

**PENGARUH WAKTU PENYIMPANAN SPESIMEN SPUTUM PADA SUHU RUANG TERHADAP HASIL PENILAIAN BAKTERI TAHAN ASAM (BTA)**

Ni Luh Sekar Asih, Ni Wayan Desi Bintari<sup>1</sup>, Putu Gede Subhaktiyasa<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Teknologi Laboratorium Medis (Diploma Tiga) STIKes Wira Medika Bali  
Surat elektronik: desibintari@gmail.com

<sup>2</sup>Program Studi Teknologi Laboratorium Medis (Program Sarjana) STIKes Wira Medika Bali  
Jalan Kecak No.9A Gatot Subroto Denpasar, Bali, Indonesia, 80239

**ABSTRAK**

Penegakan diagnosis tuberculosis (TB) paru salah satunya dilakukan melalui pemeriksaan penunjang laboratorium. Kualitas spesimen diketahui akan sangat berpengaruh terhadap hasil pemeriksaan. Guna menjamin kualitas spesimen yang baik, sputum dari pasien TB paru harus segera diperiksa setelah pengambilan. Meskipun demikian kondisi di lapangan terkadang mengakibatkan terjadi penundaan terhadap pengujian. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh waktu penyimpanan spesimen sputum pada suhu ruang terhadap hasil penilaian BTA. Penelitian dilakukan di Laboratorium Rumah Sakit Tingkat II Udayana Denpasar pada Januari-April 2020. Jenis penelitian ini adalah *pre-experimental design* dengan pendekatan *one-shoot case study*. Penyimpanan sputum dilakukan selama 24 jam dan 48 jam pada suhu 22-25<sup>0</sup>C. Pemeriksaan BTA dilakukan dengan teknik pewarnaan Ziehl Neelsen dan dilakukan penilaian BTA berdasarkan skala IUATLD. Data hasil penelitian dilakukan analisa normalitas data dan uji *Friedman*. Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan hasil penilaian BTA pada spesimen segera diperiksa dengan yang disimpan pada suhu ruang selama 24 jam dan 48 jam. Berdasarkan uji *Friedman* didapatkan nilai P sebesar 0,00 (P<0,05) sehingga disimpulkan terdapat pengaruh waktu penyimpanan spesimen sputum pada suhu ruang terhadap hasil penilaian BTA.

Kata kunci: Sputum, Tata Kelola Spesimen, Tuberculosis, *Ziehl Neelsen*

**ABSTRACT**

One of the ways to establish a diagnosis of pulmonary tuberculosis is through laboratory investigations. The quality of the specimen is known to greatly affect the results of the examination. In order to ensure good quality specimens, sputum from pulmonary tuberculosis patients should be examined immediately after collection. However, conditions in the field sometimes result in delays in testing. This study aims to determine whether or not there is an effect of storage time for sputum specimens at room temperature on the results of acid fast bacilli assessment. The research was conducted at Udayana Tingkat II General Hospital Denpasar in January-April 2020. Type of research was a pre-experimental design with a one-shoot case study approach. Sputum storage was carried out for 24 hours and 48 hours at a temperature of 22-25<sup>0</sup>C. Acid fast bacilli examination was carried out using the Ziehl Neelsen staining technique and acid fast bacilli assessment was carried out based on the IUATLD scale. The research data were analyzed for normality of the data and Friedman's test. The results showed that there were differences in the results of the acid fast bacilli assessment on specimens immediately examined and those stored at room temperature for 24 hours and 48 hours. Based on the Friedman test, it was found that the P value was 0.00 (P <0.05) so that it was concluded that there was an effect of storage time for sputum specimens at room temperature on the results of acid fast bacilli assessment.

Keywords: Sputum, Sample handling, Tuberculosis, *Ziehl Neelsen*

**PENDAHULUAN**

Tuberkulosis paru (TB paru) merupakan infeksi yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* yang bersifat menular langsung. Infeksi TB paru diketahui menyebar hamper di sepertiga penduduk dunia termasuk di Indonesia. Bahkan, angka kejadian TB paru di Indonesia menurut WHO menempati peringkat ketiga dunia setelah Cina dan India (Khariri, 2020). Data Riskesdas tahun 2018 melaporkan bahwa dari seratus ribu penduduk terdapat 321 kemungkinan kasus TB paru yang terjadi (Kementrian Kesehatan, 2018).

Penegakan diagnosis TB paru dapat dilakukan dengan anamnesa, pemeriksaan fisik, pemeriksaan laboratorium (darah dan sputum), foto toraks dan uji tuberculin. Semua pasien *suspect* TB paru harus dilakukan pemeriksaan bakteriologis yang merujuk pada pemeriksaan apusan sputum, kultur atau metode pemeriksaan cepat lainnya. Pada fasilitas kesehatan pemeriksaan apusan sputum untuk hitung BTA merupakan teknik yang paling sederhana dan mudah dilakukan. Pemeriksaan tersebut harus dilakukan dengan cepat dan tepat karena menentukan langkah terapi yang diberikan (Ramadhan *et al.*, 2017; Khariri, 2020).

Pemeriksaan apusan sputum BTA merupakan pemeriksaan yang paling efisien, mudah, murah dan bersifat spesifik (Suryawati *et al.*, 2018; Husna dan Dewi, 2020). Mutu spesimen sputum untuk pemeriksaan sangat perlu untuk diperhatikan karena diduga berkaitan dengan jumlah kuman yang mungkin ditemukan dalam pemeriksaan BTA. Sputum yang digunakan sebaiknya adalah sputum yang benar-benar segar, tidak terkontaminasi oleh bakteri lain sehingga tidak menyebabkan interpretasi hasil yang salah (Handoko *et al.*, 2013).

Adapun kesalahan yang cukup sering terjadi di lapangan adalah terkait penyimpanan dari sampel sputum. Sampel sputum yang dilakukan penundaan pemeriksaan terkadang tidak disimpan pada tempat yang dingin (suhu 4-8<sup>0</sup>C) (Yakin dan Arista, 2015). Berdasarkan observasi yang dilakukan di salah satu rumah sakit di Denpasar terkadang sampel sputum dilakukan penundaan pemeriksaan hingga 48

jam. Penundaan pemeriksaan dilakukan karena tidak memungkinkan dilakukan pemeriksaan segera akibat banyaknya jumlah sampel yang masuk ke laboratorium. Penyimpanan sampel sputum dilakukan pada suhu ruang dengan kisaran suhu 22-25<sup>0</sup>C.

Penundaan waktu pemeriksaan dan penyimpanan sputum pada suhu yang kurang tepat tentunya dapat mempengaruhi kualitas sputum dan hasil pemeriksaan mikroskopis BTA. Berdasarkan hal tersebut pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penundaan spesimen sputum TB paru selama 24 dan 48 jam pada suhu ruang terhadap hasil penilaian mikroskopis BTA.

## **METODE**

Jenis penelitian yang digunakan adalah *pre-experimental design* dengan pendekatan *one-shoot case study*. Terdapat 3 perlakuan pada penelitian ini yaitu spesimen sputum tanpa penundaan, ditunda 24 jam dan ditunda 48 jam. Penyimpanan spesimen sputum untuk penundaan perlakuan dilakukan dalam suhu ruang dengan kisaran 22-25<sup>0</sup>C. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Klinik Rumah Sakit Tingkat II Udayana Denpasar pada Januari – April 2020.

### **Populasi dan sampel**

Populasi pada penelitian ini adalah pasien TB paru di RS TK. II Udayana Denpasar yang melakukan pemeriksaan laboratorium pada Januari 2020. Besaran sampel yang digunakan adalah sebanyak 15 sampel dengan teknik pengambilan sampel *accidental quota sampling*. Sampel yang digunakan adalah sampel sputum pagi hari pasien TB.

### **Prosedur pemeriksaan**

Spesimen sputum pagi yang telah dikumpulkan dilakukan pemeriksaan BTA dengan pengecatan ziehl neelsen. Pemeriksaan pada masing-masing spesimen yang terkumpul dilakukan sebanyak 3 kali yaitu dengan perlakuan sebagai berikut :

P1: spesimen sputum segera dilakukan pengecatan BTA.

P2: spesimen sputum dilakukan penundaan selama 24 jam pada suhu ruang kemudian dilakukan pengecatan BTA.

P3: spesimen sputum dilakukan penundaan selama 48 jam pada suhu ruang kemudian dilakukan pengecatan BTA.

Hasil perhitungan terhadap jumlah BTA selanjutnya dilakukan penilaian mikroskopis berdasarkan skala IUATLD.

#### Analisa data

Data penilaian mikroskopis sputum dilakukan uji *Friedman* dengan menggunakan program *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS).

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemeriksaan mikroskopis sputum dilakukan untuk hitung nilai BTA yang selanjutnya dilakukan penilaian berdasarkan skala IUATLD. Spesimen sputum dilakukan pemeriksaan sebanyak 3 kali yaitu tanpa penundaan, ditunda 24 jam dan ditunda 48 jam. Penyimpanan spesimen dilakukan pada ruang kamar dengan kisaran suhu 22-25°C. Hasil pemeriksaan menunjukkan terdapat perbedaan hasil penilaian mikroskopis BTA pada spesimen sputum yang diperiksa tanpa penundaan dibandingkan spesimen yang ditunda pemeriksaannya selama 24 jam dan 48 jam (Tabel 1).

Berdasarkan data pada Tabel 1. diketahui bahwa penundaan pemeriksaan spesimen sputum yang disimpan pada suhu ruang dapat menyebabkan hasil negatif palsu yang tinggi. Pada sputum yang langsung diperiksa dari 15 sampel tidak ditemukan hasil negatif. Namun setelah ditunda selama 24 jam terdapat 2 sampel dengan hasil negatif. Hasil negatif palsu meningkat pada penundaan sputum selama 48 jam dimana didapatkan hasil negatif dari 10 spesimen sputum yang diperiksa. Hasil penilaian BTA ini selanjutnya dilakukan pengujian normalitas dan uji *friedman* untuk melihat ada atau tidaknya pengaruh nyata penundaan pemeriksaan spesimen sputum pada suhu ruang terhadap hasil penilaian BTA.

Hasil uji *Friedman* diperoleh nilai sig. sebesar 0,000 yang menunjukkan bahwa nilai *p value* < 0,05 (Tabel 2.). Berdasarkan hal tersebut maka H0 ditolak dan Ha diterima yang menunjukkan bahwa terdapat pengaruh penundaan pemeriksaan spesimen sputum tanpa penundaan, ditunda 24 jam dan ditunda 48 jam pada suhu ruang terhadap hasil penilaian mikroskopis BTA.

**Tabel 1.** Hasil penilaian basil tahan asam (BTA)

Hasil	Tanpa penundaan (P1)	Ditunda 24 jam (P2)	Ditunda 48 jam (P3)
Negatif	0	2	10
Scanty	3	6	4
+1	8	6	1
+2	4	1	0
+3	0	0	0
Jumlah	15	15	15

**Tabel 2.** Hasil uji *Friedman* penilaian basil tahan asam (BTA)

Pemeriksaan sputum	N	Mean Rank	Sig. (P)	Keterangan
P1 Tanpa penundaan	15	1,40	0,000	Ada perbedaan signifikan
P2 Ditunda 24 jam	15	1,77		
P3 Ditunda 48 jam	15	2,83		



Pemeriksaan mikroskopis sputum memiliki nilai identic dengan pemeriksaan biakan. Pemeriksaan sputum mikroskopis masih dianggap efisien, mudah, murah dan bersifat spesifik. Pemeriksaan ini juga dapat dilaksanakan di semua ujit laboratorium fasyakes yang memiliki mikroskop dan tenaga laboratorium mikroskopis TB terlatih. Penjunajng keberhasilan uji mikroskopis sputum adalah kualitas sputum agar tidak didapatkan hasil BTA negatif atau positif palsu (Budiharjo dan Purjanto, 2016).

Pada penelitian ini berdasarkan hasil uji *Friedman* diketahui bahwa terdapat pengaruh penundaan pemeriksaan spesimen sputum selama 24 jam dan 48 jam yang disimpan pada suhu ruang terhadap hasil penilaian mikroskopis BTA. Hal tersebut ditunjukkan dengan nilai signifikansi  $P < 0,05$  (Tabel 2). Hasil pada Tabel 1. Juga menunjukkan bahwa nilai BTA pada tiap-tiap penundaan mengalami perubahan nilai. Sehingga berdasarkan data tersebut penundaan spesimen sputum pada suhu ruang tidak disarankan karena dapat berpengaruh terhadap perubahan nilai positif atau negatif mikroskopis BTA.

Hasil penelitian yang didapatkan juga didukung oleh Budiharjo dan Purjanto (2016) yang melakukan penundaan spesimen sputum selama 24 jam pada suhu  $25^{\circ}\text{C}$ . Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa berdasarkan hasil uji *Z* terdapat beda nyata ( $p < 0,05$ ) antara sputum yang segera diperiksa dengan sputum yang ditunda 24 jam terhadap hasil hitung BTA mikroskopis sputum.

Adanya perbedaan hasil pada masing – masing perlakuan pada penelitian ini diduga dipengaruhi oleh penurunan kualitas sputum akibat adanya penyimpanan pada suhu ruang ( $22-25^{\circ}\text{C}$ ) selama 24 dan 48 jam. Menurut Zhao *et al.* (2013) spesimen sputum yang disimpan pada suhu ruang ( $25^{\circ}\text{C}$ ) selama 24 jam atau lebih dapat mengakibatkan sputum mengalami perubahan fisik yang awalnya kental (purulent atau mukopureulen) menjadi encer.

Lebih lanjut Budiharjo dan Purjanto (2016) menyatakan sputum encer bisa terjadi karena suhu ruang yang cenderung hangat

( $25^{\circ}\text{C}$ ) dapat membuat konsistensi sputum menurun. Suhu hangat dapat menyebabkan pecahnya granula-granula pada sputum sehingga cairan akan keluar dan sputum tampak lebih encer. Kondisi sputum yang encer artinya kuliatasnya menurun sehingga sulit untuk membuat sediaan BTA. Sediaan akan menjadi tipis, kadang sulit untuk diratakan dan sediaan menjadi tidak baik.

Sputum yang disimpan pada suhu hangat juga dapat menjadi sumber nutrisi bagi mikroorganisme selain *M. tuberculosis*. Pertumbuhan bakteri dan jamur pembusuk pada spesimen sputum dapat mempengaruhi kualitas sediaan sputum. Bakteri atau jamur kontaminan dapat menutupi BTA yang terdapat pada sediaan. Pengamatan yang terganggu dapat menyebabkan hasil pembacaan mikroskopis menjadi tidak jelas dan dapat mempengaruhi jumlah perhitungan BTA (Susanti *et al.*, 2013).

Adanya perubahan konsistensi sputum akan menyulitkan petugas laboratorium dalam membuat sediaan yang baik. Sediaan yang baik harus memenuhi 6 kriteria standar diantaranya spesimen purulent atau mukopurulen, pewarnaan baik, bersih, ketebalan baik, ukuran sesuai dan kerataan yang baik ( $>80\%$ ). Petugas laboratorium diharapkan dapat memahami prosedur pengelolaan spesimen yang baik untuk mendukung ketepatan diagnosis. Spesimen sputum untuk pemeriksaan BTA disarankan segera dilakukan setelah pengambilan sampel. Hal tersebut dilakukan untuk meminimalisir kesalahan hasil yang tidak baik seperti positif atau negatif palsu yang dapat menyebabkan kesalahan dalam pengambilan keputusan pengobatan pasien (Handoko *et al.*, 2013; Pertiwi dan Rini, 2020).

## KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh nyata waktu penyimpanan spesimen sputum selama 24 jam dan 48 jam yang disimpan pada suhu ruang ( $22-25^{\circ}\text{C}$ ) terhadap hasil penilaian basil tahan asam secara mikroskopis.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Laboratorium Rumah Sakit Tingkat II Udayana Denpasar yang telah memberikan ijin pengambilan spesimen dan pelaksanaan penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

Kementerian Kesehatan RI. 2018. *Laporan Nasional Riskesdas 2018*.

Zhao, J., Evans, C. R., Carmody, L. A., & LiPuma, 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.

Yaqin, M. A., & Arista, D. 2015. Analisis Tahap Pemeriksaan Pra Analitik Sebagai Upaya Peningkatan Mutu Hasil Laboratorium di RS. Muji Rahayu Surabaya. *Jurnal Sains*, 5(10):1–7.

Ramadhan, R., Fitria, E., & Rosdiana. 2017. Deteksi Mycobacterium tuberculosis dengan Pemeriksaan Mikroskopis dan Teknik PCR Pada Penderita Tuberkulosis Paru di Puskesmas Darul Imarah. *Jurnal Penelitian Kesehatan*, 4(2): 73–80.

Suryawati, B., Saptawati, L., Febyane Putri, A., & Aphridasari, J. 2018. Sensitivitas Metode Pemeriksaan Mikroskopis Fluorokrom dan Ziehl-Neelsen untuk Deteksi Mycobacterium tuberculosis pada Sputum. *Smart Medical Journal*, 1(2): 56–61.

Pertiwi, D. L., & Rini, T. 2020. Pengaruh Kompetensi Tenaga Analis Kesehatan Terhadap Persiapan, Proses, Serta Pembacaan Hasil Direct Preparat Ziehl-Neelsen (Zn) Di Puskesmas Rujukan Mikroskopis (PRM) Di

Surabaya. *SANITAS: Jurnal Teknologi Dan Seni Kesehatan*, 11(1): 41–52.

Susanti, D., Kountul, C., & Buntuan, V. 2013. Pemeriksaan Basil Tahan Asam (BTA) Pada Sputum Penderita Batuk > 2 Minggu di Poliklinik Penyakit Dalam BLU RSUP. Prof. Dr. R.D Kandou Manado. *Jurnal E-CliniC (ECl)*, 1(1): 1–5.

Husna, N., & Dewi, N. U. 2020. Perbandingan Hasil Pemeriksaan Mikroskopis Basil Tahan Asam Metode Dekontaminasi Dengan Metode Tes Cepat Molekuler. *Jurnal Riset Kesehatan Poltekkes Depkes Bandung*, 12(2): 316–323.

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.

Khariiri. 2020. Pemeriksaan Basil Tahan Asam (BTA) pada Sputum dengan Pewarnaan Ziehl Neelsen (ZN) Sebagai Metode Populer untuk Penegakkan Diagnosis TB Paru. *Prosiding Seminar Nasional SMIPT 2020*, 3(1): 132–139.

Handoko, A., Aminah, S., & Marhamah. 2013. Hubungan Kualitas Spesimen Sputum Dengan Gradasi Hasil Pemeriksaan BTA Pada Penderita TB Paru Di Kabupaten Pringsewu Tahun 2012. *Jurnal Analis Kesehatan*, 2(2): 290–297.