



Pemeriksaan Sputum Basil Tahan Asam (BTA) pada Pasien Suspek Tuberculosis dengan Metode Ziehl Nelsen

Epsi Marwati ^{1*}, Oksita Asri Widyayanti ², Suci Indah Budiarti ³,
 Delita Septining Tyas ⁴

¹⁻⁴ Politeknik Yakpermas Banyumas, Indonesia

Alamat: Jl. Raya Jompo Kulon, Sokaraja, Banyumas 53181, Jawa Tengah

Korespondensi penulis: oksitaasri19@gmail.com*

Abstract. *The infectious disease tuberculosis is transmitted through the air by Mycobacterium tuberculosis when an infected patient coughs, sneezes or talks. Indonesia is the third country among the countries that contribute to 60% of the world's TB cases. Diagnosis of TB can be done by detecting the presence of acid-fast bacilli (BTA) Mycobacterium tuberculosis in sputum examination. The Ziehl Neelsen method of BTA sputum examination has quite high sensitivity in detecting pulmonary TB. The aim of the study was to identify BTA sputum in patients with suspected pulmonary tuberculosis using the Ziehl Nelsen method. The research was carried out observationally through the BTA examination stage by taking sputum, laboratory checks and interpreting the results using the IUATED scale. The results of the BTA examination showed that patients who were positive for TB had positive BTA results at all three examination times. Acid-fast bacilli in TB positive patients are red after carbol fuchsin staining using the Ziehl Nelsen method. More male patients get TB than women, in this study, namely 33%. Patients who are positive for TB are aged 35 – 44 years. The conclusion of this study is the results of identification of BTA sputum from TB positive patients which shows a red color on carbol fuchsin staining using the Ziehl Nelsen method.*

Keywords: *carbol fuchsin, identification, Mycobacterium tuberculosis*

Abstrak. Penyakit menular tuberculosis ditularkan melalui udara oleh *Mycobacterium tuberculosis* saat pasien terinfeksi mengalami batuk, bersin atau berbicara. Indonesia menjadi negara ketiga dari Negara-negara penyumbang 60% kasus TB dunia. Diagnosis TB dapat melalui deteksi keberadaan basil tahan asam (BTA) *Mycobacterium tuberculosis* pada pemeriksaan sputum. Pemeriksaan sputum BTA metode *Ziehl Neelsen* memiliki sensitivitas cukup tinggi dalam mendeteksi TB paru. Tujuan penelitian adalah identifikasi sputum BTA pada pasien suspek tuberculosis paru dengan metode *Ziehl Nelsen*. Penelitian dilakukan secara observasi melalui tahap pemeriksaan BTA dengan pengambilan sputum, cek laboratorium dan interpretasi hasil menggunakan skala IUATED. Hasil pemeriksaan BTA menunjukkan pasien dengan positif TB memiliki hasil BTA positif pada ketiga waktu pemeriksaan. Basil tahan asam pada pasien positif TB berwarna merah setelah pewarnaan *carbol fuchsin* metode *Ziehl Nelsen*. Pasien laki-laki lebih banyak terkena TB dibanding perempuan, pada penelitian ini yakni 33%. Pasien dengan positif TB berada pada rentan usia 35 – 44 tahun. Kesimpulan dari penelitian ini adalah hasil identifikasi sputum BTA pasien positif TB yang menunjukkan warna merah pada pewarnaan *carbol fuchsin* metode *Ziehl Nelsen*.

Kata kunci: *carbol fuchsin, identifikasi, Mycobacterium tuberculosis*

1. LATAR BELAKANG

Tuberkulosis (TB) disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yaitu suatu basil tahan asam dan dapat juga disebabkan dari susu hewan yang terinfeksi *Mycobacterium bovis*. Tuberkulosis dapat menyebar dari satu orang ke orang lain melalui transmisi udara (droplet dahak pasien penderita tuberkulosis). Pasien terinfeksi Tuberkulosis akan memproduksi droplet yang mengandung sejumlah basil tahan asam *Mycobacterium tuberculosis* ketika batuk, bersin, atau berbicara. Orang yang menghirup basil tahan asam TB tersebut dapat terinfeksi Tuberkulosis (Utami, 2021).

Data Badan Kesehatan Dunia atau World Health Organization (WHO) menyebutkan bahwa sebanyak 10,4 juta orang di dunia terinfeksi TB. Penyakit TB merupakan penyebab kematian pertama yang disebabkan penyakit menular dan termasuk sepuluh penyakit yang paling mematikan di dunia. Indonesia berada pada urutan ketiga dari enam Negara yang menyumbang 60% kasus TB di seluruh dunia, setelah Cina dan India. Di Indonesia, TB merupakan masalah kesehatan masyarakat yang signifikan, dengan prevalensi yang tinggi dan tantangan dalam diagnosis serta pengobatan (WHO, 2016). Berdasarkan laporan kasus pada tahun 2017, jumlah kasus TB baru di Indonesia sebanyak 420.994. Hasil Riset Kesehatan Dasar juga menunjukkan bahwa prevalensi TB berdasarkan diagnosis tenaga kesehatan adalah sebesar 0,4% dari jumlah penduduk. Semakin bertambahnya usia menjadikan prevalensi TB semakin tinggi (Riskesdas, 2018).

Pemeriksaan sputum merupakan salah satu cara untuk mendiagnosis TB paru yaitu dengan mendeteksi keberadaan basil tahan asam (BTA) *Mycobacterium tuberculosis*. Metode yang umum digunakan untuk pemeriksaan sputum BTA adalah metode pewarnaan *Ziehl Neelsen*. Pemeriksaan mikroskopis BTA dari sputum memegang peran dalam mendiagnosis awal dan pemantauan pengobatan Tuberculosis paru. Metode *Ziehl Neelsen* merupakan teknik pewarnaan khusus yang digunakan untuk mengidentifikasi bakteri tahan asam, seperti *Mycobacterium tuberculosis*. Prinsip dasar metode ini adalah kemampuan bakteri tahan asam untuk mempertahankan zat warna fuchsin setelah dilakukan pencucian dengan asam alkohol dan mencuci dengan pewarna counterstain, seperti metilen biru (Khairiri, 2020). Alvim & Brito (2022) menyebutkan pula bahwa pemeriksaan BTA melalui metode *Ziehl-Neelsen* menjadi salah satu alat diagnostik penting dalam menilai infeksi TB pada pasien yang menunjukkan gejala suspek TB. Teknik ini berbasis pada pewarnaan asam yang memungkinkan identifikasi basil tahan asam (BTA), yang merupakan karakteristik utama dari *Mycobacterium tuberculosis*.

Pemeriksaan sputum BTA dengan metode *Ziehl Neelsen* memiliki sensitivitas yang cukup tinggi dalam mendeteksi TB paru. Namun, hasil negatif tidak selalu mengindikasikan tidak adanya infeksi TB, sehingga pemeriksaan lain seperti biakan atau tes molekuler dapat dipertimbangkan untuk konfirmasi diagnosis. Rangkaian kegiatan yang baik diperlukan untuk mendapatkan hasil yang akurat, mulai dari cara pengumpulan sputum, pemilihan bahan tahan sputum yang akan diperiksa dan pengolahan sediaan dibawah mikroskop. Teknik pewarnaan yang digunakan adalah *Ziehl Neelsen* yang dapat mendeteksi BTA dengan menggunakan mikroskop (Kemenkes RI, 2020). Diagnosa TB seringkali menghadapi berbagai tantangan. Salah satu tantangan utama adalah keterbatasan fasilitas dan sumber daya untuk pemeriksaan laboratorium yang akurat dan cepat. Metode *Ziehl-Neelsen*, meskipun merupakan teknik yang sudah ada sejak lama, tetap menjadi pilihan utama karena biaya yang relatif rendah dan

kemudahan dalam pelaksanaannya. Namun, sensitivitas metode ini dapat dipengaruhi oleh kualitas sampel sputum, keterampilan petugas laboratorium, serta penyebaran bakteri dalam sampel. (Dhanasekaran & Verma, 2021). Hal ini mendasari penelitian pemeriksaan sputum basil tahan asam (BTA) pada pasien suspek tuberculosis.

2. KAJIAN TEORITIS

Tuberculosis (TB) adalah penyakit infeksi menular yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Infeksi ini umumnya mempengaruhi paru-paru, namun dapat juga menyebar ke organ lain dalam tubuh. TB tetap menjadi masalah kesehatan global dengan prevalensi yang tinggi di negara berkembang. Pemahaman mengenai patofisiologi dan epidemiologi TB merupakan langkah awal untuk mengidentifikasi dan mengelola penyakit ini secara efektif (Salim & Dhamodharan, 2020). Pada kelompok bakteri ini disebut dengan Basil Tahan Asam (BTA), pada saat pencucian pertama dapat mempertahankan warnanya dengan pelarut pemucat. Golongan bakteri ini biasanya bersifat pathogen pada manusia contohnya *Mycobacterium Tuberculosis* (Admin, 2014).

Infeksi bakteri *Mycobacterium Tuberculosis* yang menyerang dan merusak jaringan tubuh manusia. TBC biasanya menyerang paru-paru, namun bisa juga menyebar ke tulang, kelenjar getah bening, system saraf pusat, jantung dan organ lainnya (Dinas Kesehatan, 2019). Penyebaran umum Tuberculosis adalah batuk/bersinnya penderita Tuberculosis karena kuman akan tersebar melalui udara dalam bentuk percikan ludah, dan seseorang akan tertular apabila menghirup udara yang mengandung kuman tersebut ketika bernafas, apalagi jika orang tersebut belum mendapatkan vaksin BCG (Luciana, 2007). Infeksi ini dapat menyebabkan peradangan dan kerusakan jaringan paru-paru, yang kemudian memicu gejala tuberculosis, apalagi jika seseorang belum mendapatkan vaksin BCG (Luciana, 2007). Pemeriksaan sputum BTA merupakan metode diagnostik utama dalam menilai adanya *Mycobacterium tuberculosis* pada pasien dengan kecurigaan TB paru. Metode ini melibatkan pewarnaan dan mikroskopi sputum dengan pewarnaan *Ziehl-Neelsen* yang khusus untuk mendeteksi bakteri tahan asam (BTA). Dalam konteks ini, penting untuk mendalami prosedur pewarnaan *Ziehl-Neelsen*, serta sensitivitas dan spesifisitasnya dalam diagnosis TB (Pormohammad, 2021).

Metode *Ziehl-Neelsen* adalah teknik pewarnaan mikroskopis yang digunakan untuk mengidentifikasi *Mycobacterium tuberculosis*. Pewarnaan ini melibatkan beberapa langkah: pewarnaan awal dengan fuchsine karbol, pembilasan dengan asam alkohol, dan pewarnaan kontras dengan biru metilen. Teknik ini diakui karena kemampuannya dalam mengidentifikasi bakteri tahan asam, yang merupakan ciri khas dari *Mycobacterium tuberculosis* (Caminero, 2020). Penilaian efektivitas metode *Ziehl-Neelsen*, sensitivitas dan spesifisitas pemeriksaan

sputum BTA menjadi faktor kunci. Sensitivitas mengacu pada kemampuan metode untuk mendeteksi bakteri pada individu yang benar-benar terinfeksi, sedangkan spesifisitas mengukur akurasi metode dalam mengidentifikasi individu yang tidak terinfeksi. Penelitian terbaru telah menunjukkan bahwa meskipun metode ini efektif, ada batasan dalam hal sensitivitas terutama pada kasus dengan beban bakteri rendah (Khatri & Tiwari, 2018). Perbandingan metode *Ziehl-Neelsen* dengan teknik diagnostik lain seperti kultur *Mycobacterium tuberculosis* dan tes cepat molekuler (*GeneXpert*) dapat memberikan perspektif lebih lanjut mengenai keunggulan dan keterbatasan metode ini. Kultur *Mycobacterium tuberculosis* merupakan metode standar emas dalam diagnosis TB, tetapi memerlukan waktu yang lebih lama dibandingkan dengan metode *Ziehl-Neelsen* (Rifat, 2019).

3. METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan bentuk penelitian deskriptif dengan lokasi penelitian di Rumah Sakit Tingkat III 04.06.01 Wijayakusuma Purwokerto. Sampel penelitian ini sebanyak 20 pasien TB yang datang rutin ke RS untuk menjalani pemeriksaan TB. Penelitian menggunakan data primer berupa data pemeriksaan langsung sampel pewarnaan BTA dan data hasil wawancara dengan pasien dan tim medis untuk mendapatkan informasi tambahan yang relevan.

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah sputum dari pasien TB dan tidak terdapat sisa makanan dalam sputum, kemudian Carbol Fuchsin 0,1 %, Asam alkohol 96%, Methylene Blue dan Imersi oil. Sampel sputum diperiksa melalui pembuatan preparat BTA. Pemeriksaan sputum dengan pewarnaan *Ziehl Neelsen* dilakukan sesuai standar pemeriksaan. Data yang diperoleh diolah melalui proses editing dan dianalisis secara manual yang selanjutnya dibahas dengan membandingkan penelitian yang sesuai.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian mendeskripsikan gambaran sampel sputum yang dilakukan pemeriksaan BTA dengan pewarnaan *Ziehl Neelsen*. Pengambilan sampel sputum dilakukan sebanyak tiga kali dengan metode waktu SPS (Sewaktu-Pagi-Sewaktu). Sampel sputum pertama diambil saat kunjungan pertama pasien ke RS (Sewaktu 1). Sedangkan sampel kedua akan diambil pada pagi hari berikutnya. Kemudian sampel sputum ketiga diambil ketika pasien mengantarkan sampel dahak yang kedua ke laboratorium RS (Sewaktu 2). Tabel 1. Menyajikan distribusi hasil sampel.

Tabel 1. Hasil pewarnaan Ziehl Neelsen

Hasil Pemeriksaan	Jumlah		
	Sewaktu 1	Pagi	Sewaktu 2
Negatif	11	11	11

1+	1	1	3
2+	2	3	1
3+	1	0	0
Total	15	15	15

Keterangan :

Negatif : Tidak ditemukan BTA dalam 100 lapang pandang

1+ : Ditemukan 10 – 99 BTA dalam 100 lapang pandang

2+ : Ditemukan 1 – 10 BTA setiap 1 lapang pandang (periksa minimal 50 lapang pandang)

3+ : Ditemukan ≥ 10 BTA dalam 1 lapang pandang (periksa minimal 20 lapang pandang)

Hasil pemeriksaan 15 sampel menunjukkan sejumlah sebelas (11) sample sputum dinyatakan negati (-) yang berarti tidak ditemukan basil tahan asam (BTA) pada sputum pasien TB dan empat sampel lain dinyatakan positif (+) yakni ditemukan BTA pada sampel sputum pasien. Pasien yang menunjukkan hasil positif perlu dirujuk untuk melaksanakan pemeriksaan lanjutan seperti dengan USG atau rontgen (pemeriksaan radiologi pada bagian dada yang menunjukkan paru-paru).

Tabel 2. Pemeriksaan BTA pasien laki-laki di RST TK III Wijaya Kusuma

No	Jenis Kelamin	Rentang Usia	Hasil		
			Sewaktu 1	Pagi	Sewaktu 2
1	L	34 th	-	-	-
2	L	42 th	(+2)	(+1)	(+1)
3	L	44 th	(+1)	(+2)	(+2)
4	L	48 th	-	-	-
5	L	50 th	-	-	-
6	L	60 th	-	-	-

Data pada Tabel 2 menunjukkan dari enam (6) pasien suspek TB laki-laki yang mengikuti pemeriksaan, terdapat dua pasien laki-laki yang positif TB. Pada kedua pasien positif TB diketahui hasil pengecekan sampel pada ketiga rentan waktu yakni sewaktu 1, pagi hari, dan sewaktu 2 kesemuanya menunjukkan hasil positif. Hasil pemeriksaan BTA untuk pasien suspek TB jenis kelamin perempuan tertuang dalam Tabel 3.

Tabel 3. Pemeriksaan BTA pasien perempuan di RST TK III Wijaya Kusuma

No	Jenis Kelamin	Rentang Usia	Hasil		
			Sewaktu 1	Pagi	Sewaktu 2
1	P	19 th	-	-	-
2	P	28 th	-	-	-
3	P	35 th	-	-	-
4	P	35 th	(+2)	(+2)	(+1)
5	P	39 th	-	-	-
6	P	40 th	-	-	-
7	P	42 th	(+3)	(+2)	(+1)
8	P	55 th	-	-	-

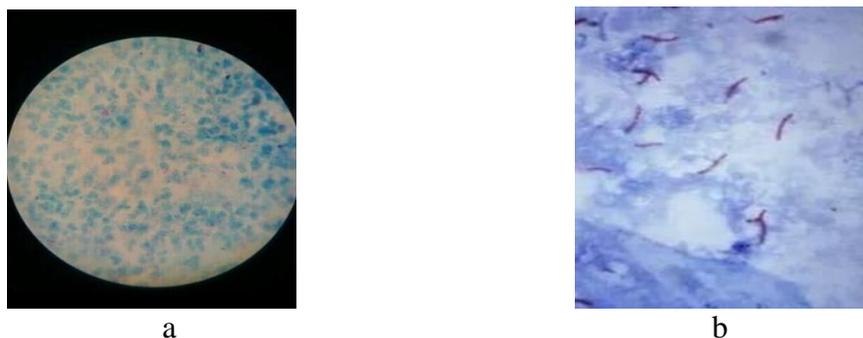
9	P	60 th	-	-	-
---	---	-------	---	---	---

Tabel 2 menunjukkan bahwa dari total 9 pasien perempuan suspek TB setelah dilakukan pemeriksaan BTA diketahui terdapat dua (2) pasien positif TB. Kedua pasien positif TB ini memiliki catatan hasil pemeriksaan pada ketiga rentang waktu pengambilan sampel kesemuanya menunjukkan hasil terdapat basil tahan asam pada sputum sampel kedua pasien tersebut. Sejumlah sebelas (11) sample lain yang menunjukkan hasil data negative (-) tidak ditemukan basil tahan asam pada hasil pemeriksaan BTA. USG atau rontgen direkomendasikan pada pasien yang menunjukkan hasil positif sebagai pemeriksaan lanjutan untuk mendapat terapi lebih tepat.

Hasil pemeriksaan yang dilakukan terhadap 15 pasien menunjukkan bahwa pemeriksaan positif didominasi oleh pasien usia 35-44th. Menurut Rukmini dan Chatarina (2011), faktor resiko yang mempengaruhi TB paru adalah umur, jenis kelamin, energy penerangan, status gizi, dan kontak serumah dengan pasien TB. Menurut penelitian Manalu (2010), penyakit TB paru sering ditemukan di usia produktif 15-50th. Menurut Achmadi (2005), usia produktif merupakan salah satu faktor sering terjadinya TB paru karena pada usia tersebut daya tahan tubuh lebih rentan dari usia dewasa.

Data pemeriksaan BTA laki-laki (Tabel 2) apabila dibandingkan dengan data pemeriksaan BTA perempuan (Tabel 3) menunjukkan bahwa laki-laki lebih rentan terkena TB dimana hasil penelitian menunjukkan 33% dari 6 pasien laki-laki suspek TB dinyatakan positif, sedangkan hasil pada pemeriksaan sputum pasien perempuan diketahui lebih rendah yakni 11% pasien positif TB dari total 9 pasien suspek. Hal ini sejalan dengan Data survey tuberculosis resistansi obat 2017-2018 yang menyebutkan bahwa proporsi laki-laki lebih besar dari perempuan, baik pada kasus baru maupun kasus pengobatan ulang. Sebaran partisipan menurut kawasan terbanyak di Jawa-Bali. Data ini menyebutkan bahwa pasien TB laki-laki mencapai 64% dan perempuan 36% (Kemenkes, 2019).

Tingginya kasus TB pada laki-laki karena dipengaruhi tingkat aktifitas dan pekerjaan. Tingginya angka penderita TB pada rentang umur produktif pada laki-laki diduga ada hubungannya dengan tingkat aktifitas dan pekerjaan sebagai tenaga produktif yang memungkinkan untuk mudah tertular dengan bakteri TB setiap saat dari penderita lain yang BTA positif ataupun BTA negative (Utami, 2021). Selain itu, laki-laki lebih terpapar pada risiko TB paru misalnya merokok dan kurangnya ketidapatuhan minum obat (Kemenkes, 2019). Berdasarkan data yang diperoleh kemudian diamati dibawah mikroskop. Berikut merupakan hasil pemeriksaan Bakteri Basil Tahan Asam (BTA) pada sampel sputum dengan menggunakan metode pewarnaan Zeihl Neelson.



Gambar 1. (a) Hasil pemeriksaan BTA negatif, (b) Hasil Pemeriksaan BTA positif

Pewarnaan Ziehl Neelsen digunakan karena pada dinding *Mycobacterium tuberculosis* mengandung zat yang disebut Mycolic acid yang menyebabkan bakteri sukar diwarnai dengan pewarnaan gram atau pewarnaan biasa. Metode Ziehl Neelsen ini merupakan metode yang direkomendasikan oleh WHO. Tahap pewarnaan dilanjutkan pembacaan hasil mikroskopis menggunakan mikroskop. Pembacaan dilakukan untuk mendiagnosis dan mengetahui tingkat terinfeksi TB pasien. Berdasarkan gambar hasil pengamatan diketahui bahwa BTA pada pasien positif terlihat batang warna merah atau merah muda dengan latar belakang biru setelah pewarnaan pada lapang pandang dengan pewarnaan tahan asam atau Ziehl Neelsen. Hal ini sesuai dengan pernyataan Gandasoebarta (2013) bahwa BTA biasanya berbentuk batang, namun kadang-kadang bisa mirip kokus, filamentous (seperti benang), atau berkelompok. Untuk pelaporan dihitung jumlah BTA jika memungkinkan, bila BTA berkelompok cukup dengan perkiraan kasar.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

Pemeriksaan Sputum Basil Tahan Asam (BTA) menjadi pemeriksaan yang direkomendasikan pada pasien suspek tuberculosis menggunakan metode Ziehl Nelseen dengan hasil positif berupa bakteri bentuk batang warna merah dan latar belakang biru. Sebanyak 15 pasien suspek tuberculosis terdapat 4 pasien positif (+) TB dengan rentang usia 35-44th dan didominasi pasien laki-laki.

Penelitian selanjutnya diharapkan dapat menggunakan jumlah sampel yang lebih banyak dengan RS yang beragam agar dapat memperoleh data penelitian yang beragam dan akurat.

6. UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Yayasan Kesejahteraan Perawat Banyumas (YAKPERMAS) atas dukungan terhadap penelitian ini. Terima kasih kami sampaikan pula kepada Politeknik Yakpermas Banyumas atas bimbingannya guna pengembangan kapasitas tenaga pengajar.

DAFTAR REFERENSI

- Alvim, R., & Brito, J. (2022). Diagnostic Accuracy of Ziehl-Neelsen Staining in Tuberculosis. *Journal of Clinical Microbiology*, 60(4), 1223-1231.
- Caminero, J. A. (2020). Tuberculosis: A Comprehensive Clinical Reference. Elsevier.
- Centers for Disease Control and Prevention. (2020). Acid-Fast Stain Procedures. Diakses dari <https://www.cdc.gov/tb/laboratory/acidfaststain.htm>.
- Dhanasekaran, V., & Verma, A. (2021). Challenges in TB Diagnosis: A Review of the Ziehl-Neelsen Method. *International Journal of Infectious Diseases*, 104, 27-34.
- Kemendes RI. 2020. Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran Tata Laksana Tuberculosis. Jakarta : Kemendes RI Direktorat Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan.
- Kementerian Kesehatan. (2019). Riset Kesehatan Dasar. Badan Litbang Kesehatan.
- Khatri, G. R., & Tiwari, S. (2018). "Microbiological and Clinical Aspects of Tuberculosis". Tuberculosis Research and Treatment.
- Luelmo, F. (2001). Ziehl-Neelsen technique for acid-fast bacilli. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(9), 3446-3448. <https://doi.org/10.1128/JCM.39.9.3446-3448.2001>
- Pormohammad, A., et al. (2021). "A Review of the Diagnostic Value of the Ziehl-Neelsen Staining Technique in Pulmonary Tuberculosis". *Journal of Clinical Tuberculosis and Other Mycobacterial Diseases*.
- Rifat, S., et al. (2019). "Comparative Evaluation of Ziehl-Neelsen Staining Technique in Tuberculosis Diagnosis". *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*
- Salim, S., & Dhamodharan, P. (2020). *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. Springer.
- World Health Organization. (2016). *Global Tuberculosis Report 2015*. World Health Organization
- World Health Organization. (2021). Tuberculosis: Diagnosis. Diakses dari <https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/diagnosis>.