

LAMPIRAN

Pemeriksaan Mikroskopis BTA

1. Pemilihan Contoh Uji yang purulen/kental

Pilih dahak yang kental berwarna kuning kehijauan, ambil dengan lidi yang ujungnya berserabut (rough end) kira-kira sebesar biji kacang hijau. Kemudian letakkan pada kaca objek yang sudah disiapkan. Untuk mendapatkan ujung yang berserabut lidi dipipihkan dengan menggunakan tang.

2. Peralatan pemeriksaan sediaan dahak

Untuk pembuatan sediaan apus dibutuhkan peralatan sebagai berikut :

- a. Kaca sediaan yang baru dan bersih, sebaiknya frosted end slide.
- b. Bambu/lidi/ tusuk gigi
- c. Pensil 2B
- d. Lampu spritus/ Bunsen
- e. Pinset
- f. Wadah pembuangan lidi bekas+ desinfektan
- g. Desinfektan (Lisol 5%, Alkohol 70%, Hipoklorit 0,5%)

Sebelum melaksanakan pembuatan sediaan dahak, terlebih dulu kaca sediaan yang diberi identitas dengan menuliskan pada bagian frosted dengan pensil 2B atau diberi label (jika menggunakan kaca sediaan non-frosted) dengan nomor identitas sesuai dengan Form TB 05

Nomor Identitas Sediaan = 2 digit/7-11 digit/1digit/4digit

Keterangan:

- a. 2 digit = Tahun
- b. 7-11 digit = 7 untuk RS, 11 untuk Puskesmas
- c. 1 digit = 1 untuk terduga TB SO, 2 untuk terduga TB RO
- d. 4 digit = No urut TB .06
- e. “ _ ” = Kode huruf sesuai waktu pengambilan dahak

3. Cara Pembuatan Sediaan

Cara Pembuatan sediaan dahak sesuai standar :

- a. Ambil contoh uji dahak pada bagian yang purulen dengan lidi yang telah dipipihkan ujungnya dengan tang.

- b. Sebarkan diatas kaca sediaan dengan bentuk oval ukuran 2x3 kemudian rataakan dengan tusuk gigi membentuk spiral kecilkecil. Jangan membuat gerakan spiral bila sediaan dahak sudah kering karena akan menyebabkan aerosol.
 - c. Pengeringan Keringkan pada suhu kamar Masukkan lidi dan tusuk gigi bekas ke dalam wadah yang dilapisi plastik (di bagian dalam) berisi desinfektan
 - d. Fiksasi Fiksasi dilakukan dengan memegang kaca sediaan dengan pinset, pastikan kaca sediaan menghadap ke atas. Lewatkan sediaan di atas api bunsen yang berwarna biru 2- 3 kali selama 1-2 detik.
4. Pewarnaan Metode Ziehl Neelsen
- Sebelum memulai melakukan pewarnaan sediaan, siapkan peralatan dan reagen yang dibutuhkan agar proses perwarnaan tidak terhambat. Peralatan, reagen yang bermutu dan proses pengadaan yang efisien harus dilaksanakan untuk menjamin ketersediaannya

Prinsip pewarnaan ZN :

Mycobacterium tuberculosis mempunyai lapisan dinding lipid (Mycolic acid) yang tahan terhadap asam. Proses pemanasan mempermudah masuknya carbol fuchsin ke dalam dinding sel. Dinding sel tetap mengikat zat warna Carbol Fuchsin walaupun didekolorisasi dengan asam alkohol.

Reagensia yang diperlukan untuk pewarnaan metode ZN :

- a. Karbol fuchsin 1 %
- b. Asam Alkohol 3 %
- c. Metilen blue 0,1 %

Peralatan yang diperlukan untuk pewarnaan Ziehl Neelsen :

Rak pewarnaan, Pinset/ Penjepit kayu

- a. Air mengalir/ botol semprot air
- b. Sulut api
- c. Rak pengering
- d. Pengatur waktu/ timer
- e. Corong dan Kertas Saring
- f. Kain Basah

Cara melakukan pewarnaan metode ZN

1. Letakkan sediaan diatas rak dengan jarak 1 jari
2. Sediaan ditetesi larutan Carbol Fuchsin 1% melalui corong yang dilapisi kertas saring, dimulai dari ujung kaca sediaan hingga menutupi seluruh permukaan kaca sediaan.
3. Panaskan sediaan dengan sulut api sampai keluar uap (jangan sampai mendidih), kemudian dinginkan selama 10 menit. Sulut api dibuat dari kawat baja yang ujungnya dililit sumbu kompor/ kain kasa yang diikat kawat halus celupkan kedalam spiritus sebelum dinyalakan. Matikan sulut api dengan menggunakan kain basah.
4. Buang sisa air pada sediaan bilas sediaan secara perlahan dengan air mengalir, jangan menyiramkan atau menyembrotkan air tepat pada apusan.
5. Tuangkan methylene blue 0.1% hingga menutupi seluruh sediaan dan biarkan selama 1 menit.
6. Bilas dengan air mengalir
7. Keringkan sediaan pada rak pengering

Kualitas pewarnaan Ziehl Neelsen

Pada pewarnaan yang baik, apabila diperiksa di bawah mikroskopi akan tampak bakteri tahan asam (BTA) berwarna merah baik sendiri atau bergerombol dengan warna latar biru dan terlihat jelas gambaran leukosit. Pada pewarnaan yang jelek, apabila diperiksa di bawah mikroskop masih tampak adanya sisa zat warna, endapan kristal sehingga BTA tidak tampak dengan jelas

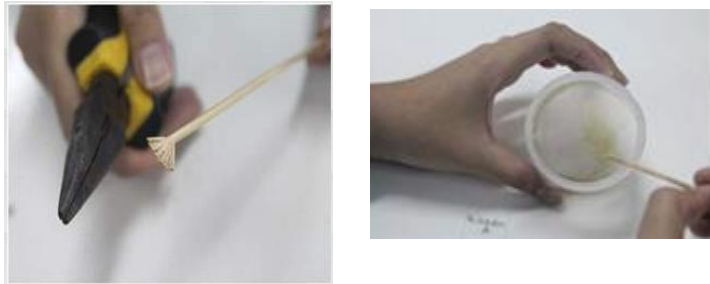
5. Pelaporan skala IUATLD

Pelaporan hasil pemeriksaan mikroskopis dengan mengacu kepada skala international Union Against tuberculosis and Lung Disease (IUALTD)

- a. Negatif(-) : tidak ditemukan BTA dalam 100 lapangan pandang.
- b. Scanty : ditemukan 1-9 BTA dalam 100 lapangan pandang (tuliskan jumlah BTA yang ditemukan)
- c. 1+ : ditemukan 10-99 BTA dalam 100 lapangan pandang

- d. 2+ : ditemukan 1-10 BTA setiap 1 lapang pandang (periksa minimal 50 lapang pandang)
- e. 3+ : ditemukan ≥ 10 BTA dalam 1 lapang pandang (periksa minimal 20 lapang pandang) (Kemenkes RI,2017).

Contoh gambar cara pembuatan sediaan dahak dan pewarnaan



Gambar 1 Ambil contoh uji dahak pada bagian yang purulen dengan lidi yang telah dipipihkan ujungnya dengan tang



Gambar 2 Sebarkan diatas kaca sediaan dengan bentuk oval ukuran 2x3 kemudian rataakan dengan tusuk gigi membentuk spiral kecilkecil. Jangan membuat gerakan spiral bila sediaan dahak sudah kering karena akan menyebabkan aerosol.



Gambar 3 Pengeringan Keringkan pada suhu kamar Masukkan lidi dan tusuk gigi bekas ke dalam wadah yang dilapisi plastik (di bagian dalam) berisi desinfektan



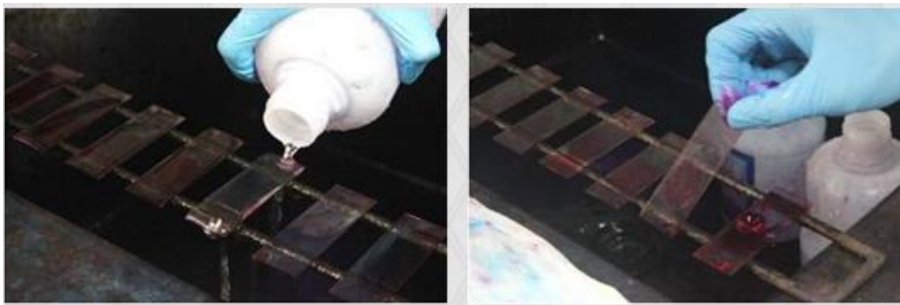
Gambar 4 Fiksasi Fiksasi dilakukan dengan memegang kaca sediaan dengan pinset



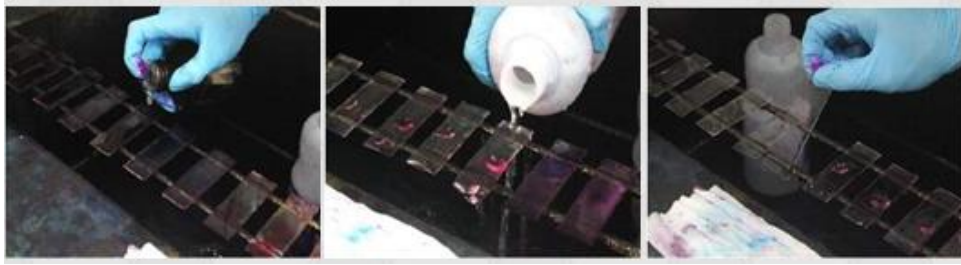
Gambar 5 Letakkan sediaan diatas rak dengan jarak 1 jari. Sediaan ditetesi larutan Carbol Fuchsin 1% melalui corong yang dilapisi kertas saring, dimulai dari ujung kaca sediaan hingga menutupi seluruh permukaan kaca sediaan



Gambar 6 Panaskan sediaan dengan sulut api sampai keluar uap (jangan sampai mendidih), kemudian dinginkan selama 10 menit



Gambar 7 Buang sisa air pada sediaan bilas sediaan secara perlahan dengan air mengalir



Gambar 8 Tuangkan methylene blue 0.1% hingga menutupi seluruh sediaan dan biarkan selama 1 menit



Gambar 9 Bilas dengan air mengalir dan Keringkan sediaan pada rak pengering