

Pengaruh penundaan sampel sputum yang diperiksa langsung dan ditunda selama 12 jam terhadap hasil pemeriksaan mikroskopis pada penderita TB di Puskesmas Laonti

Sugireng^{1*}, Suwarny¹, Arif Rahman¹

¹Program Studi DIV Teknologi Laboratorium Medis
Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Mandala Waluya
Jl. A.H.Nasution No.G-37, Kendari, Sulawesi Tenggara, Indonesia. 93232
*E-mail: sugireng92@gmail.com

Abstrak: Tuberkulosis merupakan suatu penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penundaan pemeriksaan sampel sputum yang diperiksa langsung dan ditunda selama 12 jam terhadap hasil pembacaan sediaan mikroskopis pada penderita tuberkulosis. Jenis penelitian ini adalah deskriptif observasi. Analisis data menggunakan uji beda *Wilcoxon test dependent*. Hasil penelitian menunjukkan dari ke 20 sampel yang langsung diperiksa diperoleh hasil +1 sebanyak 3 sampel, +2 sebanyak 9 sampel, dan +3 sebanyak 8 sampel, sedangkan pada sampel sputum yang ditunda selama 12 jam pada suhu ruang diperoleh hasil +1 sebanyak 9 sampel, +2 sebanyak 7 sampel, dan +3 sebanyak 4 sampel. Didapatkan sebanyak 9 sampel sputum yang kecenderungan hasilnya berkurang, hasil yang jumlahnya bertambah bertambah tidak ada, dan jumlah sampel sputum yang hasilnya sama antara langsung diperiksa dengan ditunda selama 12 jam pada suhu ruang sebanyak 11 sampel. Hal ini menunjukkan bahwa pemeriksaan sputum tunda 12 jam pada suhu ruang dapat mengakibatkan hasil negatif palsu atau positif palsu.

Kata Kunci: mikroskopik, negatif/ positif palsu, *Mycobacterium tuberculosis*, penderita TB, sputum

Abstract: Tuberculosis is an infectious disease caused by the bacterium *Mycobacterium tuberculosis*. This study aims to determine the effect of delaying the examination of sputum samples that are examined directly and delayed for 12 hours on the readings of microscopic preparations in tuberculosis patients. This type of research is descriptive observation. Data analysis used the *Wilcoxon test dependent*. The results showed that from the 20 samples that were directly examined, 3 samples obtained +1, 9 samples +2, and 8 samples +3, while the sputum sample which was delayed for 12 hours at room temperature obtained 9 +1 results. samples, +2 as many as 7 samples, and +3 as many as 4 samples. There were 9 sputum samples with a tendency to decrease in yield, no results in increasing numbers, and 11 samples of sputum samples with the same results being directly examined and delayed for 12 hours at room temperature. This shows that delayed sputum examination for 12 hours at room temperature can result in false negative or false positive results. There is an effect of the results between direct sputum examination and being delayed for 12 hours at room temperature. It is recommended that TB sputum examination be carried out immediately to avoid false positive or false negative results from microscopic examination.

Keywords: microscopic, *Mycobacterium tuberculosis*, negative/false positive, sputum, TB sufferers

PENDAHULUAN

Tuberculosis atau TB paru merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* yang pada umumnya memengaruhi paru-paru. Penyakit ini ditularkan dari orang ke orang melalui *droplet* dari tenggorokan dan paru-paru seseorang dengan penyakit pernapasan aktif (Amalaguswan et al., 2017). Prevalensi nasional TB (berdasarkan diagnosis tenaga kesehatan dan keluhan responden)

Cara Sitasi:

Sugireng, S., Suwarny, S., Rahman, A. (2023). Pengaruh penundaan sampel sputum yang diperiksa langsung dan ditunda selama 12 jam terhadap hasil pemeriksaan mikroskopis pada penderita TB di Puskesmas Laonti. *Teknosains: Media Informasi dan Teknologi*, 17(3), 360-365. <https://doi.org/10.24252/teknosains.v17i3.42767>

Diajukan 16 Oktober 2023; Ditinjau 3 November 2023; Diterima 10 Desember 2023; Diterbitkan 30 Desember 2023
Copyright © 2023. The authors. This is an open access article under the CC BY-SA license

adalah 0,99%. Sebanyak 17 provinsi mempunyai prevalensi TB paru di atas prevalensi nasional, di mana salah satunya yaitu Provinsi Sulawesi Tenggara. Walaupun diagnosis pasti Tuberkulosis berdasarkan pemeriksaan sputum Basil Tahan Asam (BTA) positif, diagnosis klinis sangat menunjang untuk diagnosis dini terutama pada penderita TB paru anak. Dimana dilaporkan setiap tahunnya diperkirakan ditemukan sebanyak 539.000 kasus baru dengan kematian sekitar 101.000 (Amalaguswan et al., 2017).

Pemeriksaan dahak secara mikroskopis langsung yang bermutu merupakan komponen penting dalam penegakan diagnosis maupun *follow up*. Hasil pemeriksaan dahak yang bermutu merupakan hal yang penting untuk menetapkan klasifikasi penderita, keputusan untuk memulai pengobatan dan menyatakan kesembuhan penderita. Mutu hasil pemeriksaan laboratorium merupakan inti keberhasilan penanggulangan tuberkulosis. Setiap laboratorium yang melakukan pemeriksaan TB harus melakukan pemeriksaan BTA secara mikroskopis (Kemenkes RI, 2017). Untuk pemeriksaan BTA harus menggunakan sampel sputum yang baik sesuai dengan standar sehingga menghasilkan hasil diagnosis yang baik agar tidak terjadi positif palsu maupun negatif palsu dan hal yang tidak diinginkan lainnya. Biasanya sampel yang baik untuk di jadikan pemeriksaan adalah sampel sputum pagi yang dikeluarkan pasien saat pagi hari saat bangun tidur karena dahak pada pagi hari adalah dahak yang masih memiliki banyak kuman. Sampel tersebut dihasilkan sebelum makan atau minum dan sebelum menggosok gigi, tetapi sudah berkumur dengan air untuk bisa membersihkan sisa makanan dalam mulut yang tertinggal. Sputum yang memenuhi syarat harus dari trakea dan bronki bukan berupa air ludah (Fujiki, 2015).

Kualitas sputum untuk pemeriksaan laboratorium adalah penting. Sputum yang baik mengandung beberapa partikel atau sedikit kental dan berlendir, kadang bernanah dan berwarna hijau kekuningan. Guna menjamin spesimen bermutu baik, harus segera dikirim ke laboratorium setelah pengambilan dan dilakukan pemeriksaan. Jika sputum disimpan pada suhu kamar selama satu hari (24 jam) dapat mengakibatkan sputum menjadi encer dan kualitas sediaan menjadi tidak baik, dan baunya lebih tajam. Ada perbedaan hasil dan kualitas sediaan antara sputum langsung diperiksa dengan sputum ditunda pemeriksaannya setelah 24 jam pada suhu kamar (Budiharjo, 2016).

Kualitas sampel sangat memengaruhi jumlah basil tahan asam. Dalam hal ini, jumlah BTA pada sampel yang dilakukan penundaan pemeriksaan, karena di lapangan kerja terjadi penundaan sampel disebabkan banyaknya sampel yang ditangani oleh petugas laboratorium, sehingga sering kali dilakukan penundaan pemeriksaan (Rafika, 2020). Selain itu, penundaan pemeriksaan dapat disebabkan karena letak geografis pengambilan sampel yang jauh dari akses pelayanan kesehatan.

Salah satu daerah di Sulawesi Tenggara yang aksesnya jauh dari pelayanan Puskesmas yaitu di Kecamatan Laonti. Data hasil rekam medik Puskesmas Laonti berdasarkan 3 bulan terakhir tahun 2020 diperoleh data terhadap pasien yang menderita Tuberculosis sebanyak 20 orang. Berdasarkan survei, sebagian masyarakat di daerah tersebut harus menggunakan transportasi laut untuk dapat ke Puskesmas Laonti. Kondisi tersebut menyebabkan proses pemeriksaan sampel TB yang diambil dari suspek TB disimpan terlebih dahulu pada suhu ruang kemudian diperiksa (Yunus, 2018). Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukan penelitian pengaruh penundaan sampel sputum yang diperiksa langsung dan ditunda selama 12 Jam terhadap hasil pemeriksaan sediaan mikroskopis pada penderita TB di Puskesmas Laonti.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus tahun 2021. Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif analitik. Tahapan kerja pada penelitian ini yaitu:

1. Persiapan tindakan

Menyiapkan pot sputum yang ideal yang diberi label identitas pasien yang jelas pada dinding pot sputum, yaitu nama, jenis kelamin, umur.

2. Persiapan pasien

Memberikan informasi kepada pasien tentang tindakan yang akan dilakukan dan minta persetujuan atas tindakan yang akan dilakukan, dan jelaskan kepada pasien bahwa sputum akan diambil sebanyak 3 kali (SPS), sesuai dengan jumlah tabung yang disiapkan, kemudian informasikan kepada pasien untuk tidak makan, minum atau merokok sebelum sputum besok pagi (P) dibatukkan, setelah itu menjelaskan kepada pasien tentang kemungkinan hasil yang akan diperoleh.

3. Pengumpulan sputum

Menginstruksikan kepada pasien untuk berkumur dengan air (jangan ditelan) sebelum sputum dikumpulkan, untuk meminimalisir kontaminasi spesimen oleh sisa makanan atau kotoran lain di dalam mulut, setelah itu tanyakan kepada pasien bila pasien memakai gigi palsu, minta pada pasien untuk melepaskannya, kemudian beritaukan kepada pasien agar menarik napas panjang dan dalam sebanyak 2-3 kali dan setiap kali hembuskan napas dengan kuat, kemudian buka penutup pot sputum lalu dekatkan pada mulut, setelah itu batuk secara dalam untuk mengeluarkan sputum (bukan air liur) dari dalam dada ke dalam pot sputum dan ulangi sampai mendapatkan sputum yang berkualitas baik dan volume yang cukup (3-5 ml/ 1 sendok teh), kemudian segera tutup rapat tabung dengan cara memutar tutupnya, lalu masukkan ke dalam pembungkus atau kantong plastik.

4. Pengambilan sputum

Mengambil dan memilih bagian dari dahak yang *purulent* setelah itu meletakkan sputum yang terdapat pada ose ke kaca sediaan. Sediaan dibuat tersebar merata, ukuran 2 x 3 cm, dan tidak terlalu tipis untuk menghindari apusan menjadi kering sebelum diratakan, kemudian ratakan sediaan dengan membuat spiral-spiral kecil sewaktu apusan setengah kering dengan menggunakan lidi lancip sehingga didapat sebaran leukosit lebih rata dan area baca lebih homogen. selanjutnya, mengeringkan apusan di udara bebas, setelah dikeringkan dilakukan fiksasi apusan dengan pemanasan.

5. Pewarnaan sediaan dan pengamatan dengan mikroskop

Meletakkan sediaan dengan bagian apusan menghadap ke atas pada rak yang ditempatkan di atas bak cuci atau baskom, antara satu sediaan dengan sediaan lainnya masing-masing berjarak kurang lebih 1 jari, setelah itu menggenangi seluruh permukaan sediaan dengan *carbol fuchsin* 0,3%, selanjutnya dipanasi dari bawah dengan menggunakan sulut api setiap sediaan sampai keluar uap (sekitar 5 menit), didiamkan kemudian dipanasi lagi sebanyak 3 kali. Kemudian, didiamkan sediaan selama 5 menit, kemudian dibilas dan dimiringkan sediaan menggunakan penjepit kayu atau pinset untuk membuang air, kemudian genangi dengan asam alkohol sampai tidak tampak warna merah *carbol fuchsin*, kemudian dibilas dan digenangi permukaan sediaan dengan *methylene blue* 0,1% selama 1 menit, kemudian dibilas dan dikeringkan. Selanjutnya, diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100x.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Pengamatan Makroskopis (Karakteristik *Sputum*) dan Mikroskopis

Berdasarkan hasil pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis pada sampel sputum yang diperiksa langsung dan ditunda selama 12 jam dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengamatan makroskopis dan mikroskopis pada sampel sputum yang diperiksa sebelum dan sesudah penundaan

No	Aspek Pengamatan	Jenis sputum	
		Langsung	Tunda 12 jam
1	Pengamatan makroskopis	Sputum prulen	Sputum encer
		Dapat dipisahkan antara sputum dengan saliva	Tidak dapat dipisahkan antara sputum dan <i>saliva</i>
		Warna sputum keruh dan bening	Warna sputum keruh bercampur dengan <i>saliva</i>
		Mudah dibuat sediaan	Sulit dibuat sediaan
2	Pengamatan mikroskopis	Latar belakang lebih kontras dan sebaran dahak merata	Latar belakang kurang kontras dan sebaran dahak tidak merata
		Kesalahan perhitungan BTA positif lebih rendah	Kesalahan hitung BTA positif lebih tinggi karena latar belakang kurang kontras

Berdasarkan Tabel 5 menunjukkan bahwa hasil dari penelitian secara makroskopis dan mikroskopis didapatkan sampel *sputum* pemeriksaan BTA yang langsung dan ditunda 12 jam terdapat beberapa perbedaan fisik yaitu kekentalan, *sputum* awalnya kental (mukoid), setelah disimpan di suhu ruang menjadi encer. Hal ini disebabkan karena suhu ruang yang cenderung hangat dalam waktu lama dapat membuat konsistensi *sputum* menurun. Konsistensi sebuah kloid dapat menurun akibat suhu yang hangat atau panas. Menurut Imaningsih (2013) penyebab encernya *sputum* dapat disebabkan karena suhu hangat dapat menyebabkan pecahnya granula-granula pada senyawa *sputum* sehingga cairan akan keluar dari granula dengan demikian *sputum* tampak lebih encer.

Kondisi *sputum* encer sebagai tanda kualitasnya menurun. *Sputum* encer akan menyulitkan pada saat pembuatan sediaan BTA, karena hasil sediaan yang dibuat menjadi tipis dan tidak rata, sehingga susah untuk dilihat dan dibaca pada mikroskop. Menurut Kemenkes RI (2012), kondisi sediaan yang baik adalah dari *sputum* yang tebal berukuran panjang sekitar 3 cm dan lebar 2 cm berbentuk oval dan rata.

B. Hasil Pembacaan BTA secara Mikroskopis

Berdasarkan hasil pembacaan sediaan BTA secara mikroskopis pada sampel *sputum* yang diperiksa langsung dan ditunda selama 12 jam dapat dilihat pada Tabel 2. Berdasarkan hasil penelitian pada dapat dihasilkan bahwa dari 20 sampel *sputum* langsung dan ditunda selama 12 jam pada suhu ruang setelah dilakukan pemeriksaan mikroskopis, didapatkan 9 sampel dengan hasil yang berbeda. Pada sampel *sputum* yang langsung diperiksa diperoleh hasil positif 1 sebanyak 3 sampel, positif 2 sebanyak 9 sampel, dan positif 3 sebanyak 8 sampel, sedangkan pada sampel *sputum* yang ditunda selama 12 jam pada suhu ruang diperoleh hasil positif 1 sebanyak 9 sampel, positif 2 sebanyak 7 sampel, dan positif 3 sebanyak 4 sampel. Dari 20 sampel *sputum* langsung diperiksa dengan ditunda selama 12 jam pada suhu ruang, didapatkan sebanyak 9 sampel *sputum* yang kecenderungan hasilnya berkurang (negatif), hasil yang jumlahnya bertambah bertambah (positif) tidak ada 0 dan jumlah sampel *sputum* yang hasilnya sama antara langsung di periksa dengan ditunda selama 12 jam pada suhu ruang sebanyak 11 sampel.

Tabel 2. Hasil pembacaan mikroskopis sediaan BTA

Kode Sampel	Varian waktu penundaan/ jam	
	Sputum langsung	Sputum tunda 12 jam
1	Positif 1	Positif 1
2	Positif 2	Positif 1
3	Positif 3	Positif 2
4	Positif 2	Positif 1
5	Positif 3	Positif 3
6	Positif 2	Positif 1
7	Positif 2	Positif 2
8	Positif 2	Positif 1
9	Positif 2	Positif 2
10	Positif 1	Positif 1
11	Positif 3	Positif 3
12	Positif 3	Positif 3
13	Positif 2	Positif 1
14	Positif 3	Positif 2
15	Positif 2	Positif 2
16	Positif 1	Positif 1
17	Positif 3	Positif 2
18	Positif 2	Positif 2
19	Positif 3	Positif 3
20	Positif 3	Positif 1

Berdasarkan hasil pemeriksaan dan analisis dihasilkan bahwa pemeriksaan *sputum* yang ditunda selama 12 jam pada suhu ruang dapat mengakibatkan jumlah bakteri tahan asam (BTA) menurun yang dapat menyebabkan hasil negatif semu. Penurunan jumlah BTA ini dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu nutrisi, proses enzimatis pada *sputum* dan perubahan konsistensi *sputum*. Sama seperti bakteri lainnya, bakteri tahan asam juga membutuhkan nutrisi untuk dapat bertahan hidup. Pada *sputum*, BTA hanya dapat menggunakan nutrisi yang ada di dalamnya. Nutrisi dalam *sputum* ini terbatas jumlahnya, sehingga ketika nutrisi dalam *sputum* akhirnya habis akibat digunakan secara terus menerus, BTA akan kehilangan sumber energinya dan mati. Hal ini sesuai dengan teori kurva pertumbuhan yang menyatakan bahwa sebagian besar populasi bakteri akan mulai mengalami kematian karena nutrisi di dalam medium sudah habis, adanya zat racun dan habisnya energi cadangan di dalam sel (Wuryanti, 2012). Penurunan jumlah BTA adalah proses enzimatis yang terjadi dalam *sputum*. Sel leukosit dalam sputum mengandung enzim- *neutrophilelastase* dan *alpha-naphtyl acetate esterase* yang masih dapat bekerja sampai 72 jam meski aktivitasnya akan terus menurun. Neutrofil elastase disekresikan oleh neutrofil selama peradangan, dan menghancurkan bakteri dan jaringan inang (Jugniot et al., 2019). Proses enzimatis ini menyebabkan rusaknya struktur dinding BTA sehingga menghilangkan sifat tahan asam yang dimiliki BTA. Bakteri tahan asam yang seharusnya menyerap warna merah dari *carbol fuchsin* tidak dapat lagi mempertahankan warnanya saat ditambahkan dengan alkohol asam dan ikut terwarnai oleh metilen blue sehingga berwarna biru. Akibatnya sel tidak terbaca sebagai BTA sehingga berpengaruh pada penurunan jumlah BTA.

Perubahan jumlah BTA juga dipengaruhi karena suhu penyimpanan pada suhu ruang. Menurut Zhao et al. (2013) spesimen *sputum* yang disimpan pada suhu ruang (25°C) selama 24 jam dapat mengakibatkan *sputum* mengalami perubahan fisik yang awalnya kental (*purulent* atau *mukopureulen*) menjadi encer. Sediaan yang berasal dari sampel *sputum* yang ditunda selama 12 jam pada suhu ruang membutuhkan waktu yang lebih lama dalam pembuatan sediaan, karena kualitas sampel *sputum* sudah encer dan

menghasilkan sediaan yang tipis yang artinya kualitas contoh uji dan ketebalan tidak baik (Budiharjo & Purjanto, 2016).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, kesimpulan yang diperoleh yaitu terdapat pengaruh hasil terhadap penundaan pemeriksaan sampel *sputum* langsung periksa dan ditunda selama 12 jam pada suhu ruang terhadap hasil pengamatan makroskopis dan mikroskopis.

DAFTAR PUSTAKA

- Amalaguswan, A., Junaid, J., & Fachlevy, A. F. (2017). Analisis faktor risiko kejadian penyakit Tb paru di Wilayah Kerja Puskesmas Puuwatu Kota Kendari. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kesehatan, Masyarakat*, 2(7), 250-731.
- Budiharjo, T., & Purjanto, K. A. (2016). Pengaruh penanganan sputum terhadap kualitas sputum penderita TBC secara mikroskopis Bakteri Tahan Asam. *Jurnal Riset Kesehatan*, 5(1), 40-44.
- Fujiki, A. (2015). *Mikroskopis Tuberculosis (TB) Untuk Program Tuberculosis Nasional*. Jakarta WHO Indonesia
- Jugniot, N., Voisin, P., Bentaher, A., & Mellet, P. (2019). Neutrophil esterase activity imaging: Recent approaches in design and application of activity based probes. *Contrast Media & Molekuler Imaging*, 1-12.
- Kementerian Kesehatan RI. (2017). *Kebijakan Penanggulangan TB*. Jakarta: Kemenkes RI.
- Kementrian Kesehatan RI. (2012). Modul Pelatihan Pemeriksaan Dahak Mikroskopik TB. Jakarta: Direktorat Jendral Bina Upaya kesehatan.
- Kementrian Kesehatan RI. (2012). TBC Masalah Kesehatan Dunia. Jakarta: Kemenkes RI.
- Muin, W. O. N., Kalma, A., & Rafika, R. (2020). Pengaruh lama penyimpanan dahak pagi pada suhu kamar terhadap jumlah tahan asam (BTA). *Jurnal Media Analis Kesehatan*, 2(11): 106.
- Wuryanti, W. (2012). Pengaruh penambahan biotin pada media pertumbuhan terhadap produksi sel *Aspergillus niger*. *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi*, 10(2), 46-50.
- Yunus, M. Y. (2018). Faktor risiko yang berhubungan dengan kejadian Tb paru di wilayah pesisir Kecamatan Tallo Kota Makassar (wilayah kerja Puskesmas Rappokalling). Makassar: Universitas Hasanuddin.
- Zhao, J., Evans, C. R., Carmody, L. A., & Li Puma, J. J. (2015). Impact of storage conditions on metabolite profiles of sputum samples from persons with cystic fibrosis. *Journal of Cystic Fibrosis*, 14(4): 468–473.