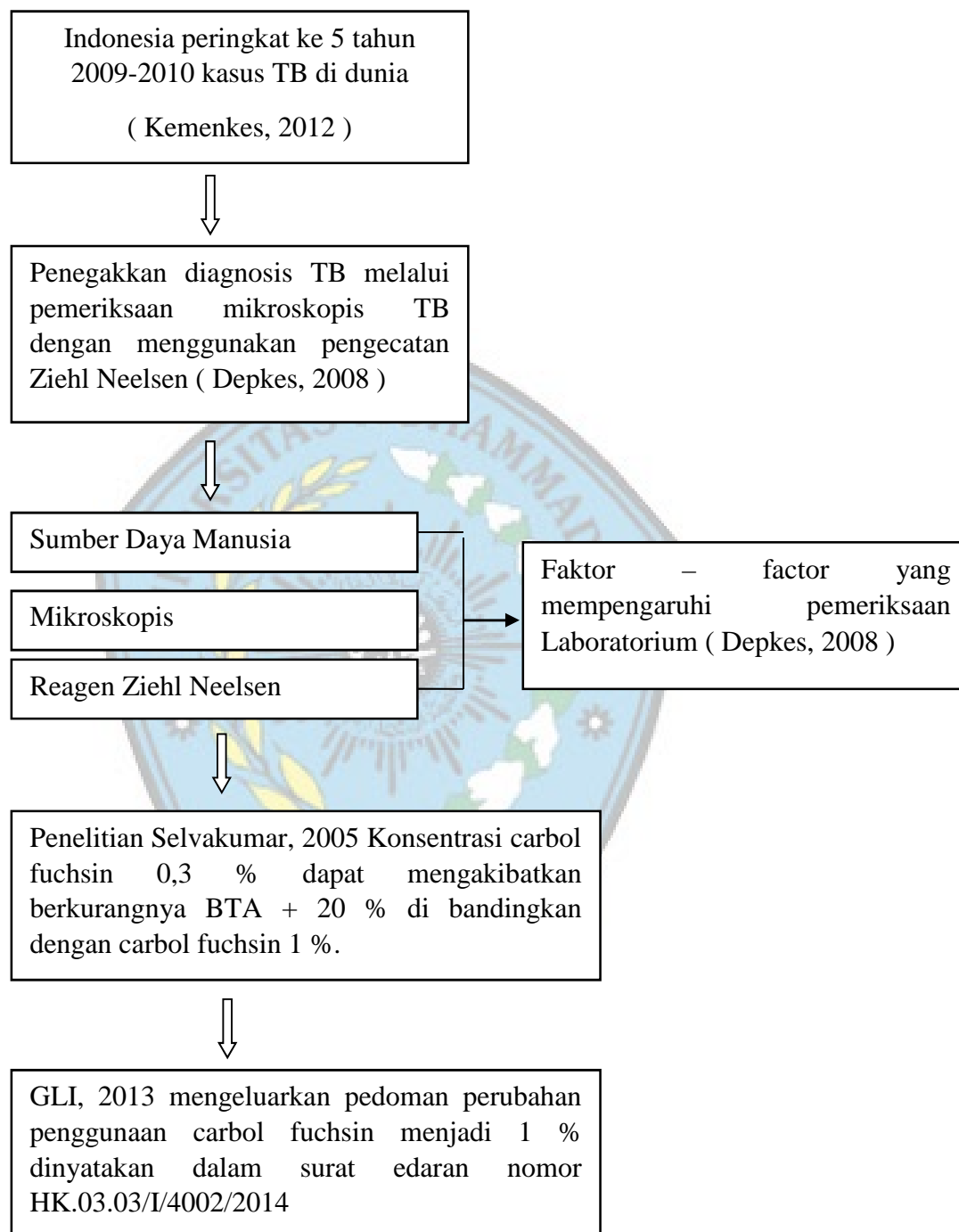
3. Larutan methylene blue 0,3%

- Larutan berwarna biru tidak ada endapan

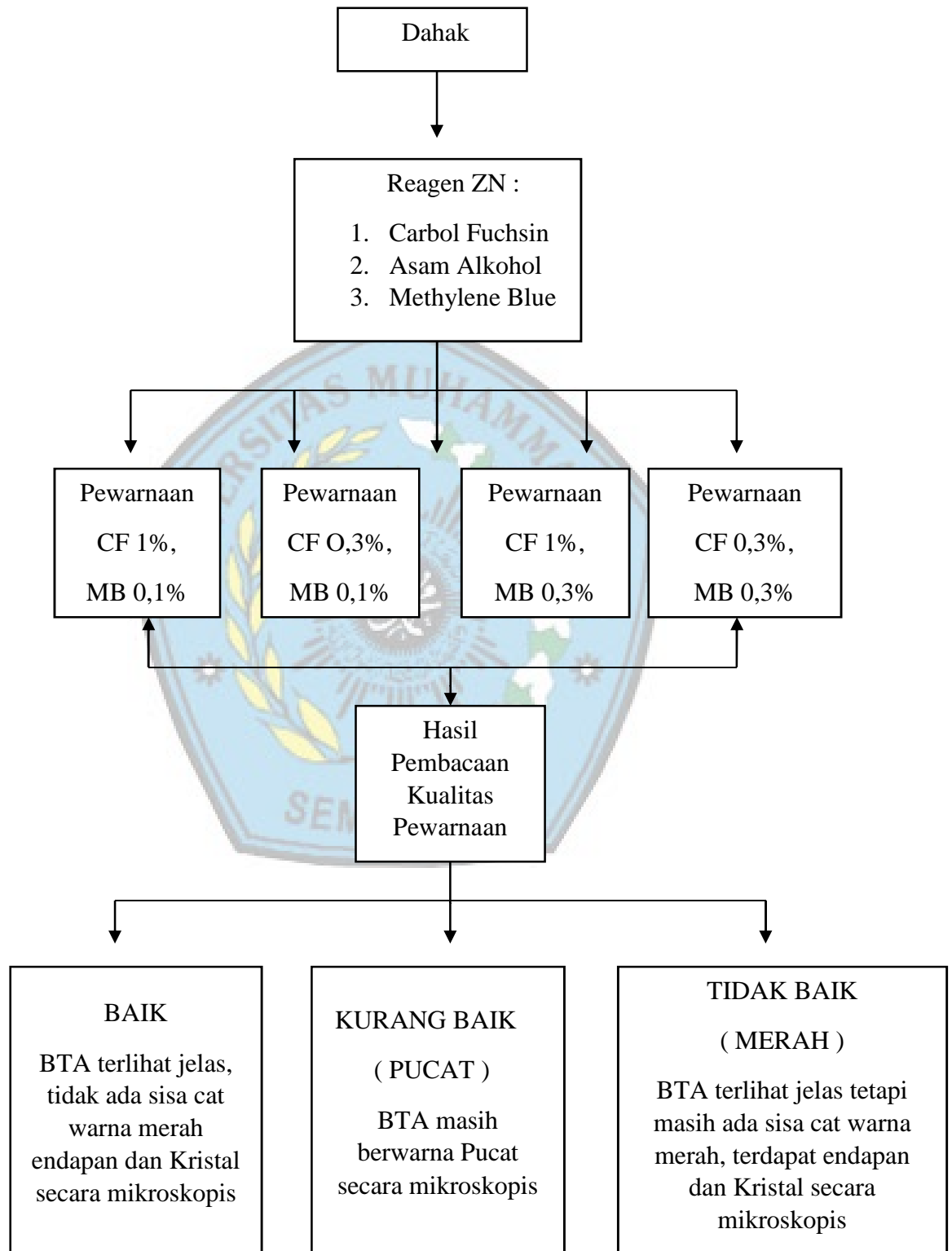
f) Kebersihan

Penilaian kebersihan dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Sediaan yang baik terlihat bersih, tidak tampak sisa zat warna dan endapan Kristal. Sediaan dahak yang kurang bersih akan mengganggu pembacaan secara mikroskopis. Penilaian kualitas sediaan dahak yang baik dilakukan dengan menggunakan diagram sarang laba-laba (Kemenkes,2012).

## B. Kerangka Teori



### C. Kerangka Konsep



**D. Hipotesis**

”Konsentrasi carbol fuchsin 1% methyelen blue 0,1% memberikan hasil terbaik pada pengecatan basil tahan asam.”



### BAB III METODE PENELITIAN

#### A. Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen yaitu suatu metode penelitian dengan melakukan kegiatan percobaan (*experiment*), yang bertujuan untuk mengetahui gejala atau pengaruh yang timbul, sebagai akibat dari adanya perlakuan tertentu atau eksperimen tersebut.

#### B. Desain Penelitian

Dalam penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor yaitu konsentrasi. Penelitian digunakan dengan empat perlakuan yaitu konsentrasi carbol fuhsin 1% methyelen blue 0,1 %; carbol fuchsin 0,3% methyelen blue 0,3%, di variasikan dengan carbol fuchsin 1% methyelen blue 0,3 %, carbol fuchsin 0,3 % methyelen blue 0,1 % dan dilakukan enam kali pengulangan. Pengulangan tersebut diperoleh dengan rumus Federer, yaitu:

$(r-1)(t-1)$	$V_2$
$(4-1)(t-1)$	15
$3t - 3$	15
$3t$	$15 + 3$
$t$	$18 / 3$
$t$	6

Unit Penelitian :  $6 \times 4 = 24$



Keterangan :

- t : jumlah pengulangan  
 r : jumlah perlakuan sampel  
 V2 : derajat bebas galat

Pengulangan dilakukan sebanyak 6 kali dengan jumlah perlakuan sebanyak 4 maka dihasilkan unit sampel sebanyak 24 Hasil penelitian disajikan dalam bentuk tabel sebagai berikut :

**Tabel 2. Kombinasi Perlakuan dan Pengulangan**

Perlakuan	Pengulangan					
CF 1 %, MB 0,1%	A1	A2	A3	A4	A5	A6
CF 0,3 %, MB 0,1 %	B1	B2	B3	B4	B5	B6
CF 1 %, MB 0,3 %	C1	C2	C3	C4	C5	C6
CF 0,3 %,MB 0,3%	D1	D2	D3	D4	D5	D6

Keterangan :

- a. A1 – A 6 : Sediaan dahak menggunakan carbol fuchsin 1% methylen blue 0,1 %,  
 b. B1 – B 6 : Sediaan dahak menggunakan carbol fuchsin 0,3 % methylen blue 0,1 %,  
 c. C1 – C 6 : Sediaan dahak menggunakan carbol fuchsin 1% dengan Methylen Blue 0,3 %,  
 d. D 1 – D 6 : Sediaan dahak menggunakan carbol fuchsin 0,3 % dengan Methylen Blue 0,3 %

Kemudian dilakukan pengacakan pada 24 unit sampel tadi dengan tujuan untuk memperkecil kesalahan percobaan

### C. Variabel Penelitian

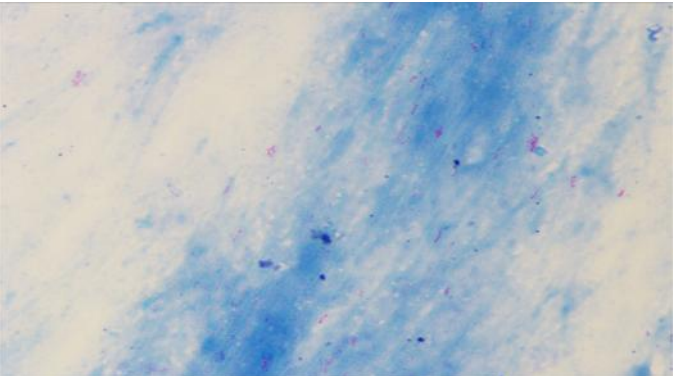
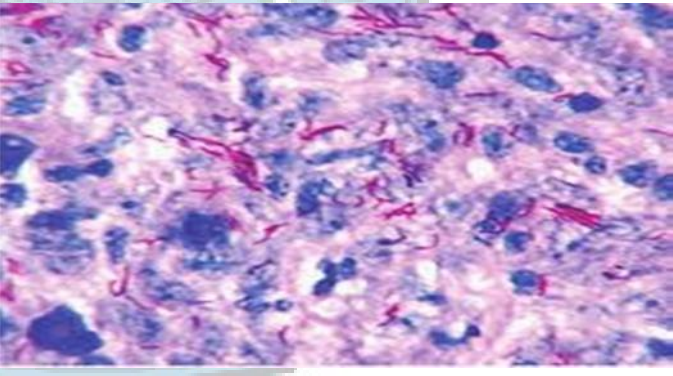
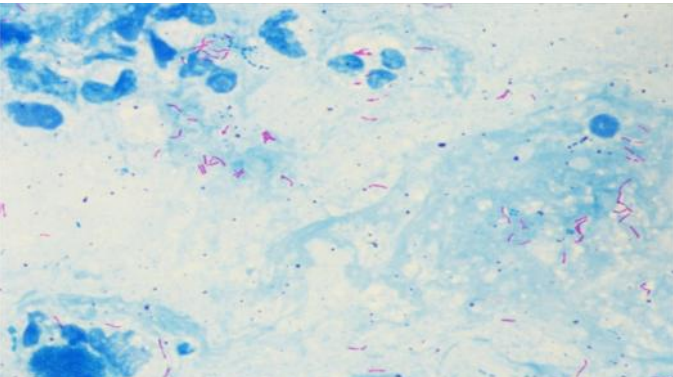
#### 1. Variabel Bebas (Independent Variable)

Variabel bebas dari penelitian ini adalah carbol fuchsin 1% methylen blue 0,1%; carbol fuhsin 0,3 % dengan methylen blue 0,1 %; carbol fuchsin 1% methylen blue 0,3 %; carbol fuchsin 0,3 % dengan methylen blue 0,3 %,

## 2. Variabel Terikat (Dependent Variable)

Variable terikat dari penelitian ini adalah Kualitas pengecatan bakteri tahan asam, antara lain :

**Tabel 3. Kualitas Pewarnaan ( TB.12 )**

No	Kualitas Pewarnaan	Gambar
1	<p><b>KURANG BAIK ( PUCAT )</b></p> <p>BTA Masih berwarna pucat secara mikroskopis</p>	
2	<p><b>TIDAK BAIK ( MERAH )</b></p> <p>BTA terlihat jelas tetapi masih ada sisa cat warna merah, terdapat endapan dan Kristal secara mikroskopis</p>	
3	<p><b>BAIK</b></p> <p>BTA terlihat jelas dan tidak ada sisa cat warna merah endapan dan Kristal secara mikroskopis</p>	

#### D. Definisi Operasional Variabel

**Tabel 4. Definisi Operasional**

No	Variabel Penelitian	Definisi Operasional
	Reagen Ziehl Neelsen	Terdiri dari :
1	Carbol fuchsin	<p>*<b>Carbol Fuchsin 1%</b> adalah larutan cat yang dibuat dari fuchsin 10 gram, ethanol 96% 100 ml, phenol kristal 45 gram dan aquadest 855 ml</p> <p>*<b>Carbol Fuchsin 0,3 %</b> adalah larutan cat yang dibuat dari fuchsin 3 gram, ethanol 96% 100 ml, phenol kristal 45 gram dan aquadest 855 ml. Skala data : rasio</p>
2	Methylene Blue	<p>*<b>Methylene Blue 0,1 %</b> adalah larutan yang terdiri dari Methylene Blue 1 gram dan aquadest add 1000 ml</p> <p>*<b>Methylene Blue 0,3 %</b> adalah larutan yang terdiri dari methylene blue 3 gram dan aquadest add 1000 ml</p>
3	Kualitas pengecatan BTA	<p>Serapan cat pada pewarnaan basil tahan asam</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Kurang Baik ( Pucat ) = BTA masih tampak berwarna pucat</li> <li>2. Tidak Baik ( Merah ) = BTA terlihat jelas dan masih ada sisa cat merah, terdapat endapan dan kristal secara mikroskopis</li> <li>3. Baik = BTA terlihat jelas dan tidak ada sisa zat warna merah endapan dan kristal secara mikroskopis</li> </ol>

#### E. Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah sediaan dahak yang dibuat dari dahak positif penderita tuberculosis kemudian di cat menggunakan variasi carbol fuchsin 1% dengan methylen blue 0,1%; carbol fuchsin 0,3 % dengan methylen blue 0,1 %; carbol fuchsin 1% dengan methylen blue 0,3 %; carbol fuchsin 0,3% dengan methylen blue 0,3 %, dan sampel dahak diperoleh dari BKPM Semarang.

## F. Tempat dan Waktu Penelitian

Tempat : Penelitian dilakukan di Balai Kesehatan Paru Masyarakat Semarang.

Waktu : Agustus 2016

## G. Instrumen Penelitian

1. Alat (Instrumen) yang digunakan antara lain :

Lemari asam, Timbangan analitik, Waterbath, Hot plate *with magnetic stirrer*, Beaker glass, Erlenmeyer, Gelas ukur, Botol coklat, Corong kaca, Spatula porselen, Kertas saring, Alumunium foil, BSC (Bio Safety Cabinet), Kaca obyek frosted end slide, Lidi / bambu, Gelas beker, Api Bunsen, Rak pewarnaan, Tisu pembersih, Mikroskop

2. Bahan yang digunakan adalah

Dahak positif penderita tuberculosis, desinfektan, carbol fuchsin 0,3% dan 1%, terdiri dari (Fuchsin, Ethanol 96%, Phenol kristal, Aquadest); asam alkohol 3% terdiri dari (Ethanol 96%, HCL 37%) ;Methylen Blue 0,3% dan 0,1 % terdiri dari (Methylene blue, Aquadest) dan Minyak Imersi.

## H. Prosedur Penelitian

1. Pembuatan larutan carbol fuchsin 0,3% dan 1% dalam 100 ml

Carbol fuchsin 0,3%	= 3 gram fuchsin + 100 ml ethanol 96%
	= 45 gram phenol kristal + 855 aquadest
Carbol fuchsin 1%	= 10 gram fuchsin + 100 ml ethanol 96%
	= 45 gram phenol kristal + 855 aquadest

a. Larutan A : fuchsin 3% dan 1%

Siapkan ethanol 96% 100 ml kemudian timbang fuchsin 3 gram dan 10 gram, masukan kedalam beaker glass masing-masing, tambahkan ethanol 96% 100 ml pada setiap beaker glass kemudian tutup dengan alumunium foil, aduk menggunakan magnetic stirrer hingga fuchsin larut sempurna.

b. Larutan B :Larutan phenol 5%

Timbang phenol kristal 45 gram dalam masing-masing beaker glass, tutup dengan alumunium foil kemudian panaskan dalam waterbath pada suhu 60 sampai mencair, setelah itu keluarkan dari waterbath dan tambahkan 855 ml aquadest yang telah dipanaskan pada masing-masing beaker glass (suhu 60 ).

c. Larutan carbol fuchsin (dikerjakan dalam lemari asam)

Siapkan 100 ml larutan A ditambahkan 900 ml larutan B aduk hingga homogen dan tutup rapat dengan alumunium foil dan diamkan semalam.Saring larutan dengan kertas saring dan masukkan dalam botol reagen warna gelap.

2. Pembuatan larutan asam alkohol 3% dalam 1000 ml

Masukkan 970 ml ethanol 96% ke dalam erlenmeyer kemudian tambahkan HCL 37% sebanyak 30 ml secara perlahan melalui dinding aduk sampai merata.

### 3. Pembuatan larutan Methylene Blue 0,3% dan 0,1 %

Timbang Methylene Blue 0,3 gram dan 1 gram dalam beaker glass masing – masing kemudian tambahkan masing – masing aquadest sedikit demi sedikit sambil diaduk hingga volume 1000 ml kemudian diamkan semalam pada suhu kamar dalam botol gelap lalu saring larutan dengan kertas saring dan simpan dalam botol gelap.

### 4. Pembuatan sediaan dahak

#### a. Pembuatan sediaan dahak

Ambil contoh uji dahak pada bagian yang purulen dengan lidi kemudian Sebarkan diatas kaca sediaan ddengan bentuk oval ukuran 2x3 kemudian ratakan dengan gerakan spiral kecil-kecil. Jangan membuat gerakan spiral bila sediaan dahak sudah kering karena akan menyebabkan aerosol.

#### b. Pengeringan

Keringkan pada suhu kamar dan masukkan lidi bekas ke dalam wadah berisi desinfektan.

#### c. Fiksasi

Fiksasi dilakukan dengan memegang kaca sediaan dengan pinset, pastikan kaca sediaan menghadap ke atas. Lewatkan sediaan diatas api bunsen yang berwarna biru 2-3 kali selama 1-2 detik.

### 5. Pengecatan sediaan dahak

Letakkan sediaan diatas rak dengan jarak minimal 1 jari telunjuk, tuangkan carbol fuchsin menutupi seluruh sediaan.Panaskan sediaan

dengan sulut api yang terbuat dari kawat baja yang ujungnya dililit kain kasa dicelupkan ke dalam spiritus hingga menguap (jangan sampai mendidih), kemudian diamkan selama 5 menit kemudian buang carbol fuchsin secara perlahan, bilas dengan air, tuangkan asam alkohol 3% pada sediaan biarkan beberapa saat lalu bilas dengan air hingga bersih dan tidak tampak sisa zat warna merah, bila masih tampak diulang beberapa kali lalu bilas dengan air mengalir. Tuangkan methylen blue hingga menutupi seluruh sediaan dan biarkan selama 5 menit, buang methylen blue secara perlahan dan bilas dengan air mengalir, kemudian keringkan sediaan pada rak pengering.



Gambar 2. Pengecatan Sediaan dengan menggunakan Ziehl Neelsen

## 6. Pembacaan mikroskopis

Hubungkan mikroskop dengan sumber listrik, hidupkan dengan menekan tombol ON, kemudian atur kekuatan cahaya berangsur sampai dirasakan nyaman, kemudian naikkan kondensor maksimal dan buka diafragma sampai dirasakan cahaya cukup, lalu letakkan sediaan di atas meja mikroskop tepat di bawah lensa obyektif dengan mengatur letak sediaan, atur makrometer hingga mendapatkan lapang pandang dan

kemudian fokuskan dengan mengatur mikrometer (lensa okuler 10x dan lensa obyektif 10x). Sediaan ditetesi minyak imersi, lihat dengan lensa obyektif 100x, kemudian perjelas dengan mengatur mikrometer. Pada saat meneteskan minyak imersi, jangan menyentuhkan ujung pipet ke kaca sediaan. Setelah selesai pemeriksaan, redupkan cahaya dengan memutar pengatur cahaya ke angka 0, matikan dengan menekan tombol OFF. Kemudian turunkan meja mikroskop dan kondensor sampai bawah.

#### **I. Teknik Pengumpulan Data**

Data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data primer, yaitu hasil sputum positif yang diperoleh secara langsung dari penelitian yang dilakukan oleh peneliti dengan melakukan pewarnaan ulang sediaan BTA Positif di BKPM Semarang dengan menggunakan variasi carbol fuchsin 1% methylen blue 0,1%; carbol fuchsin 0,3 % methylen blue 0,1 %; carbol fuchsin 1% methylen blue 0,3 %; carbol fuchsin 0,3% methylen blue 0,3%, yang dilihat melalui pemeriksaan mikroskopis.

#### **J. Pengolahan dan Analisis Data**

Data yang diperoleh dari pemeriksaan laboratorium, dikumpulkan, ditabulasikan dan dianalisis menggunakan program SPSS. Sebelum dilakukan hipotesis, data yang terkumpul terlebih dahulu diedit, decoding dan dentry dalam file computer. Uji kenormalan data dapat dilakukan dengan uji shapiro wilk, kemudian diuji lanjut dengan menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA).



## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Hasil Penelitian

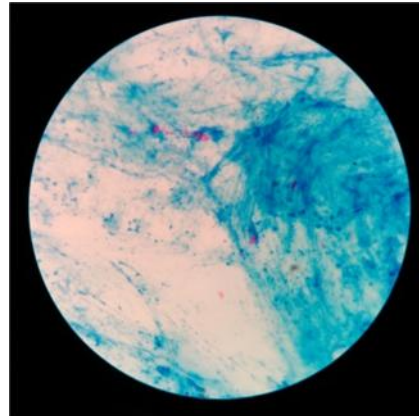
Penelitian tentang perbedaan variasi pewarnaan carbol fuchsin 0,3% dengan methylen blue 0,3%; carbol fuchsin 0,3 % dengan methylen blue 0,1 %; carbol fuchsin 1% dengan methylen blue 0,3 %; carbol fuchsin 1% dengan methylen blue 0,1 %, pada pewarnaan bakteri tahan asam. Hasil penelitian pewarnaan variasi carbol fuchsin dan methylen blue berdasarkan penelitian disajikan dalam Table 5 :

**Tabel 5. Variasi pewarnaan menggunakan carbol fuchsin dengan methylen Sblue pada 6 kali perlakuan**

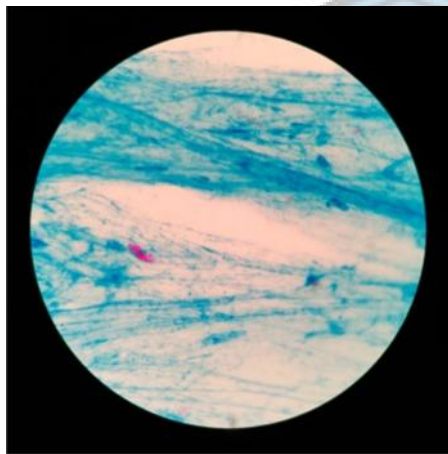
Variasi pewarnaan CF , MB	Kualitas Pewarnaan	Frekwensi	Persentase
pewarnaan CF 1%, MB 0,1%	Tidak baik Baik	1 5	16,7% 83,3%
pewarnaan CF 0,3%, MB 0,1%	Kurang baik Tidak baik	5 1	83,3% 16,7%
pewarnaan CF 1%, MB 0,3%	Kurang baik Baik	3 3	50,0% 50,0%
pewarnaan CF 0,3%, MB 0,3%	Kurang baik Tidak baik	5 1	83,3% 16,7%

Diketahui bahwa penelitian tentang variasi pewarnaan carbol fuchsin dan methylen blue di dapatkan hasil yang terbaik pewarnaan carbol fuchsin 1% dengan methylen blue 0,1% sebanyak 83,3% sedangkan yang kurang baik pewarnaan carbol fuchsin 0,3% dengan methylen blue 0,1%, dan carbol fuchsin 0,3% dengan methylen blue 0,3% sebanyak 83,3%.

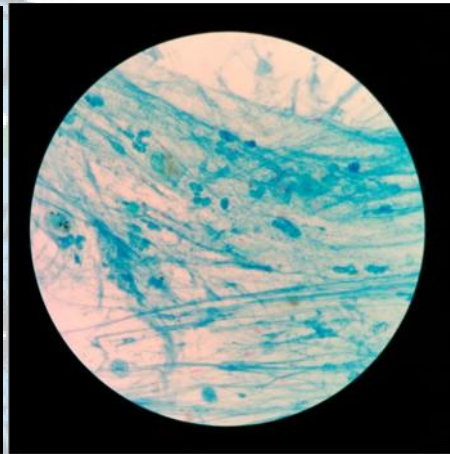
Hasil perbandingan variasi pewarnaan carbol fuchsin dan methylen blue secara mikroskopis disajikan dalam Gambar 3 :



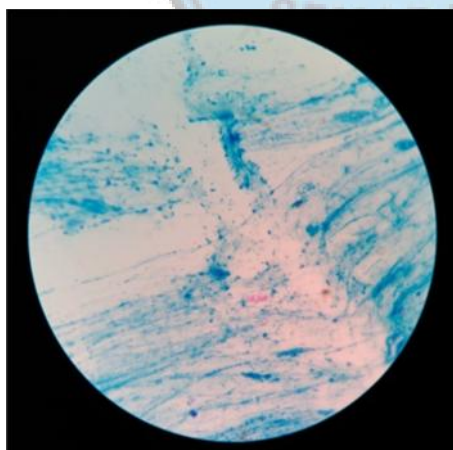
Kontrol BTA  
dengan menggunakan Carbol Fuchsin 1% Methyelen Blue 0,1%



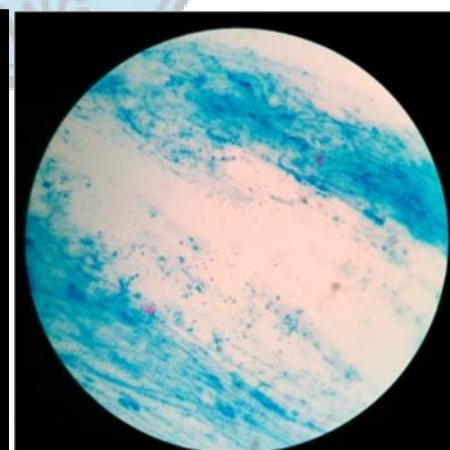
A.  
Carbol Fuchsin 1%  
Methyelen Blue 0,1%



B  
Carbol Fuchsin 0,3%  
Methyelen Blue 0,1%



C.  
Carbol Fuchsin 1%  
Methyelen Blue 0,3%



D  
Carbol Fuchsin 0,3%  
Methyelen Blue 0,3%.

Gambar 3. Hasil Variasi Pewarnaan Carbol Fuchsin dan Methyelen Blue

Dari gambar di atas dapat dilihat bahwa pengecatan yang baik menggunakan carbol fuchsin 1%, methyelen blue 0,1% dan carbol fuchsin 1%, methyelen blue 0,3% tetapi rata-rata terbaik adalah carbol fuchsin 1%, methyelen blue 0,1% keduanya dilihat dari konsentrasi carbol fuchsin sama-sama tinggi karena warna merahnya lebih pekat tetapi methyelen blue mempunyai perbedaan konsentrasi, konsentrasi pada Gambar A mempunyai konsentrasi lebih rendah dibandingkan Gambar C. Sedangkan hasil yang kurang baik adalah carbol fuchsin 0,3%, methyelen blue 0,1% dan carbol fuchsin 0,3%, methyelen blue 0,3%.

## **B. Pembahasan**

Hasil pengecatan BTA pada kontrol preparat terlihat BTA berwarna merah dan latar belakang biru terlihat jelas. Pada penelitian di atas dilakukan pengecatan dengan carbol fuchsin 1% dan methyelen blue 0,1% didapatkan kualitas baik 5 kali pengulangan sebanyak 83,3%, sedangkan yang tidak baik 1 kali pengulangan sebanyak 16,7%. BTA berwarna merah jelas dan latar belakang biru menunjukkan bahwa konsentrasi carbol fuchsin 1% kadarnya lebih tinggi, larutannya lebih pekat dan kuat.

Adanya fenol dan pemanasan yang berfungsi membantu membuka lapisan lilin tersebut maka dinding sel yang tebal mampu mengikat carbol fuchsin. Dinding sel tersebut mempunyai lapisan lilin dan asam mikolat, lipid yang sukar ditembus oleh cat, sedangkan methyelen blue konsentrasinya cukup sehingga warna merah pada BTA terlihat jelas (Kumala,2006).

Pada hasil pengecatan BTA yang dilakukan variasi menggunakan carbol fuchsin 0,3%, methyelen blue 0,1% hasilnya BTA terlihat kurang baik 5 kali pengulangan sebanyak 83,3% dan tidak baik 1 kali pengulangan sebanyak 16,7% di karenakan carbol fuchsin konsentrasinya lebih tinggi dari pada methyelen blue, sehingga warna biru tidak berpengaruh terhadap carbol fuchsin.

Hasil pengecatan BTA menggunakan variasi carbol fuchsin 1%, methyelen blue 0,3% didapatkan hasil baik 3 kali pengulangan sebanyak 50,0% dan yang kurang baik 3 kali pengulangan sebanyak 50,0%. Menunjukkan bahwa methyelen blue konsentrasinya lebih rendah dari pada carbol fuchsin di karenakan warna biru yang pekat akan menutupi warna merah BTA.

Hasil pengecatan BTA dengan variasi carbol fuchsin 0,3%, methyelen blue 0,3% didapatkan hasil kurang baik 5 kali pengulangan sebanyak 83,3% dan yang tidak baik 1 kali pengulangan sebanyak 16,7%. Menunjukkan bahwa antara carbol fuchsin dan methyelen blue sama-sama mempunyai kadar konsentrasi yang sama sehingga warna merah BTA akan terlihat samar.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka didapatkan hasil pengecatan baik menggunakan carbol fuchsin 1%, methyelen blue 0,1% dan carbol fuchsin 1%, methyelen blue 0,3% dan rata-rata pengecatan terbaik adalah menggunakan carbol fuchsin 1%, methyelen blue 0,1% sebagian besar berwarna baik muncul sebanyak 5 kali pengulangan (83,3%). Di karenakan reagen carbol fuchsin 1% konsentrasinya tinggi, larutannya pekat dan kuat

sehingga dinding sel yang mempunyai lapisan lemak mampu mengikat warna merah pada sel tersebut, sedangkan methyelen blue konsentrasinya cukup dan terlihat kontras sehingga warna merah BTA dapat terlihat jelas, (Kumala,2006),

Pengecatan yang kurang baik carbol fuchsin 0,3%, methyelen blue 0,1% dan carbol fuchsin 0,3%, methyelen blue 0,3% didapatkan hasil yang sama sebanyak 5 kali pengulangan (83,3%). Di karenakan BTA nya lebih pucat dan larutannya lebih encer sehingga warna carbol fuchsinnya lebih muda dan warna merah BTA terlihat lebih samar.

Dari hasil tersebut kemudian dilakukan uji statistik yaitu dengan menggunakan uji one way annova. Sebelumnya dilakukan uji normalitas terlebih dahulu dilakukan uji Shapiro Wilks karena sampel penelitian ini kurang dari 50 dan hasilnya berdistribusi tidak normal maka dilanjutkan dengan uji non parametrik Kruskal Wallis untuk mengetahui adakah perbandingan yang signifikan antar perlakuan.

Berdasarkan hasil non parametric Kruskal Wallis, maka dapat diketahui bahwa p value CF 1% MB 0,1% sebesar 0,25 ( $< 0,05$ ) sehingga dapat disimpulkan terdapat perbandingan variasi carbol fuchsin dan methyelen blue pada pewarnaan BTA.

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **A. Simpulan**

Berdasarkan hasil penelitian tentang perbandingan variasi carbol fuchsin dan methylen blue pada pewarnaan BTA maka dapat disimpulkan konsentrasi yang paling baik adalah pewarnaan menggunakan carbol fuchsin 1% dengan methylen blue 0,1% sebagian besar berwarna baik muncul sebanyak 5 kali pengulangan (83,3%). Sehingga dapat disimpulkan terdapat perbandingan variasi carbol fuchsin dan methylen blue pada pewarnaan BTA.

#### **B. Saran**

Dapat merekomendasikan penggunaan reagen Ziehl Neelsen dengan konsentrasi Carbol Fuchsin 1% dan Methylen Blue 0,1% khususnya bagi Tenaga kesehatan paramedis laboratorium kesehatan.

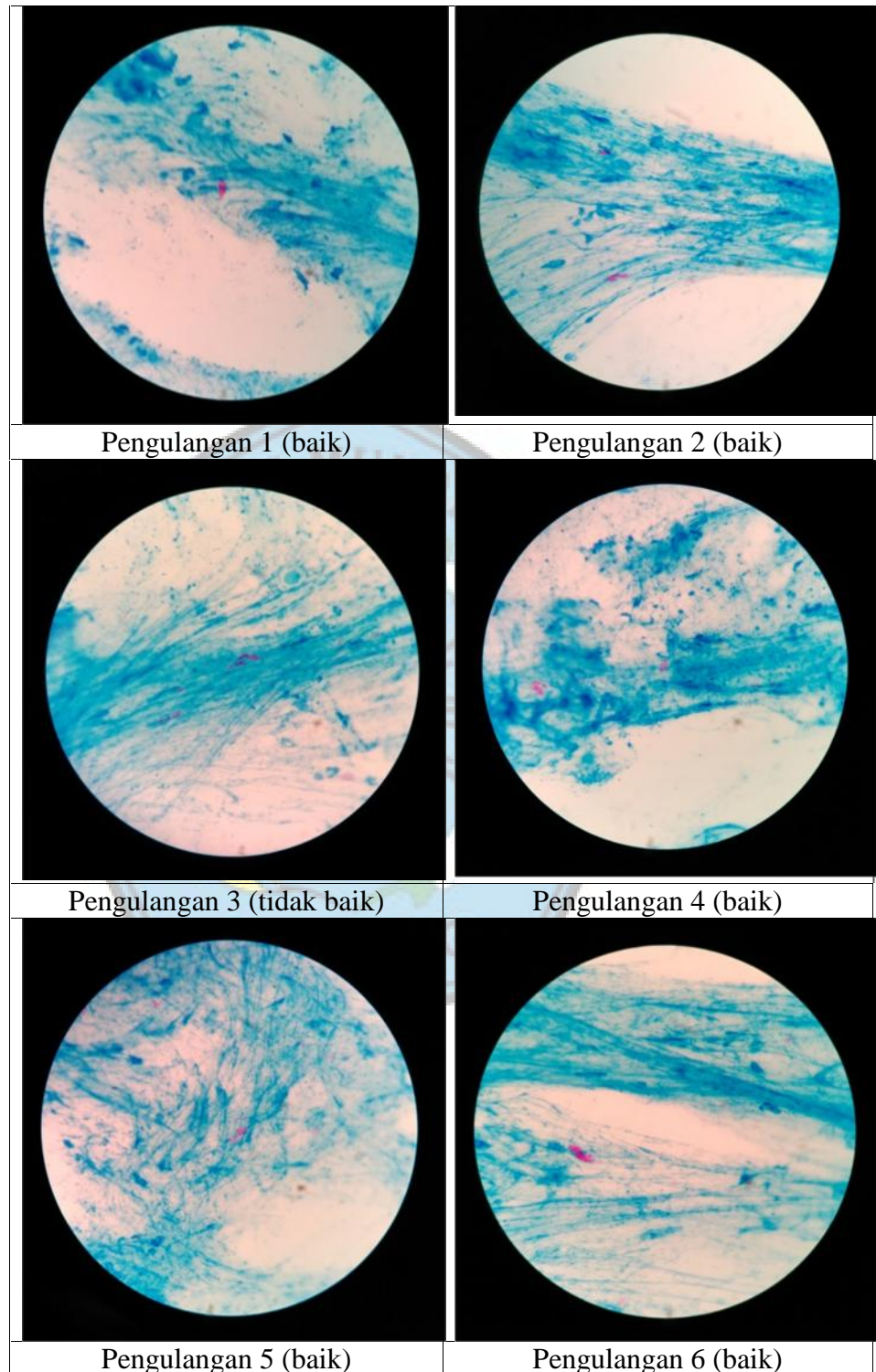
## DAFTAR PUSTAKA

- Achmadi. 2008. *Manajemen Penyakit Berbasis Wilayah*. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Amin, Z dan A.B. 2009. *Ilmu Penyakit Dalam*. Interna Publishing. Jakarta.
- Ball, A.S. 1997. *Bacterial Cell Culture : Essential Data*. John Wiley & Sons, New York
- Bantuan, Velma. 2014. *Gambaran Basil Tahan Asam (BTA) Positif pada Penderita Diagnosa Klinis Tuberculosis Paru*. Manado.
- Departemen Kesehatan RI. 2009. *Pedoman Nasional Pemeriksaan Laboratorium Mendukung Sistem Kewaspadaan Dini dan Respons*. Direktorat Jendral Bina Pelayanan Medik. Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI. 2008. *Pedoman Praktik Laboratorium Kesehatan yang Benar (Good Laboratory Practice)*. Direktorat Jenderal Bina Pelayanan Medik. Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI. 2008. *Standar Reagen Ziehl Neelsen*. Direktorat Jenderal Bina Pelayanan Medik. Jakarta.
- Entjang, I. 2003. *Mikrobiologi dan Parasitologi untuk Akademi Keperawatan dan Sekolah Tenaga Kesehatan Yang Sederajat*. Citra Aditya Bakti. Bandung.
- Jawetz, Melnick dan Adelbergs's. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran*, diterjemahkan oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Salemba Medika. Jakarta.
- Jutono, dkk. 1980. *Pedoman Praktikum Mikrobiologi Umum Untuk Perguruan Tinggi*. Departemen Mikrobiologi Fakultas Pertanian UGM. Yogyakarta.
- Kementerian Kesehatan RI. 2012. *Modul Pelatihan Pemeriksaan Dahak Mikroskopis TB*. Direktorat Jenderal Bina Upaya Kesehatan. Jakarta.
- Kementerian Kesehatan RI. 2012. *Perubahan Konsentrasi Carbol Fuchsin untuk Pemeriksaan Mikroskopis TB*. Direktorat Jenderal Bina Upaya Kesehatan. Jakarta.
- Kementerian Kesehatan RI. 2012. *Standar Prosedur Operasional Pemeriksaan Mikroskopis TB*. Direktorat Jenderal Bina Upaya Kesehatan. Jakarta.
- Kumala, Widyasari. 2006. *Diagnosis Laboratorium Mikrobiologi Klinik*. Universitas Trisakti. Jakarta.
- Lay, B. W. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Lestari, Erma. 2005. *Nilai Diagnostik Pemeriksaan Mikroskopis Basil Tahan Asam Metoda Konsentrasi Dibandingkan dengan Kultur pada Sputum Tersangka Tuberculosis Paru*. Semarang.
- Masriady. 2012. *Epidemiologi*. Yogyakarta. Penerbit : Ombak.
- Perkumpulan Pemberantas Tuberculosis Indonesia. 2012. *Jurnal Tuberculosis Indonesia. Vol-8*. Perkumpulan Pemberantasan Tuberculosis Indonesia (PPTI). Jakarta.

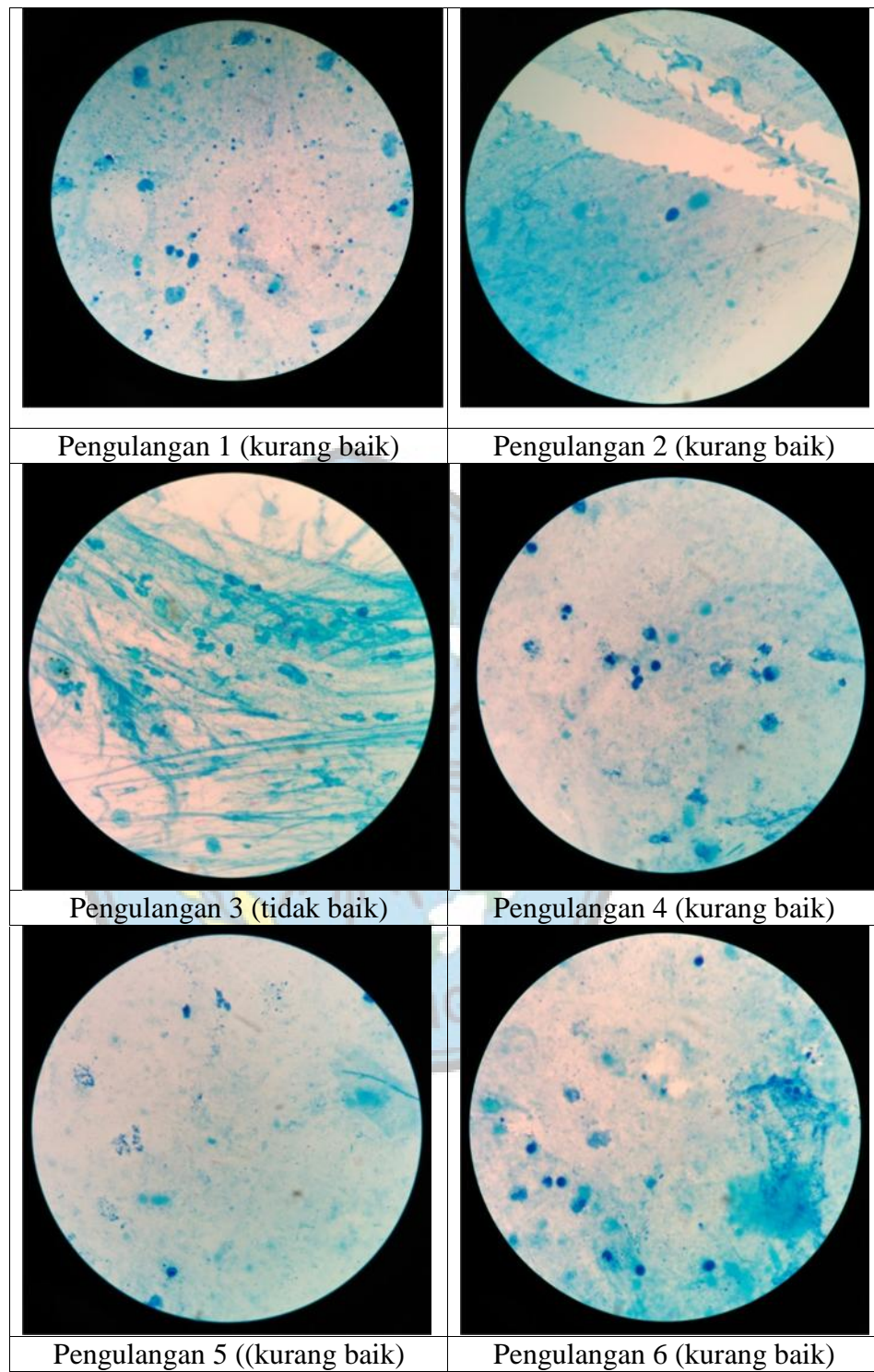
- Selvakumar, dkk. 2005. *Inefficiency of 0.3% Carbol Fuchsin in Ziehl-Neelsen Staining for Detecting Acid-Fast Bacilli*. India:Indian Council of Medical Research.
- Saptawati, Leli, dkk. 2014. *Evaluasi MetodeFastPlaqueTB<sup>TM</sup> Untuk Mendeteksi Mycobacterium tuberculosis Pada Sputum Di Beberapa Unit Pelayanan Kesehatan Di Jakarta-Indonesia*. Jurnal Tuberkulosis Indonesia. Vol.8 Hlm.1-6
- Syahrurachman, dkk. 1994. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran Edisi Revisi*. Jakarta : Bina Rupa Aksara.



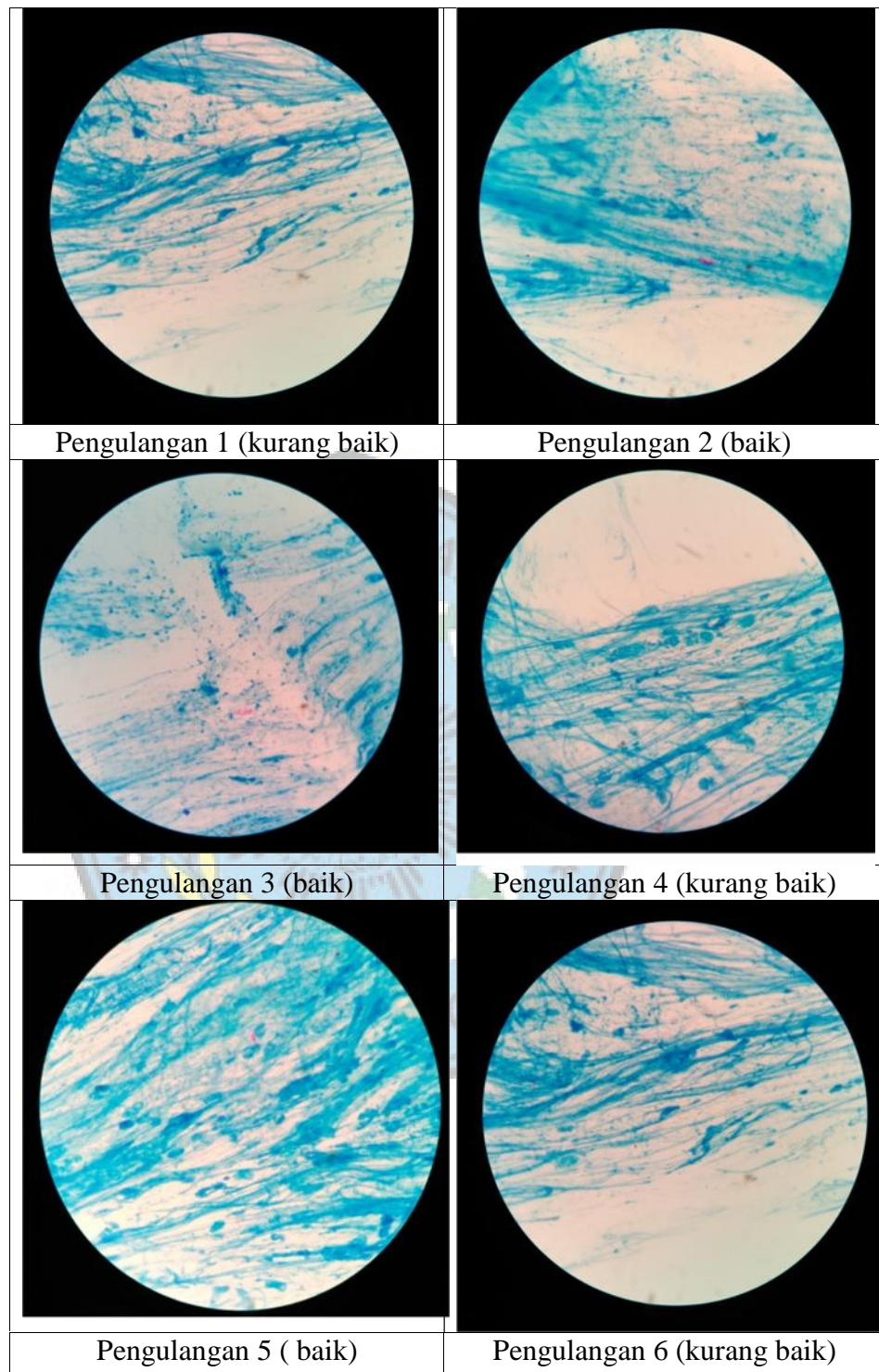
## LAMPIRAN



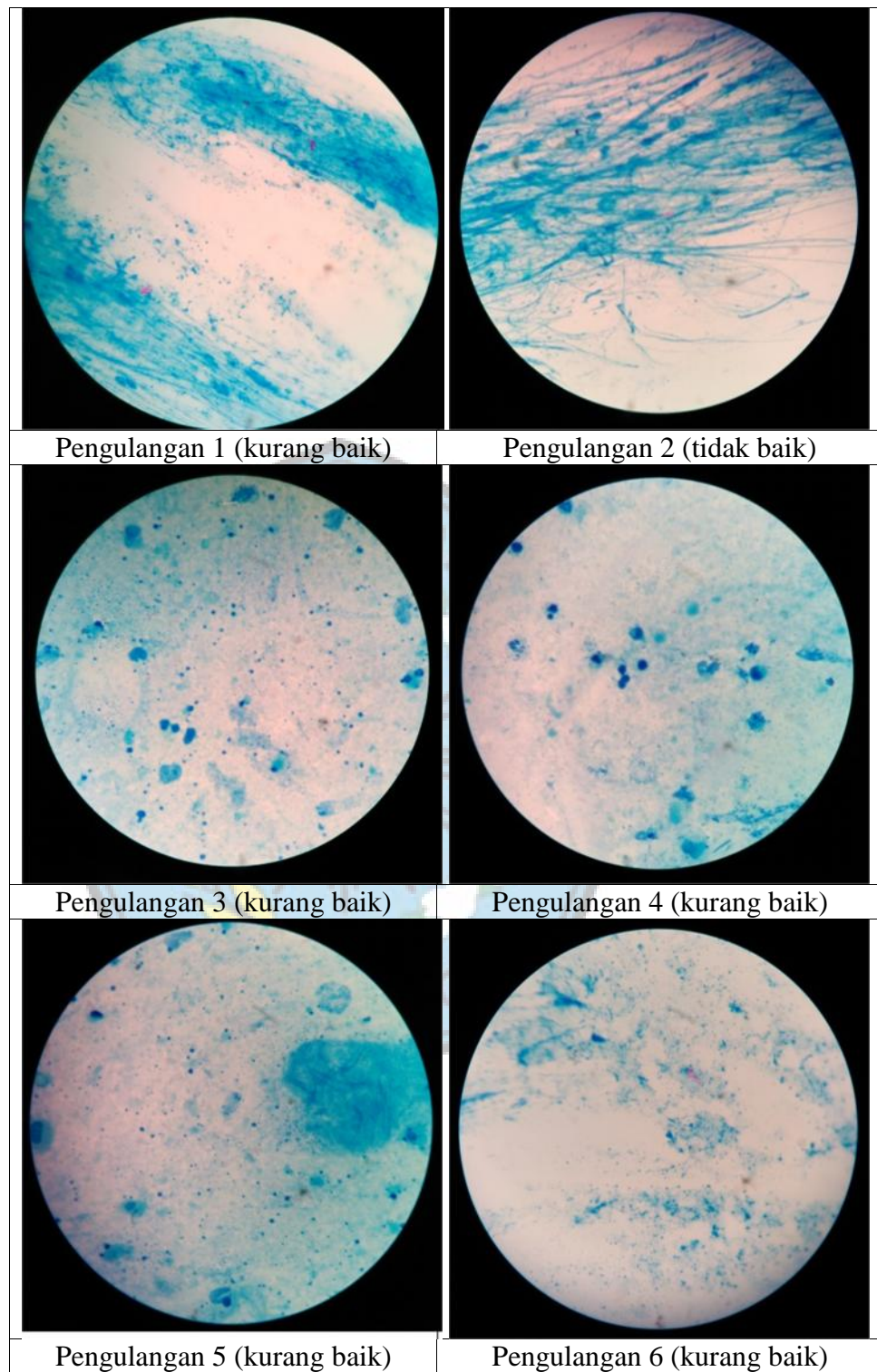
**Gambar 4.** Variasi pewarnaan menggunakan carbol fuchsin 1% dengan methylen blue 0,1%



**Gambar 5.** Variasi pewarnaan menggunakan carbol fuchsin 0,3% dengan methyelen blue 0,1%



**Gambar 6.** Variasi pewarnaan menggunakan carbol fuchsin 1% dengan methyelen blue 0,3%



**Gambar 7.** Variasi pewarnaan menggunakan carbol fuchsin 0,3% dengan methyelen blue 0,3%

## Frequencies

### Statistics

variasi pewarnaan menggunakan  
carbolfuchsin 1% dengan methylen  
blue 0,1%

N	Valid	6
	Missing	0
Mean		2,8333
Median		3,0000
Std. Deviation		,40825
Minimum		2,00
Maximum		3,00

### variasi pewarnaan menggunakan carbolfuchsin 1% dengan methylen blue 0,1%

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid tidak baik	1	16,7	16,7	16,7
baik	5	83,3	83,3	100,0
Total	6	100,0	100,0	

## Frequencies

### Statistics

variasi pewarnaan menggunakan  
carbolfuchsin 0,3 % dengan methylen  
blue 0,1 %

N	Valid	6
	Missing	0
Mean		1,1667
Median		1,0000
Std. Deviation		,40825
Minimum		1,00
Maximum		2,00

### variasi pewarnaan menggunakan carbolfuchsin 0,3 % dengan methylen blue 0,1 %

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid kurang baik	5	83,3	83,3	83,3
tidak baik	1	16,7	16,7	100,0
Total	6	100,0	100,0	

## Frequencies

### Statistics

variasi pewarnaan menggunakan  
carbolfuchsin 1% dengan methylen  
blue 0,3 %

N	Valid	6
	Missing	0
Mean		1,5000
Median		1,5000
Std. Deviation		,54772
Minimum		1,00
Maximum		2,00

### variasi pewarnaan menggunakan carbolfuchsin 1% dengan methylen blue 0,3 %

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid kurang baik	3	50,0	50,0	50,0
tidak baik	3	50,0	50,0	100,0
Total	6	100,0	100,0	

## Frequencies

### Statistics

variasi pewarnaan menggunakan  
carbolfuchsin 0,3% dengan  
methylen blue 0,3 %

N	Valid	6
	Missing	0
Mean		1,1667
Median		1,0000
Std. Deviation		,40825
Minimum		1,00
Maximum		2,00

### variasi pewarnaan menggunakan carbolfuchsin 0,3% dengan methylen blue 0,3 %

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid kurang baik	5	83,3	83,3	83,3
tidak baik	1	16,7	16,7	100,0
Total	6	100,0	100,0	