

TEKNIK SENTRIFUGASI UNTUK MENINGKATKAN PENEMUAN BAKTERI TAHAN ASAM (BTA) DARI SPUTUM PENDERITA TBC MELALUI METODE ZIELH-NEELSEN

Merryani Girsang; Sumarti ; Dany.R ; Tami ; Irawati Olli ; Gendro Wahyuhono*

Abstrak

TBC adalah salah satu penyakit menular yang dapat menularkan bakteri tuberculosis kepada orang lain disekitar penderita, penyakit ini banyak ditemukan pada masyarakat dengan tingkat sosio ekonomi rendah dan lemah. Untuk itu diperlukan suatu tindakan dalam membantu penderita TBC, agar kuman tuberculosis penyebab penyakit dapat dengan segera diketemukan, dan penderita cepat diobati dan sembuh sehingga tidak menular kepada orang. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan metode alternatif pemeriksaan laboratorium melalui teknik sentrifugasi pada sampel sputum penderita TBC di Rumah Sakit Paru Cisarua Bogor. Tujuan penelitian meningkatkan perolehan jumlah BTA (Bakteri Tahan Asam) dengan pertimbangan teknik pemeriksaan nya mudah, murah dengan tingkat akurasi hasil yang memadai.

Penelitian dilaksanakan tahun 2000/2001, dari populasi suspek TB-paru dengan pengambilan sputum pagi dan siang dari 112 orang, dengan metode eksperimen study melalui cara konvensional dan teknik sentrifugasi, analisis data dengan t-test pada $P=0,05$, peningkatan perolehan jumlah BTA (Bakteri Tahan Asam) menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kedua uji yaitu $F_{hitung} > F_{tabel}$, dengan teknik sentrifugasi perolehan bakteri tahan asam lebih meningkat daripada cara konvensional. Hasil penelitian digambarkan melalui tabulasi frekwensi dengan prosentase dan histogram. Teknik sentrifugasi menunjukkan peningkatan penemuan Bakteri Tahan Asam (BTA) pada laki-laki lebih besar dari pada perempuan, yaitu sebesar 68 (61,71%) dan 44(39,29%) perempuan, yang diikuti dengan peningkatan pada usia produktif kerja antara usia 30-44 tahun sebanyak 53 orang (46,43%). Pengambilan sputum pagi lebih baik daripada sputum siang. Pada sputum pagi meningkat sebesar 52 (46,43%) dan siang sebesar 32 (28,57%) Penelitian ini sebagai preliminary study untuk penelitian lanjutan, dan sebagai informasi bagi program TB-paru untuk kebijakan dalam peningkatan pengetahuan terhadap mutu pemeriksaan BTA di puskesmas atau rumah sakit, agar false positif atau false negatif tidak terjadi, sehingga angka kesalahan pemeriksaan laboratorium kurang dari 5% terlaksana dengan baik, dan Obat Anti Tuberculosis (OAT) dapat berdaya guna penyembuhan penderita TB-paru di masyarakat.

Kata kunci: TB-paru, BTA, sputum, konvensional, teknik sentrifugasi.

Pendahuluan

Penanggulangan TBC secara nasional sudah dimulai sejak tahun 1969, pada tahun 1993 penyakit ini sudah menyebar didunia sehingga menyebabkan kematian hingga 3 juta orang setiap tahun. Sesuai dengan data Pemberantasan TB-Paru jumlah kematian yang diakibatkan oleh penyakit ini terus meningkat sejalan dengan pertambahan jumlah penduduk

berturut-turut pada tahun 1980,1986,1992 sebesar 8,4 %, 8,6 %, dan 9,9 %, Pada tahun 1994 dengan kesepakatan dari NTP (National Tuberculosis Programme) dimulai pengobatan TB-Paru dengan harapan, penderita TB-paru di masyarakat dapat diobati dengan standar pengobatan yang lengkap sampai sembuh, agar penularan penyakit kepada orang lain tidak terjadi.

Berbagai upaya telah dilakukan baik oleh pemerintah maupun oleh pihak swasta untuk penanggulangan penyakit ini, diantaranya pemberantasan TB-paru melalui lintas sektoral dan lintas program, akan tetapi penularan penyakit masih terus berlanjut dan tidak diketahui kapan penyakit ini dapat diberantas. Kuman tuberculosis dengan ukurannya yang kecil 1-4 milli mikron dengan lebar tubuh 0,2-0,6 milli mikron mudah masuk ke paru secara inhalasi udara melalui sistem pernafasan, melalui hidung, pangkal tenggorok (laring), batang tenggorok (trahea) dan ke paru melalui percabangan bronkus dan bronkiolus hingga ke alveolus, bakteri akan menetap secara dorman (diam) di jaringan alveolus, karena banyak mengandung oksigen sebagai bahan dalam perkembang biakan bakteri. Dan sebagai akibatnya bila bakteri tuberculosis menimbun di paru maka penderita reflek untuk batuk, dan menyebabkan bakteri tuberculosis akan tersemprot keluar dari mulut akibat batuk atau bersin. Hal inilah yang menyebabkan penyebaran bakteri tuberculosis kepada orang lain disekitar penderita yang tidak dapat dihindarkan, keadaan ini mudah terjadi dimana saja terutama pada masyarakat yang hidup di lingkungan yang pengap kumuh dan miskin³.

Mengacu kepada target program secara global, *case finding* harus mencapai 70% dengan *success rate* 85%. Tahun 1998 data *case finding* sebesar 9,8% sedangkan target utama GERDUNAS⁴ dalam rangka penanggulangan TB di Indonesia adalah: 85% dari cakupan suspek TB 70% dengan angka kesalahan laboratorium tidak lebih dari 5%⁴. Berbagai cara menentukan diagnosa dan pemeriksaan TB mulai dari yang konvensional sampai yang modern telah dilakukan, akan tetapi teknik-teknik pemeriksaan yang modern tidak dapat digunakan secara luas di tingkat puskesmas karena biaya pemeriksaannya mahal, disamping itu sebagian masyarakat tidak sanggup membayar harga yang mahal, karena kebanyakan penderita TB-paru adalah golongan sosial ekonomi rendah dan miskin⁵.

Berangkat dari kenyataan tersebut maka dilakukan uji coba penelitian dari sampel sputum suspek TB-paru, melalui teknik sentrifugasi dengan membandingkan perolehan jumlah bakteri tahan asam dari cara konvensional (cara lama) yang umumnya dilakukan di puskesmas atau rumah sakit. Teknik sentrifugasi dalam prosesing sampel sputum belum umum dilakukan terhadap sputum penderita TBC. Pengujian ini dilakukan

sebagai alternatif dalam usaha meningkatkan penemuan BTA (Bakteri Tahan Asam) pada sampel sputum suspek TB-paru^{6,7}.

Tujuan penelitian mensukseskan program pemerintah dalam rangka meningkatkan dan mengurangi angka kesalahan pemeriksaan laboratorium (<5%),¹⁵ dan secara khusus meningkatkan akurasi hasil pemeriksaan BTA melalui pewarnaan metode Ziehl-Neelsen^{8,9}.

Bahan Dan Cara Kerja

Penelitian ini merupakan pengembangan metode pemeriksaan BTA secara langsung (konvensional) dengan membandingkan teknik sentrifugasi dengan pewarnaan metode Ziehl-Neelsen. Sampel penelitian berupa sputum dari suspek TB-paru, yang diambil pada pagi hari dan siang hari, pemeriksaan melalui mikroskopis binokuler.

1. Bahan dan Alat

Bahan-bahan dan alat laboratorium adalah yang umum digunakan oleh laboran di Puskesmas maupun di Rumah Sakit, diantaranya reagen Ziehl-Neelsen yang terdiri dari CF (Carbol Fuchsin), asam alkohol, methilene blue^{10,11}. Air keran bersih mengalir, *slide frosted-end*, ose (*wire loop*), botol kaca transparant tempat pasir alkohol sebagai desinfektan, rak, tabung sentrifugasi diameter 0-5 cm transparan bertutup ulir, pot sputum transparant, desinfektan sebagai pengaman wadah pembuangan pot bekas pakai. Sebagai alat penunjang digunakan *portable centrifuge* kecepatan 1500-3000 r.p.m¹² dan mikroskop binokuler dan semua uji dilakukan didalam *safety cabinet*¹³

2. Cara Pengambilan Sampel

Sampel sputum diambil dari pasien yang datang dengan keluhan demam, batuk-batuk lebih dari 2-3 minggu, keringat malam hari walau tidak ada aktifitas dan tanda lain yang spesifik. Sputum dtampung dari hasil yang dibatukkan sebanyak 3-5 ml dari sputum pagi dan siang hari, ditampung dalam pot transparan¹⁴ dan langsung dilakukan tes pemeriksaan. Pengambilan sampel dalam kurun waktu 5 bulan penelitian, dengan pengambilan sampel selama 2 hari, yaitu hari pertama ketika datang pertama kali dan hari kedua (siang) diambil pada saat pasien datang pada hari kedua¹

3. Pemeriksaan laboratorium

Pemeriksaan laboratorium dengan metode pewarnaan Ziehl-Neelsen (Z-N)¹³, dengan perlakuan seperti biasa yang umum dilakukan di puskesmas atau rumah sakit yaitu secara konvensional secara langsung sampel sputum diperiksa setelah diwarnai dengan Z-N terhadap sputum pagi dan siang. Dengan teknik sentrifugasi ditambahkan NaOH 4% perbandingan 1:1 yang berfungsi sebagai dekontaminant dan mukolitik pada sputum yang purulent⁹ selanjutnya dikocok hingga bercampur, dan inkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit selanjutnya sentrifugasi 1500-3000 r.p.m selama 15 menit, hasil sentrifugasi berupa endapan dipancing dengan ose oleskan pada permukaan preparat secara sirkel hingga 2 cm x 3 cm secara merata¹³ perlakuan ini sama pada cara konvensional, selanjutnya diwarnai dengan Z-N dengan meneteskan CF diatas permukaan preparat dan panaskan hingga menguap, cuci air kran, tetesi asam alkohol, dan dibilas selanjutnya dengan counter stain^{(15)*} methylene blue 1%, setelah dicuci dan dikeringkan, dibaca dengan mikroskop binokuler. Penggunaan sentrifugasi pernah dilakukan oleh San Jae Kim (1996)^{(7)*} seorang peneliti dari Institute of Tuberculosis di Seoul Korea, bahwa dengan sentrifugasi kecepatan 3000 r.p.m meningkat penemuan bakteri tuberculosis sebesar 4,5% dan dengan kecepatan 3800 peningkatan lebih tinggi sebesar 9,6%.^{(16,17)*} Teknik sentrifugasi yang dilakukan pada penelitian ini dengan sentrifugasi kecepatan 1500-3000 r.p.m, hal ini disesuaikan dengan fasilitas yang ada di Puskesmas ataupun di Rumah Sakit.

Hasil dan Pembahasan

Hasil penelitian pemeriksaan sputum terhadap 112 orang suspek TB-paru ditemukan peningkatan jumlah BTA dengan teknik sentrifugasi, data disajikan dalam tabulasi frekwensi dengan tabel dan prosentase serta digambarkan secara histogram, sehingga dapat diketahui perbedaan hasil penelitian yang

ditemukan dari 112 orang suspek-TB-paru di Rumah sakit Paru Cisarua Jawa barat, seperti terlihat pada Tabel 1 dan Gambar 1.

Tabel-2 dan Gambar-2 memperlihatkan jumlah Bakteri Tahan Asam (BTA) yang ditemukan dengan teknik sentrifugasi dari 68 orang laki-laki ditemukan BTA (+) sebesar 28 (41,18%) dan BTA (-) sebesar 40 (58,82%). Jumlah penderita TBC dengan BTA (+) lebih tinggi pada laki-laki. Sebanyak 44 orang suspek-TB perempuan BTA (+) sebesar 18 (40,91%) orang, BTA (-) sebesar 26 (59,09%) orang. Tabel -2 dan Gambar-2.

Tabel-3 dan Gambar-3 menunjukkan hasil pemeriksaan BTA secara konvensional sputum laki-laki dan perempuan dari suspek TB laki-laki sebanyak 68 orang hasil pemeriksaan BTA (+) sebesar 26 (38,24%) dan BTA (-) 42 (62,76%), secara konvensional penemuan BTA lebih tinggi pada sputum laki-laki pada sputum perempuan lebih rendah yaitu sebesar 20 (45,45%) BTA (+) dan sebesar 24(54,55%) BTA (-) dari populasi 112 orang suspek TB-paru. Tabel-3 dan Gambar-3.

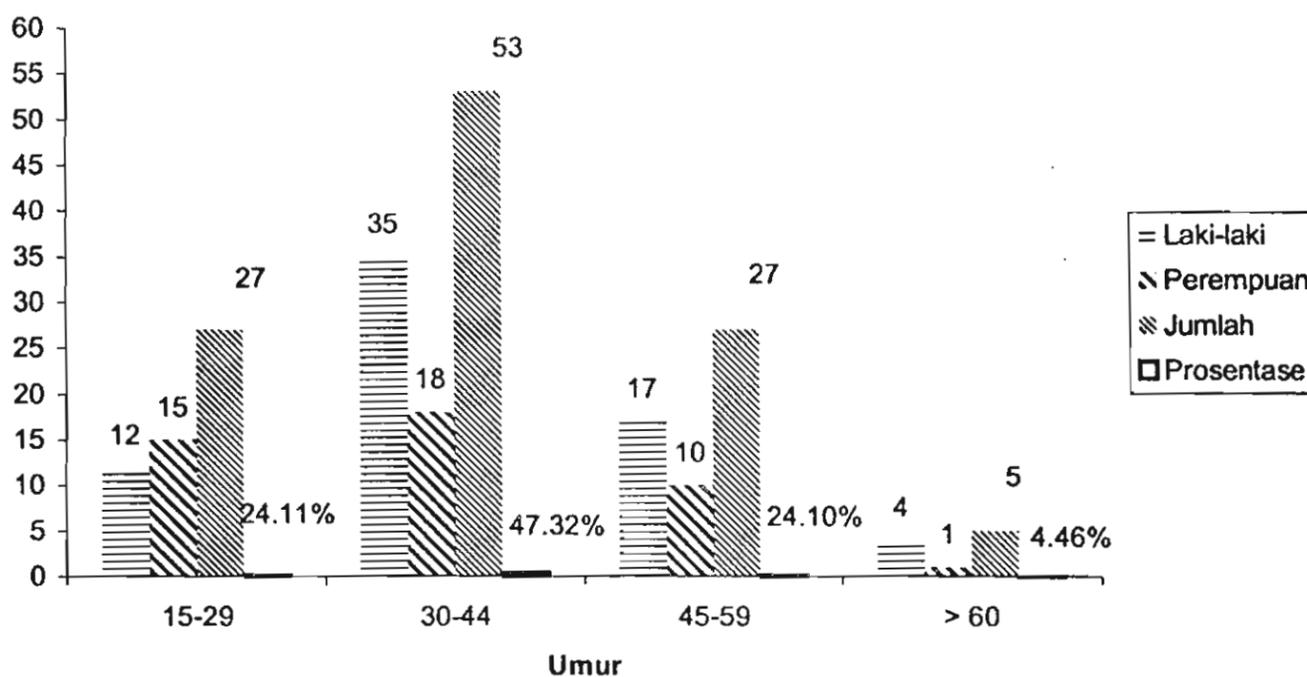
Tabel-4 dan Gambar-4 memperlihatkan pada teknik sentrifugasi sputum pagi baru bangun tidur dan siang hari setelah melakukan aktifitas, diperiksa berdasarkan katagori BTA (+)1, BTA (+)2 dan BTA (+)3. Ditemukan pada sputum pagi BTA (+)1 sebesar 28 (25,0%), BTA (+)2 sebesar 12 (11,0%) dan BTA(+3) sebesar 7 (6,3%) dengan sentrifugasi, jadi semakin tinggi kriteria positif, maka makin rendah penemuan BTA secara mikros-kopis¹⁸. Lihat Tabel-4 dan gambar-4.

Tabel-5 dan gambar-5 memperlihatkan hasil konvensional BTA berdasarkan kriteria positivity rate, penampakan bakteri tahan asam kriteria BTA (+)1, positif(+2 dan positif(+3) ditemukan pada sampel pagi berturut-turut positif-1, pos-2. Pos-3 adalah 27 (28,42%), 3 (37,5%) dan tidak diketemukan BTA pada kriteria positif-3 yaitu 0 (0%), pada sputum siang 27 (28,42%) pos-1, dan 5 (62,05%) pos -2 dan tidak diketemukan BTA 0 (0%) pada kriteria pos-3.

Tabel-1
Distribusi Penderita TBC Berdasarkan Umur dan Jenis Kelamin
Hasil Pengumpulan Sampel Sputum di RS Paru Cisarua Bogor

Umur (tahun)	Jenis Kelamin		Jml Lk & Pr (%)
	Laki-laki %	Perempuan%	
15-29	12 (18%)	15 (34 %)	27 (24,11%)
30-44	35 (51%)	18 (41 %)	53 (47,32%)
45-59	17 (25%)	10 (23 %)	27 (24,10%)
> 60	4 (6%)	1 (2 %)	5 (4,46%)
Jumlah	68 (61,71%)	44 (39,29%)	112 (100 %)

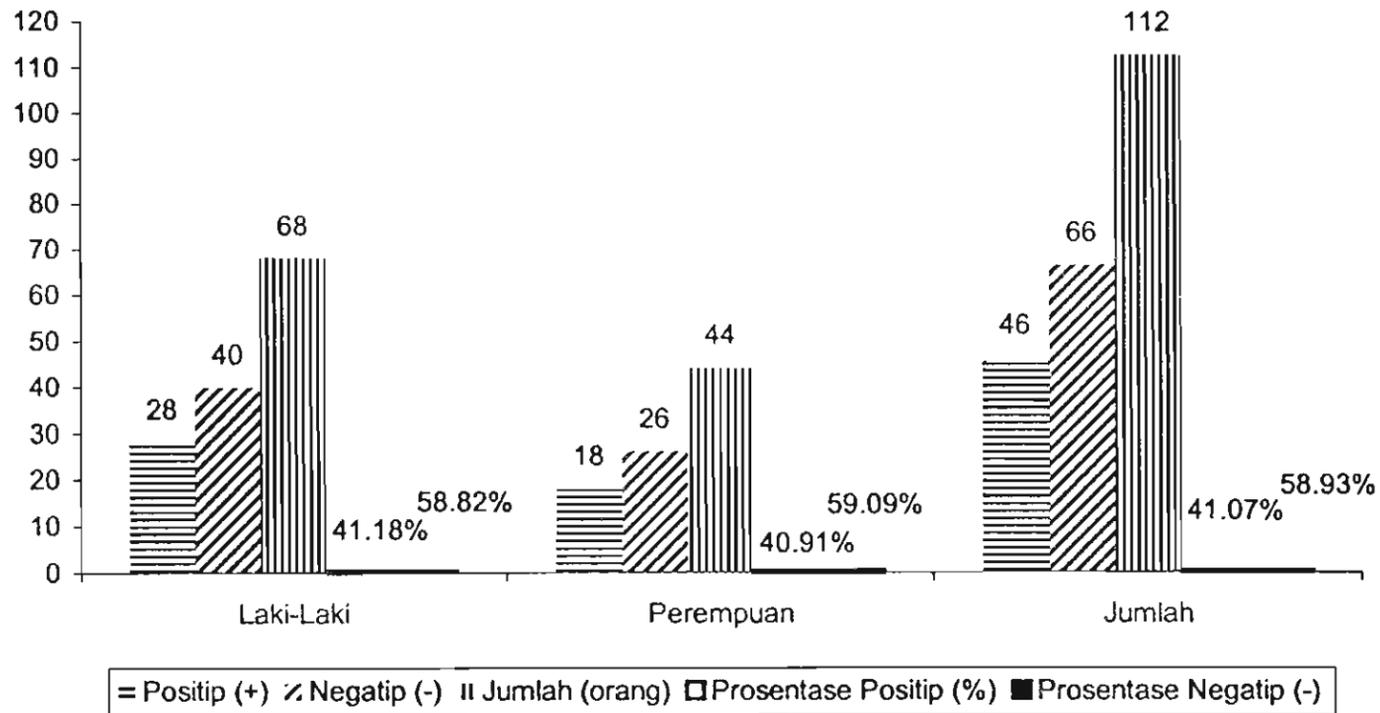
Gambar-1
Distribusi suspek TB-paru Berdasarkan Umur dan Jenis Kelamin



Tabel -2
Hasil Pemeriksaan BTA secara Mikroskopis dengan Teknik Sentrifugasi Sputum Laki-laki dan Perempuan

Jenis Kelamin	Perolehan BTA dengan Sentrifugasi		
	Jumlah (orang)	BTA (+) %	Neg (-) %
Laki-laki	68	28 (41,18%)	40 (58,82%)
Perempuan	44	18 (40,91%)	26 (59,09%)
Jumlah	112	46 (40 %)	60 (60%)

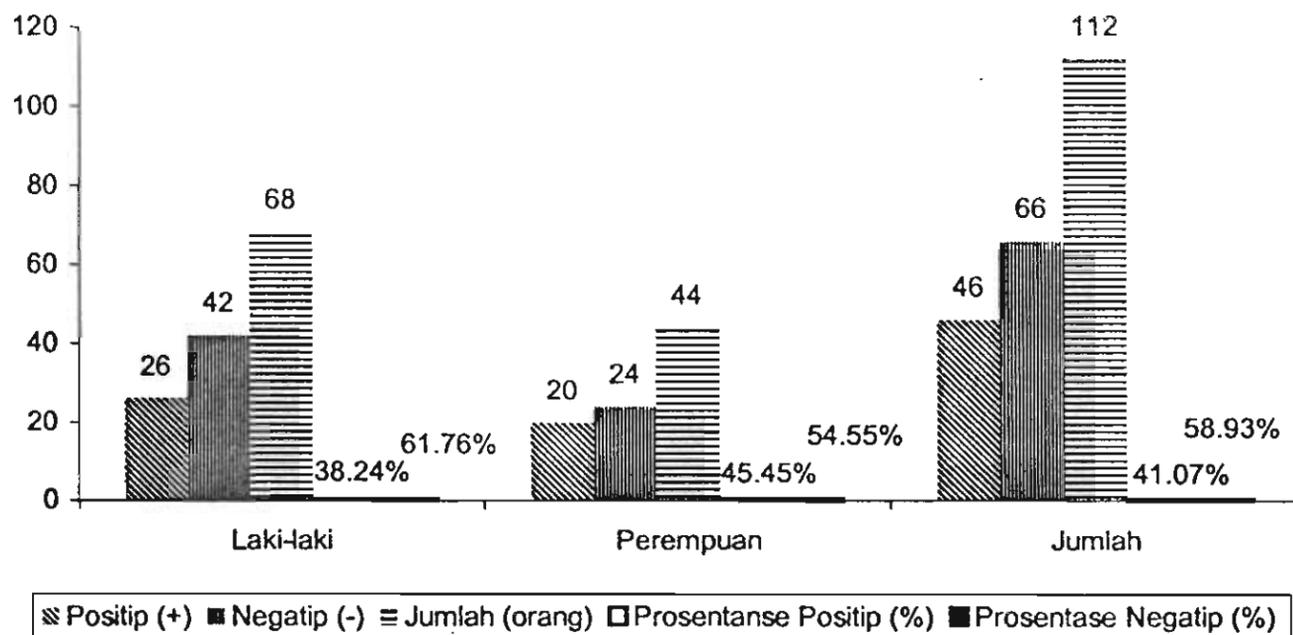
Gambar-2
Penemuan BTA dengan Teknik Sentrifugasi Sputum
Laki-laki dan Perempuan



Tabel-3.
Distribusi penderita TBC berdasarkan Jenis Kelamin Hasil
Pemeriksaan Mikroskopis BTA secara Konvensional

Jenis Kelamin	Hasil Pemeriksaan Secara Konvensional		
	Jumlah(orang)	Pos (+) %	Neg (-) %
Laki-laki	68	26 (38,24%)	42 (61,76%)
Perempuan	44	20 (45,45%)	24 (54,55%)
Jumlah	112	46	66

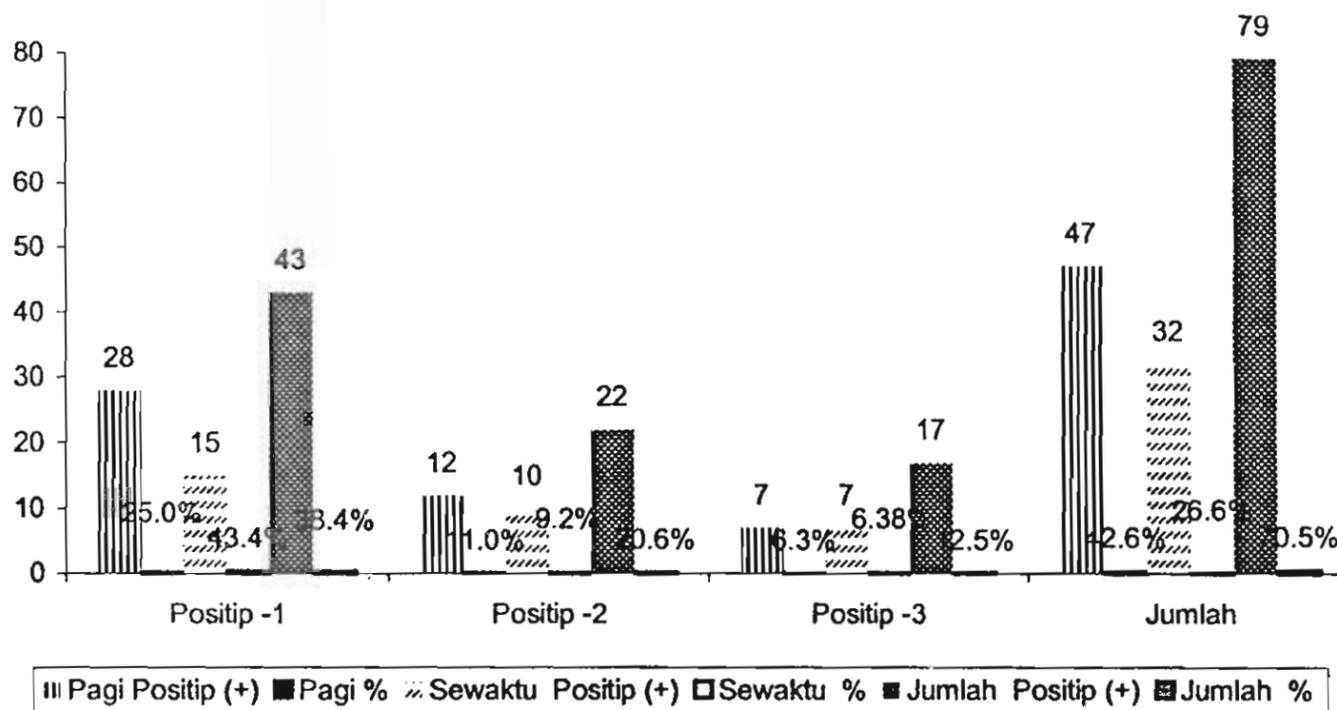
Gambar-3
Gambaran Mikroskopis Konvensional Sputum Laki-Laki dan Perempuan



Tabel-4
Gambaran Positivity Rate BTA Positip-1, Positip-2 dan Positip-3
dari Pengambilan Sputum Pagi dan Sputum Siang dengan Sentrifugasi

Kriteria Positip Bakteri Tahan Asam (BTA)	Pagi (P)	Siang (S)	Sputum P dan S
	Positip (+) %	Positip (+) %	Jumlah %
Positip -1	28 (25,0%)	15 (13,4%)	43 (38,4%)
Positip -2	12 (11,0%)	10 (9,2%)	22 (20,6%)
Positip -3	7 (6,3%)	7 (6,3%)	14 (12,5%)

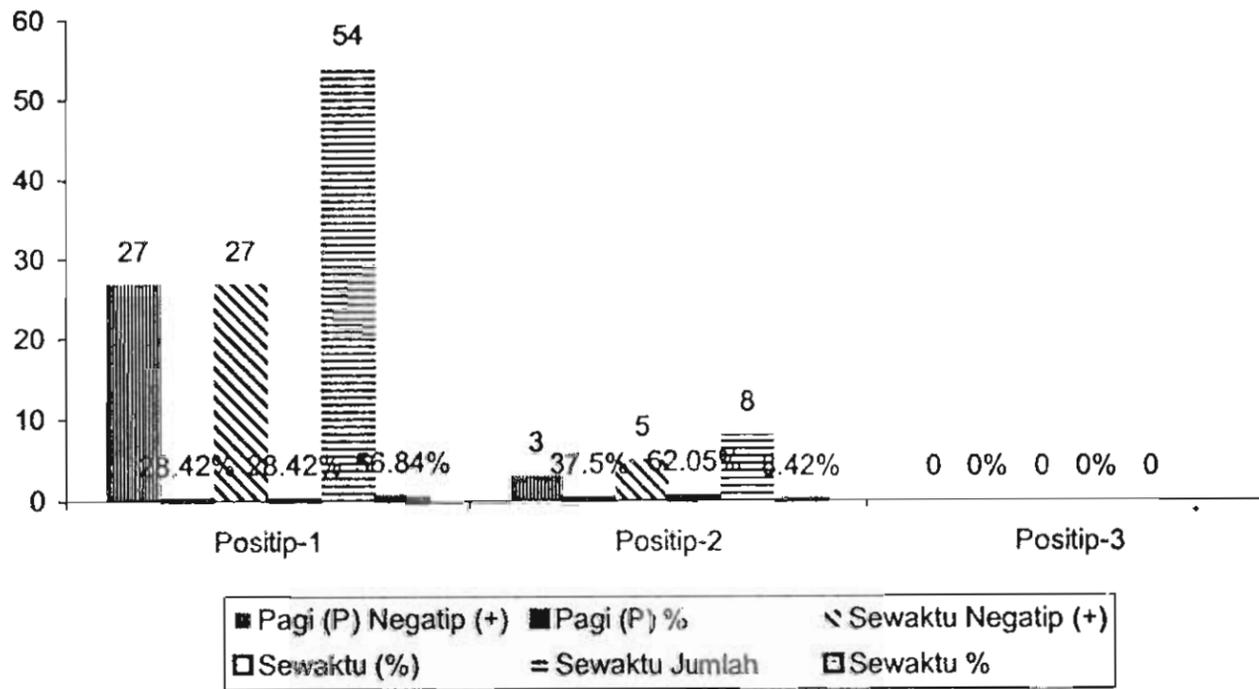
Gambar-4
Gambaran Positivity Rate BTA Positip-1, Positip-2 dan Positip-3
dari Pengambilan Sputum Pagi dan Siang Sentrifugasi



Tabel-5
Gambaran Positivity Rate BTA Positip-1, Positip-2 dan Positip-3
dari Pengambilan Sputum Pagi dan Siang secara Konvensional.

BTA	Pagi (P)	Siang (S)	Jumlah P & S
	Positip (+)	Positip (+)	
Positip -1	27 (28,42%)	27 (28,42%)	54 (56,84%)
Positip -2	3 (37,5%)	5 (62,05%)	8 (8,42%)
Positip -3	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

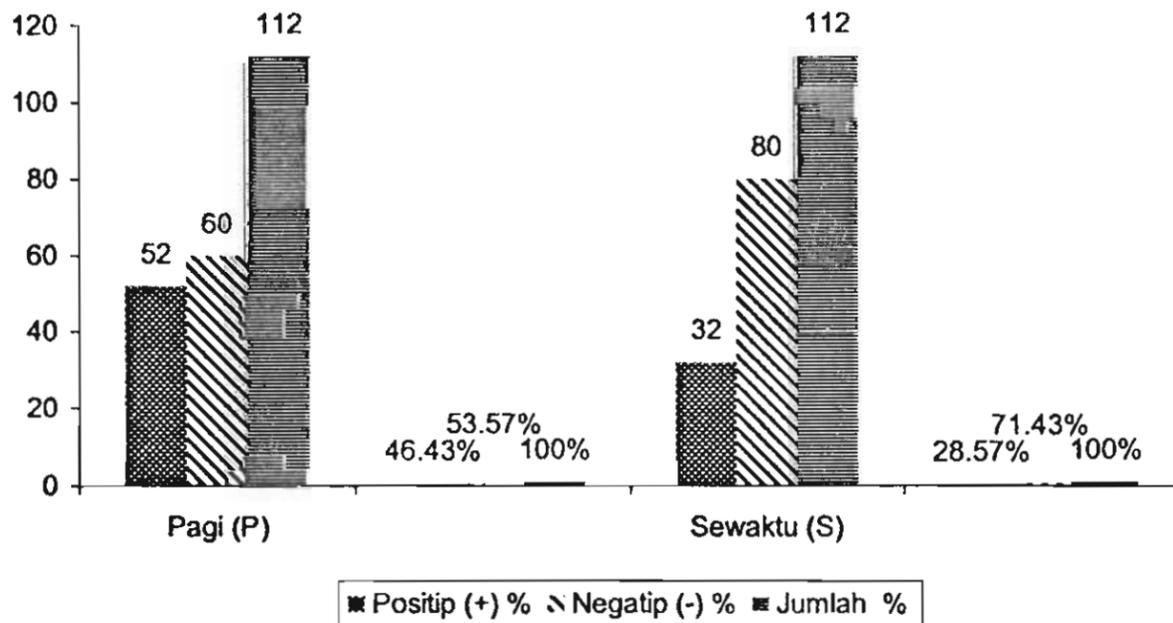
Gambar-5
Gambaran Positivity Rate BTA Positip-1, Positip-2 dan Positip-3
dari Pengambilan Sputun Pagi dan Siang Secara Konvensional



Tabel 6
Hasil Pemeriksaan Mikroskopis Sputum Pagi dan Sputum Siang
dengan Teknik Sentrifugasi

Kriteria pengambilan sampel sputum	Positip (+) (%)	Negatip (-) (%)	Jumlah (%)
Pagi (P)	52 (46,43%)	60 (53,57%)	112 (100)
Siang (S)	32 (28,57%)	80 (71,43%)	112 (100)

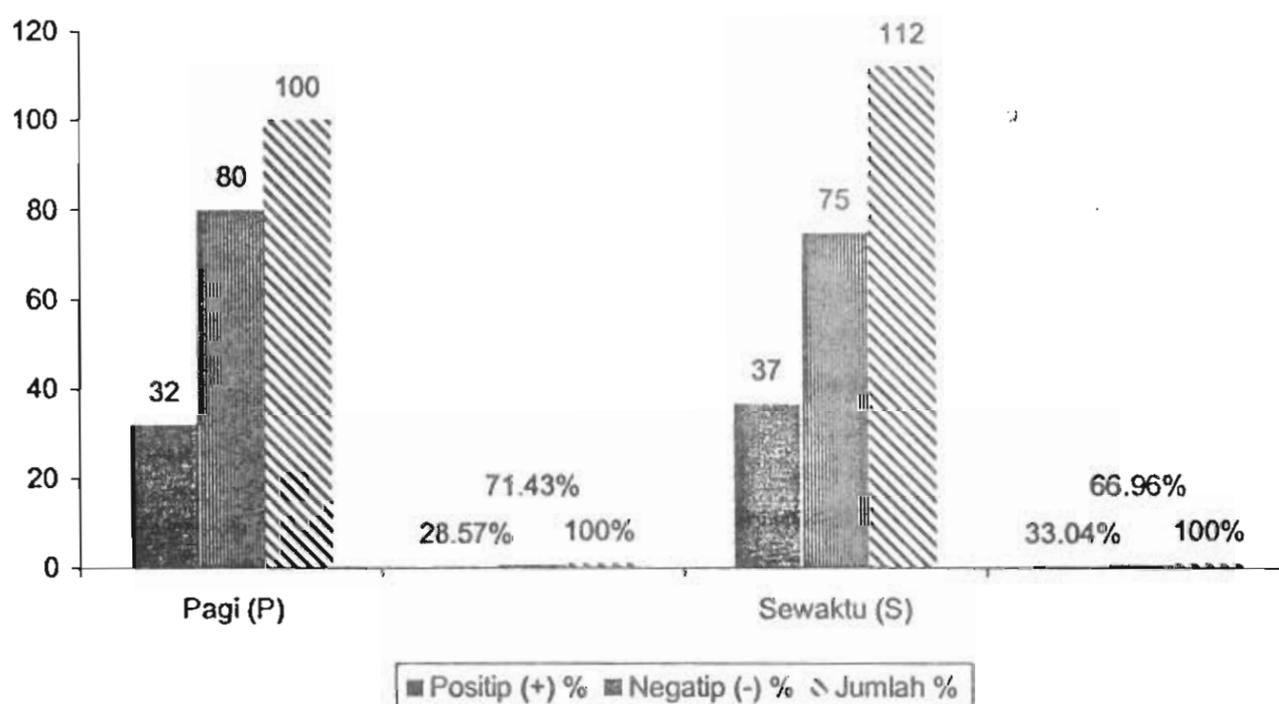
Gambar-6
Gambar Hasil Pemeriksaan Sputum Pagi dan Sputum Siang dengan Teknik Sentrifugasi



Tabel-7
Hasil Pengamatan Sputum Pagi dan Siang Secara Konvensional

Kriteria Pengambilan Sampel Sputum	Positip (+) (%)	Negatip (-) (%)	Jumlah (%)
Pagi (P)	32 (28,57%)	80 (71,43%)	112 (100%)
Siang (S)	37 (33,04%)	75 (66,96%)	112 (100%)

Gambar-7
Perbandingan Perolehan BTA Positip pada Sputum Pagi dan Siang Secara Konvensional



Tabel-6 dan Gambar-6 Dengan teknik sentrifugasi hasil pemeriksaan sputum pagi lebih baik penampakan bakteri tuberculosis dibanding pada sputum siang, yaitu sebesar 52 (46,43%) BTA (+), pada sputum pagi dan sebesar 60 (53,57%) BTA (-) yaitu tidak diketemukan bakteri pada bahan pemeriksaan. Pada sputum siang penampakan BTA (+) lebih sedikit yaitu sebesar 32 (28,57%) dan BTA (-) sebesar 80 (71,43%) melalui teknik sentrifugasi.

Tabel-7 dan Gambar-7 memperlihatkan hasil pemeriksaan sputum pagi dan siang secara konvensional ditemukan bakteri tahan asam sebesar 32 (28,57%) pada sputum pagi, dan sebesar 80(71,43%) hasil negatip (-) artinya tidak diketemukan BTA pada sputum yang diperiksa dari jumlah sampel 112 pot sputum, pada sputum

siang konvensional ditemukan 37 (33,04%) BTA (+) dan sebesar 75 (66,96%) negatip dari 112 sampel sputum siang.

Kesimpulan

1. Dengan teknik sentrifugasi terjadi peningkatan penemuan perolehan Bakteri Tahan Asam (BTA) dari sample sputum yang diperiksa.
2. Dengan teknik sentrifugasi penemuan BTA lebih bersih dan jelas sehingga akurasi hasil pemeriksaan BTA lebih baik, dibanding tanpa sentrifugasi.

Saran

1. Disarankan penggunaan sentrifugasi dalam pemeriksaan sampel sputum dari suspek TB-paru untuk meningkatkan penemuan BTA,

dan menghindari terjadinya positif palsu atau negatif palsu hasil pemeriksaan laboratorium di Puskesmas atau Rumah Sakit.

2. Kesalahan pemeriksaan laboratorium minimal <5%, dengan teknik sentrifugasi akan dapat dicapai sesuai dengan kesepakatan program P2TB paru.
3. Pengambilan sampel sputum dari suspek TB-paru cukup satu kali pada pagi hari baru bangun tidur.
4. Perlu diberikan pelatihan teknik sentrifugasi sebelum melakukan pemeriksaan sputum BTA kepada laboran di Puskesmas atau Rumah Sakit

Daftar Pustaka

1. Depkes RI Pedoman Penanggulangan Penyakit Tuberculosis 2001
2. Masakazu AOKI. Tuberculosis Case Finding. The Research Institute of Tuberculosis Japan. Anti Tuberculosis Association . JATA Tokyo Japan 1997.
3. Depkes RI. Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) 1995
4. Stop TB dengan DOTS. Gerakan Terpadu Nasional Penanggulangan Tuberculosis (GERDUNAS TB), 1999
5. WHO. Report on the Tuberculosis Epidemic. 1994.
6. WHO. TB Guideline for Conducting a Review of National Tuberculosis Programmer. 1994
7. Sang Jade Kim. CD. Tuberculosis Laboratory Services in the National TB Programme. Korea University. 1997
8. Satish Gupte, MD. Metode pemeriksaan sputum dari sampel TB-paru dengan Ziehl-Neelsen. Mikrobiologi 1990
9. Julius and Satish Gupte. (Alih bahasa). NAOH untuk homogenisasi cepat dan efektif pada bahan-bahan mukopurulen .Mikrobiologi & Imunologi Dasar Edisi III. 1990
10. Depkes RI. Modul Pelatihan Teknis Tenaga Laboratorium Puskesmas Tingkat Dasar. 1995
11. JICA Minimum Essential of Laboratory Procedure for Tuberculosis. Tokyo Japan. 1987.
12. JATA. Research Institute of Tuberculosis TB Laboratory Service Modul for Direct Smear and Microscopic Examination. Tokyo Japan. 1997
13. Girsang Merryani. Quality Control Pemeriksaan Mikroskopis TB di Puskesmas Rujukan Mikroskop (PRM). *Cermin Dunia Kedokteran* (CDK) No.137 tahun 2002.
14. Aditama TY. *Tuberculosis Terapi dan masalahnya*, diterbitkan oleh Lab Mikrobiologi RSUP Persahabatan WHO Collaborating Center for Tuberculosis.
15. Tsunehiko Hirata. *Reagent and Staining. International Training Course*, Research Institute for Tuberculosis Tokyo Japan 1996
16. Gerdunas. Gerakan Terpadu Nasional Penanggulangan Tuberculosis (GERDUNAS TB) Stop TB dengan DOTS, Senjata pamungkas melawan Tuberculosis . Jakarta Depkes dan WHO (World Health Organization)
17. Fujiki. Distribusi of tubercle bacilli in sputum. Kekkaku Kyoseshi Research International Tuberculosis Japan. 1996/1997