

**PERBEDAAN WAKTU PENCUCIAN ALKOHOL ASAM 3%
TERHADAP HASIL PEWARNAAN ZIEHL NEELSEN
PADA PREPARAT BTA**

Manuscript



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

2018

HALAMAN PERSETUJUAN

Manuscript

dengan judul

**PERBEDAAN WAKTU PENCUCIAN ALKOHOL ASAM 3%
TERHADAP HASIL PEWARNAAN ZIEHL NEELSEN
PADA PREPARAT BTA**

Telah diperiksa dan disetujui untuk dipublikasikan

Semarang, Oktober 2018

Pembimbing I


Dra. Sri Sinto Dewi, M.Si.Med
NIK 28.6.1026.034

Pembimbing II



Wildiani Wilson, M.Sc
NIK. 28.6.10.26.314

**SURAT PERNYATAAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya :

Nama : Septiana Kevin Wulandari

NIM : G1C 217109

Fakultas : Ilmu Keperawatan dan Kesehatan

Program Studi : D IV Analis Kesehatan

Judul : Perbedaan Waktu Pencucian Alkohol Asam 3% Terhadap Hasil Pewarnaan Ziehl Neelsen Pada Preparat BTA

Email : Septianakevin86@gmail.com

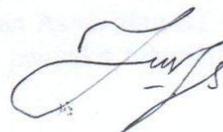
Dengan ini menyatakan bahwa saya menyetujui untuk :

1. Memberikan hak bebas royalti kepada Perpustakaan Unimus atas penulisan karya ilmiah saya, demi pengembangan ilmu pengetahuan.
2. Memberikan hak menyimpan, mengalih mediakan / mengalih formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), mendistribusikannya, serta menampilkannya dalam bentuk *softcopy*, untuk kepentingan akademis kepada Perpustakaan Unimus, tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis / pencipta.
3. Bersedia dan menjamin untuk menanggung secara pribadi tanpa melibatkan pihak perpustakaan Unimus, dari semua bentuk tuntutan hukum yang timbul dan pelanggaran hak cipta dalam karya ilmiah ini.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan semoga dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Semarang, 25 Oktober 2018

Yang Menyatakan



(Septiana Kevin Wulandari)

(Septiana Kevin Wulandari)

PERBEDAAN WAKTU PENCUCIAN ALKOHOL ASAM 3% TERHADAP HASIL PEWARNAAN ZIEHL NEELSEN PADA PREPARAT BTA

Septiana Kevin Wulandari¹, Sri Sinto Dewi², Wildiani Wilson²

1. Program Studi D IV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang.
2. Laboratorium Bakteriologi Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang.

Info Artikel

Abstrak

Keywords:

Pemeriksaan mikroskopis BTA, Alkohol asam, Kualitas pewarnaan

Tuberkulosis merupakan penyakit penyebab kematian yang utama diantara penyakit infeksi bakterial di dunia yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Penemuan penyakit ini masih berdasarkan diagnosa secara mikroskopis yaitu dengan pewarnaan dengan pewarnaan ziehl neelsen yaitu carbol fuchsin 1%, alkohol asam 3%, methylen blue 0,1% sehingga terlihat BTA berwarna merah dengan latar belakang berwarna biru. Tujuan penelitian untuk mengetahui perbedaan waktu pencucian alkohol asam 3% terhadap hasil pewarnaan pada preparat BTA dengan waktu penggenangan selama 3 menit dan 5 menit. Jenis penelitian ini adalah eksperimen. Sampel diambil dengan kriteria sputum pasien BTA positif dua atau tiga sebanyak 40 preparat. Hasil penelitian menunjukkan pencucian selama 3 menit diperoleh hasil jelek 90 % (18 preparat), sedangkan pencucian selama 5 menit diperoleh hasil baik 95 % (19 preparat). Uji statistik Man whitney menunjukkan nilai kemaknaan 0,000 sehingga nilai kemaknaannya adalah $\leq 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan pencucian alkohol asam 3% selama 3 menit dan 5 menit.

Pendahuluan

Tuberkulosis merupakan penyakit penyebab kematian yang utama diantara penyakit infeksi bakterial di dunia. Pengendalian TB dilaksanakan menggunakan strategi Directly Observed Treatment Short-course (DOTS) sebagai kerangka dasar dan memperhatikan strategi global untuk mengendalikan TB (Global Stop TB Strategy). Penguatan pengendalian TB dan pengembangannya ditujukan terhadap peningkatan mutu pelayanan, kemudahan akses untuk penemuan dan pengobatan sehingga mampu memutuskan rantai

penularan dan mencegah terjadinya TB resistan obat (Kemenkes, 2014).

Penemuan dan pengobatan dalam rangka pengendalian TB dilaksanakan oleh seluruh Fasilitas Kesehatan Tingkat Pertama (FKTP) dan Fasilitas Kesehatan Rujukan Tingkat Lanjut (FKRTL), meliputi Puskesmas, Rumah Sakit Pemerintah dan Swasta, Rumah Sakit Paru (RSP), Balai Kesehatan Paru Masyarakat (BKPM), Klinik Pengobatan serta Dokter Praktek Mandiri (Kemenkes, 2012).

Bakteri penyebab TB adalah *Mycobacterium tuberculosis* (*M. Tuberculosis*) berbentuk batang, bersifat

*Corresponding Author :

Septiana kevin wulandari

Laboratorium Bakteriologi Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang

E-mail : septianakevin86@gmail.com

aerob dan agak sulit untuk diwarnai, tetapi sekali berhasil diwarnai sulit untuk dihapus dengan zat asam sehingga disebut Basil Tahan Asam atau BTA. Diagnosis yang tepat dari penyakit tuberkulosis ialah pemeriksaan mikrobiologi dengan cara mengisolasi bakteri. Bahan pemeriksaan dapat berupa sputum segar, cairan lambung, urin, cairan peura, cairan otak, cairan sendi, bahan biopsi dan lain-lainnya (Utji dan Harun, 2013).

Pemeriksaan sputum secara mikroskopis merupakan pemeriksaan yang paling efisien, mudah dan murah serta dapat dilaksanakan oleh semua laboratorium. Oleh karena itu hasil pemeriksaan mikroskopis tuberkulosis paru dari bahan pemeriksaan sputum harus tepat dan teliti (Kemenkes, 2014).

Pewarnaan BTA dapat dilakukan dengan metode Ziehl Neelsen yang merupakan metode cukup sederhana tetapi memberikan sensitivitas dan spesifitas yang tinggi. Zat warna yang digunakan dalam pewarnaan Ziehl Neelsen adalah carbol fuchsin, alkohol asam, dan methylen blue. Sediaan yang baik, dengan pewarnaan yang baik akan memberikan hasil yang baik. Pewarnaan dengan Ziehl Neelsen akan terlihat bakteri berwarna merah dan latar belakang berwarna biru (Sondak dkk, 2016).

Larutan alkohol asam berfungsi untuk membilas dan melunturkan zat warna (decolorization) pada sel bakteri. Saat sel-sel bakteri sudah mampu menyerap warna carbol fuchsin maka dinding sel tersebut akan kembali tertutup pada suhu semula, sehingga harus di tunggu sampai beberapa menit dan pada saat penambahan alkohol asam 3 %, maka bakteri yang bukan BTA akan dilunturkan karena tidak mampu mengikat kuat carbol fuchsin seperti halnya BTA. Bakteri yang tahan terhadap zat warna setelah ditambah alkohol asam disebut "Basil Tahan Asam" dan akan berwarna merah setelah diwarnai. Bakteri yang tidak tahan asam maka dengan mudah dapat dilunturkan dengan alkohol asam akan berwarna biru setelah dilakukan pewarnaan methylen blue (Gandasoebrata, 2013).

Prosedur pengecatan preparat BTA dengan menggunakan metode ziehl neelsen

***Corresponding Author :**

Septiana kevin wulandari

Laboratorium Bakteriologi Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang

E-mail : septianakevin86@gmail.com

menggunakan 3 cat warna yaitu dengan digenangi carbol fuchsin selama 5 menit setelah pemanasan lalu dibuang dan dicuci dengan air mengalir, kemudian dilunturkan dengan alkohol asam 3% sampai warna menjadi pucat (cat carbol fuchsin tidak terlihat) apabila warna cat belum bersih maka diulang sehingga tidak ada sisa cat warna carbol fuchsin, kemudian bilas dengan air mengalir. Selanjutnya digenangi dengan cat yang ketiga yaitu mythilen blue selama 20 detik dan bilas dengan air mengalir, keringkan di suhu ruangan, lalu baca dengan mikroskop perbesaran 100 X (Kemenkes, 2012).

Disebutkan pada standart operasional prosedur (Kemenkes, 2012) pada pencucian alkohol asam 3% dapat dilakukan sampai warna menjadi pucat, apabila warna cat belum bersih maka diulang sampai tidak ada cat carbol fuchsin, namun pada manual prosedur pada reagen (merk indo reagen) pencucian alkohol asam 3% dilakukan selama 3 menit sedangkan pada prakteknya pencucian alkohol asam 3% dilakukan selama 5 menit untuk mendapatkan preparat BTA yang bersih dari sisa cat carbol fuchsin. Tahap dekolorisasi (pemberian alkohol asam) tidak boleh berlebihan karena akan menyebabkan over dekolorisasi sehingga sel BTA hampir sama dengan sel non BTA, apabila pemberian alkohol asam terlalu sebentar maka tidak akan melunturkan warna secara sempurna sehingga masih terdapat sisa cat carbol fuchsin pada preparat menyebabkan sel non BTA berwarna ungu mendekati sel BTA + yang akan mengganggu pembacaan pada mikroskop (Lay, 1994)

Mengingat pentingnya pewarnaan BTA pada sputum, terutama pada tahap dekolorisasi alkohol asam 3% maka pada manual prosedur dengan waktu 3 menit pada praktek di puskesmas tidak dapat melunturkan warna carbol fuchsin secara sempurna, sehingga membutuhkan waktu lebih lama yaitu 5 menit untuk melunturkan warna carbol fuchsin secara sempurna.

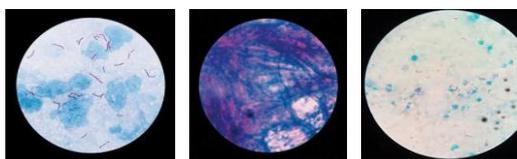
Tujuan penelitian ini untuk mengetahui perbedaan waktu pencucian alkohol asam 3% terhadap hasil pewarnaan pada preparat BTA.

Bahan dan Metode

Bahan pemeriksaan menggunakan sampel sputum BTA positif dua dan tiga dicampur menjadi satu kemudian di ulir pada preparat dengan ukuran 2 x 3 cm menggunakan tusuk sate sebanyak 40 preparat, tunggu kering udara kemudian digenangi dengan cat carbol fuchsin dan dipanaskan (tidak mendidih) tunggu selama 5 menit kemudian dicuci dengan air mengalir, setelah itu digenangi dengan alkohol asam 3% yaitu dengan 2 perlakuan (20 preparat untuk pencucian selama 3 menit dan 20 preparat untuk pencucian selama 5 menit) cuci dengan air mengalir, kemudian menambahkan methylene blue selama 20 detik dan cuci dengan air mengalir, tunggu kering udara dan dibaca di bawah mikroskop dengan perbesaran 100x menggunakan minyak imersi

Hasil

Hasil tabel dibawah ini diperoleh dengan kriteria pembacaan secara mikroskopis yaitu dinilai Pewarnaan pucat (skor 1) apabila latar belakang pada saat pembacaan mikroskopis berwarna biru muda atau transparan, dinyatakan pewarnaan jelek (skor 2) apabila latar belakang berwarna merah karena pencucian cat tidak bersih sehingga masih ada sisa cat carbol fuchsin, sedangkan pewarnaan baik (skor 3) tidak ada sisa cat carbol fuchsin, latar belakang berwarna biru, bakteri tahan asam berwarna merah, dan bakteri tidak tahan asam berwarna biru (Fujiki A,2007)

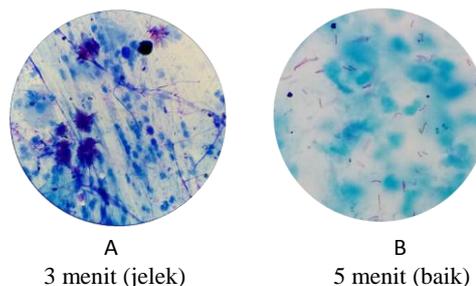


Gambar 1. Kontrol pencucian alkohol asam 3% selama 3 menit dan 5 menit (dikutip : dekolonisasi cukup dan dekolonisasi kurang (Fujiki. A, 2007), Over dekolonisasi (Kemenkes, 2012))

Tabel 1. Hasil pencucian alkohol asam 3% dengan perlakuan 3 menit dan 5 menit

Kualitas Pewarnaan	Frekuensi	Persentase
--------------------	-----------	------------

3 Menit		
Baik	0	0 %
Jelek	18	90 %
Pucat	2	10 %
5 Menit		
Baik	19	0 %
Jelek	0	0 %
Pucat	1	4 %



Gambar 2. Hasil pewarnaan Ziehl Neelsen pada preparat BTA dengan pencucian alkohol asam 3% (A) 3 menit dan (B) 5 menit

Tabel di atas menjelaskan bahwa rerata pewarnaan yang baik adalah menggunakan penggenangan alkohol asam 3% selama 5 menit.

Uji perbedaan hasil menggunakan uji statistik *Man Whitney* diperoleh nilai $p = 0,00$ ($p < 0,05$) sehingga dapat disimpulkan terdapat perbedaan pencucian alkohol asam 3% selama 3 menit dan 5 menit pada preparat BTA.

Diskusi.

Carbol fuchsin (ZN A) merupakan larutan basa yang digunakan sebagai pelarut untuk membantu pemasukan zat warna ke dalam sel bakteri *M. Tuberculosis*, pada proses pemanasan akan membantu membuka pori - pori lapisan lilin dan asam mikolat bakteri *M. tuberculosis* kemudian Asam mikolat *M. tuberculosis* menyeras warna carbol fuchsin sehingga terjadi ikatan ion (Lay, 1994)

Berdasarkan (Gandasoebrata,2007) arutan alkohol asam 3% (ZN B) berfungsi untuk melunturkan zat warna (decolorization), Saat sel-sel bakteri *M.tuberculosis* menyerap warna carbol fuchsin maka asam mikolat pada dinding bakteri akan mengikat ion sehingga zat carbol fuchsin tidak mudah untuk dilunturkan dengan alkohol asam 3%, bakteri yang bukan BTA + akan mudah dilunturkan karena tidak mampu mengikat ion carbol fuchsin karena tidak mempunyai lapisan asam mikolat pada

*Corresponding Author :

Septiana kevin wulandari

Laboratorium Bakteriologi Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang

E-mail : septianakevin86@gmail.com

dinding selnya seperti halnya BTA +. Bakteri yang bisa mempertahankan zat warna carbol fuchsin setelah ditambah asam alkohol disebut “Basil Tahan Asam”

Methylene Blue (Zn C) merupakan warna tandingan yang berfungsi untuk mewarnai kembali sel-sel yang telah kehilangan warna utama setelah perlakuan dengan alkohol asam 3%. Zat warna methylene blue masuk ke dalam sel bakteri non BTA, sehingga menyebabkan sel bakteri non BTA tersebut menjadi berwarna biru (Lay, 1994)

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh rerata pewarnaan baik yaitu dengan penggenangan alkohol asam 3% selama 3 menit dan 5 menit ada perbedaan yaitu pencucian alkohol asam 3% selama 5 menit pada preparat BTA, yaitu cat warna carbol fuchsin dilunturkan sempurna oleh alkohol asam 3% sehingga warna bakteri BTA berwarna merah dengan latar belakang biru. Pada pencucian alkohol asam 3% selama 3 menit yaitu cat carbol fuchsin tidak luntur sempurna sehingga bakteri non BTA berwarna ungu sama dengan bakteri BTA + yang akan mengganggu pemeriksaan mikroskopis (Lay, 1994)

Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan

Penelitian perbedaan waktu pencucian alkohol asam 3% terhadap hasil pewarnaan Ziehl Neelsen pada preparat BTA diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Berdasarkan hasil penelitian tentang perbedaan pencucian alkohol asam 3% selama 3 menit pada preparat BTA diperoleh hasil baik 0%, jelek 90% dan pewarna pucat 10%
2. Hasil penelitian perbedaan pencucian alkohol asam 3% selama 5 menit pada preparat BTA diperoleh hasil baik 95%, pewarnaan jelek 0%, dan pewarnaan pucat 5%
3. Hasil analisis data maka disimpulkan bahwa yang paling baik adalah dengan pencucian alkohol asam 3% selama 5 menit, BTA terlihat jelas berwarna merah

*Corresponding Author :

Septiana kevin wulandari

Laboratorium Bakteriologi Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang

E-mail : septianakevin86@gmail.com

Saran

Berdasarkan hasil Penelitian yang diperoleh maka saran bagi peneliti selanjutnya sebagai berikut :

1. Direkomendasikan untuk pengecatan preparat BTA pada tahap pencucian alkohol asam 3% bisa dilakukan selama 5 menit khususnya bagi tenaga laboratorium kesehatan
2. Direkomendasikan untuk peneliti selanjutnya menggunakan merk reagen yang berbeda dengan jumlah sampel lebih banyak
3. Direkomendasikan untuk peneliti selanjutnya menggunakan waktu lebih dari 5 menit

Referensi

- Fujiki A, 2007. *Preparasi Sediaan Dahak BTA Yang Baik*. Edisi 2. The Research Institut of Tuberculosis. Jepang.
- Gandasoebarta R. 2007. *Penuntun Laboratorium Klinis*. Edisi 13. Dian Rakyat. Jakarta
- Kemkes RI. 2014. *Pedoman Nasional Pengendalian Tuberculosis*. Dirjen Pengendalian dan Penyehatan Lingkungan. Jakarta
- Kementrian Kesehatan RI. 2012. *Modul Pelatihan Pemeriksaan Dahak Mikroskopis TB*. Jakarta. Dirjen Upaya Kesehatan, Dirjen Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan.
- Lay, B. W. 1994. *Analisa Mikroba di Laboratorium*. Jakarta: PT. Raga Grafindo Persada
- Sondak, M. John Porotu'o, Heriyannis Homentra, 2016, *Hasil Diagnostik Mycobacterium tuberculosis Dari Sputum Penderita Batuk ≥ 2 Minggu Dengan Pewarnaan Ziehl Neelsen Di Puskesmas Paniki Bawah, Tikala Baru Dan Wonasa Manado*, Jurnal
- Utji, R, Harun H. 2013. *Kuman Tahan Asam*. Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran

(Edisi Revisi). Jakarta: Binarupa
Aksara; p. 227- 236



***Corresponding Author :**

Septiana kevin wulandari

Laboratorium Bakteriologi Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah
Semarang

E-mail : septianakevin86@gmail.com