

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

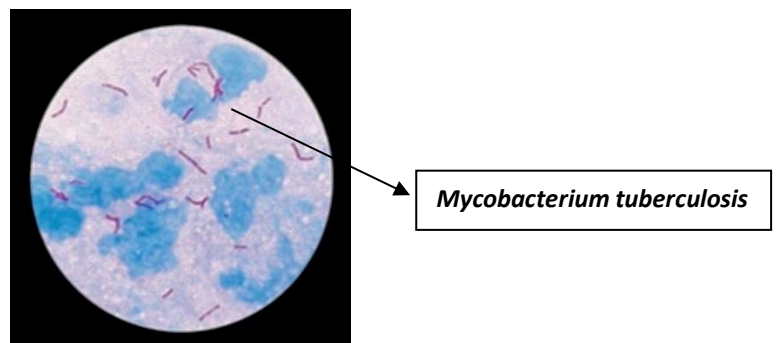
A. Tinjauan Teori

1. Tuberkulosis

Penyakit menular bersifat kronis yang dikenal sebagai Tuberkulosis muncul akibat serangan mikroorganisme *Mycobacterium tuberculosis*. Mikroorganisme tersebut memiliki bentuk seperti tongkat dan menunjukkan sifat resistensi terhadap asam, yang menyebabkannya diidentifikasi sebagai Bakteri Tahan Asam (BTA). Meski umumnya mikroorganisme TB menyerang dan menginfeksi bagian parenkim paru yang mengakibatkan TB paru, patogen ini juga mampu menyebar ke berbagai organ lain di luar paru (TB ekstra paru), termasuk pleura, sistem limfatik, jaringan tulang, serta beragam organ tubuh lainnya (Kemenkes RI, 2020).

a. Morfologi

Bakteri Tahan Asam (BTA) atau acid-fast bacili (AFB) merupakan sebutan umum untuk *Mycobacterium tuberculosis*, penampakan fisik bakteri ini menunjukkan bentuk tongkat yang lurus dengan sedikit lengkungan, tanpa spora maupun kapsul, pengukuran mikroskopis dengan lebar berkisar 0,3-0,6 μ m serta panjang mencapai 1-4 μ m. Struktur dinding sel bakteri ini tersusun secara kompleks dengan kandungan lemak mencapai 60%. Komponen utama penyusunnya terdiri dari asam mikolat, wax kompleks, serta trehalosa dimikolat yang dikenal sebagai cord factor. Selain itu, terdapat mycobacterial sulfolipids yang berperan penting pada tingkat virulensi bakteri. Berdasarkan ciri khas tersebut, genus *Mycobacterium* mendapat klasifikasi khusus sebagai BTA (PDPI, 2021).



Sumber : Kementrian Kesehatan RI, 2017

Gambar 2.1 Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dalam sedimen dahak dengan pewarnaan Ziehl Neelsen.

Klasifikasi bakteri penyebab tuberkulosis :

Kingdom	: Bacteria
Divisio	: Mycobacteria
Class	: Actinomycetes
Ordo	: Actinomycetales
Family	: Mycobacteriaceae
Genus	: Mycobacterium
Spesies	: <i>Mycobacterium tuberculosis</i>

b. Penularan TB

Proses penularan penyakit TB bermula dari penderita yang membawa bakteri TB pada cairan sputumnya. Saat aktivitas ekspirasi mendadak seperti batuk maupun bersin, penderita melepaskan mikroorganisme patogen melalui udara sebagai droplet nuclei. Seseorang berisiko mengalami infeksi ketika menghirup droplet yang mengandung bakteri tersebut. Setiap episode batuk mampu menghasilkan kurang lebih 3000 titik droplet yang mengandung 0-3500 *M.tuberculosis*. Sementara itu, aktivitas bersin dapat melepaskan *M.tuberculosis* dengan jumlah berkisar antara 4500 hingga 1.000.000. Proses penularan penyakit TB umumnya berlangsung pada area tertutup yang minim pencahayaan serta sirkulasi udara terbatas, yang memungkinkan partikel-partikel kecil bertahan mengambang di atmosfer untuk periode yang panjang. Sinar matahari secara langsung memiliki kemampuan memusnahkan bakteri tuberkulosis secara cepat, sementara kondisi tanpa cahaya menciptakan lingkungan yang mendukung kelangsungan hidup bakteri tersebut. Risiko penularan meningkat signifikan ketika seseorang berada pada jarak yang dekat dan waktu yang berkepanjangan dengan penderita TB yang aktif (Kemenkes RI, 2020).

c. Perjalanan Alamiah TB pada Manusia

Rangkaian perkembangan TB berlangsung melalui 4 fase berurutan. Fase-fase tersebut mencakup periode kontak awal, masuknya bakteri, munculnya gejala penyakit, hingga berakhir dengan kematian. Berikut rinciannya:

1) Paparan

Peluang peningkatan paparan terkait dengan:

- Banyaknya penderita TB aktif yang berada di lingkungan sekitar
- Kesempatan berinteraksi dengan penderita TB aktif
- Konsentrasi bakteri pada dahak yang dikeluarkan
- Seberapa sering penderita TB batuk
- Jarak fisik saat berinteraksi dengan sumber penularan
- Durasi berinteraksi dengan sumber penularan.

2) Infeksi

Reaksi sistem imun muncul sekitar 6-14 minggu pasca penularan. Meski area terinfeksi bisa pulih sepenuhnya, mikroorganisme berpotensi bertahan (non-aktif) dan dapat aktif kembali bergantung pada sistem kekebalan tubuh. Penyebaran bisa terjadi melalui sistem sirkulasi sebelum area terinfeksi sembuh.

3) Faktor Risiko

Beberapa aspek yang menentukan tingkat risiko terkena TB meliputi:

- Banyaknya mikroorganisme yang masuk ke sistem pernapasan
- Rentang waktu setelah penularan terjadi
- Usia penderita saat penularan berlangsung
- Status sistem pertahanan tubuh. Orang dengan sistem imun lemah, seperti penderita HIV AIDS atau kekurangan gizi, memiliki kerentanan tinggi mengalami TB Aktif..
- Status HIV. Dari total orang yang mengalami penularan TB, 10% berkembang menjadi penderita TB. Namun angka ini meningkat signifikan pada pengidap HIV. Mereka memiliki risiko 20-37 kali lebih besar dibandingkan non-pengidap HIV untuk menderita TB, yang berakibat pada peningkatan penularan TB pada masyarakat umum.

4) Meninggal dunia

Faktor risiko kematian karena TB:

- Terlambatnya proses pengenalan penyakit
- Penanganan medis yang belum maksimal
- Kondisi tubuh yang lemah atau terdapat penyakit lain yang menyertai
- Pasien TB yang tidak mendapat pengobatan memiliki kemungkinan 50% mengalami kematian, dengan angka tersebut bertambah tinggi pada

penderita yang positif HIV. Sementara itu, pada kelompok ODHA, TB menjadi penyebab kematian sebesar 25%.

d. Gejala klinis TB

Lokasi lesi menentukan tanda-tanda TB yang akan terlihat pada tubuh penderita. Beberapa indikator yang sering muncul mencakup batuk berkepanjangan selama 2 minggu atau lebih, disertai dahak yang terkadang bercampur darah. Penderita juga bisa merasakan rasa sakit di dada dan kesulitan bernapas. Tanda tambahan yang mungkin timbul meliputi rasa letih, berkurangnya selera makan yang menyebabkan penurunan berat badan, tubuh menggigil, suhu badan meningkat, serta keluarnya keringat saat malam tanpa melakukan aktivitas fisik (Kemenkes RI, 2020).

2. Pemeriksaan Laboratorium Tuberkulosis

Sebelum menetapkan diagnosis TB pada pasien dewasa, pemeriksaan bakteriologis wajib dilaksanakan sebagai langkah awal. Terdapat tiga metode pemeriksaan bakteriologis yang digunakan: pengamatan mikroskopis, pengujian molekuler cepat TB, serta kultur bakteri. Saat menentukan diagnosis TB, tenaga medis menggunakan metode TCM, sementara untuk mengawasi perkembangan pengobatan pasien, pemeriksaan mikroskopis tetap menjadi standar utama yang diterapkan.

a. Pemeriksaan Mikroskopis (Fenotyping)

Pemeriksaan mikroskopis sediaan dahak menjadi metode yang dapat diterapkan secara luas pada fasilitas laboratorium sederhana, dengan prosedur yang tidak rumit serta menghasilkan data yang akurat. Sebagai bagian strategi DOTS, kualitas pemeriksaan mikroskopis langsung berperan krusial untuk menegaskan diagnosis dan memantau perkembangan pasien. Penentuan klasifikasi pasien, permulaan terapi, dan status kesembuhan sangat bergantung pada mutu hasil analisis dahak. Keberhasilan program penanggulangan tuberkulosis bertumpu pada kualitas hasil uji laboratorium. Setiap unit laboratorium yang menjalankan pengujian TB wajib menerapkan sistem pemantapan mutu, khususnya pada pemeriksaan BTA menggunakan teknik mikroskopis.

b. Pemeriksaan Tes Cepat Molekuler (TCM)

Tes Cepat Molekuler (TCM) merupakan inovasi penting untuk mendeteksi TB Resisten Obat dengan cepat. Metode pemeriksaan ini memberikan hasil diagnosa hanya dengan durasi dua jam. Keunggulan utama TCM terletak pada tingkat sensitivitas dan spesifisitasnya yang memungkinkan pendeteksian MTB bersamaan dengan identifikasi resistensi rifampisin. Meski menawarkan kecepatan dan akurasi tinggi untuk diagnosis TB serta resistensi rifampisin, TCM memiliki batasan karena tidak bisa dimanfaatkan sebagai alat pemantauan bagi pasien yang sedang menjalani pengobatan. Mengingat keterbatasan ini, penyebaran akses TCM perlu diperluas ke berbagai tingkat layanan kesehatan, mulai dari provinsi hingga kabupaten/kota serta fasilitas kesehatan lainnya, sehingga dapat menjangkau seluruh pasien TB yang membutuhkan.

c. Pemeriksaan Biakan dan Uji Kepekaan

Metode pengujian untuk mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* sebagai bakteri penyebab TB dapat dilakukan melalui beragam spesimen seperti sputum, hasil bilas lambung, spesimen cairan serebrospinal, sampel cairan pleura, atau jaringan hasil biopsi. Proses penularan TB memerlukan konfirmasi melalui identifikasi bakteriologis yang akurat. Dibandingkan dengan teknik pengujian TB lainnya yang sering menghadapi masalah akurasi, pemeriksaan menggunakan kultur memberikan hasil diagnosis yang lebih tepat dan pasti. Keunggulan signifikan dari metode kultur terletak pada tingkat sensitivitasnya yang tinggi - mampu mendeteksi jumlah bakteri minimal (sekitar 10 basil/ml sputum), berbeda jauh dengan pemeriksaan mikroskopis yang membutuhkan setidaknya 5000 basil/ml sputum untuk dapat terdeteksi.

3. Pemantapan Mutu Laboratorium Mikroskopis Tuberkulosis

Sistem pengendalian kualitas laboratorium klinis mencakup serangkaian aktivitas yang bertujuan memastikan akurasi dan presisi setiap hasil pengujian. Setiap hasil pemeriksaan yang digunakan sebagai acuan diagnosis serta penanganan medis wajib memenuhi standar mutu tinggi agar dapat diandalkan. Pencapaian standar tersebut mengharuskan petugas laboratorium menerapkan prosedur operasional sesuai ketentuan, disertai pengawasan kualitas yang berkelanjutan dan

terstruktur. Berdasarkan International Standard for TB Care (ISTC) 2009, penegakan diagnosis Tuberkulosis mensyaratkan pelaksanaan pengujian di fasilitas laboratorium yang menjalankan sistem pemantapan mutu secara konsisten.

Pemantapan mutu laboratorium TB mencakup tiga aspek utama:

- a. Pemantapan mutu internal merupakan serangkaian aktivitas pengendalian kualitas yang dijalankan secara berkelanjutan oleh tim laboratorium sendiri, meliputi seluruh rangkaian proses pemeriksaan (mulai tahap pra analisis, analisis, hingga pasca analisis).
- b. Pemantapan mutu eksternal mengacu pada mekanisme pengawasan kualitas melalui perbandingan performa antar laboratorium, yang dilaksanakan dengan menerapkan uji silang, melakukan tes panel, serta menjalankan supervisi.
- c. Peningkatan mutu mengacu pada rangkaian tindakan berkelanjutan yang diambil sebagai respons terhadap hasil evaluasi pemantapan mutu, baik yang bersumber dari pengawasan internal maupun eksternal.

Pemantapan Mutu Internal (PMI) Laboratorium Mikroskopik TB

Tujuan PMI:

- Memastikan setiap tahap pemeriksaan laboratorium mengikuti standar operasional
- Mengoptimalkan kualitas output pemeriksaan laboratorium mikroskopik TB

a. Tahap Praanalisis

1) Tersedia SPO dari semua prosedur pemeriksaan mikroskopik TB:

- a) Prosedur tetap pengumpulan dahak
- b) Prosedur tetap pembuatan sediaan
- c) Prosedur tetap ksasi
- d) Prosedur tetap pewarnaan.
- e) Pemeriksaan mikroskopik
- f) Prosedur tetap pembacaan mikroskopik
- g) Prosedur tetap pencatatan & pelaporan

h) Prosedur tetap pengolahan limbah

2) Persiapan alat

3) Persiapan pasien

Memberikan arahan lengkap tentang metode pengumpulan dahak, periode pengambilan, serta lokasi yang tepat.

4) Persiapan alat dan bahan.

- a) Pot dahak sesuai standar : bermulut lebar (diameter 4-6 cm, transparan, bening, tidak bocor, bertutup dengan ulir ≥ 3)
- b) Spidol dan label untuk pemberian identitas sesuai dengan nomor identitas yang tertera pada form TB 04, TB 05 , TB 06
- c) Pensil 2B untuk menulis nomor identitas sediaan pada bagian frosted kaca objek.

5) Uji kualitas contoh uji dahak

Dahak yang berkualitas: mukopurulen dengan volume minimal 3 ml.

Petugas harus menolak contoh uji yang berupa saliva dan harus dapat memotivasi pasien agar dapat mengeluarkan dahak yang baik.

Uji kualitas dahak dilakukan dengan cara melihat warna dan kekentalan dahak tanpa membuka tutup pot dahak, karena itu pot dahak harus terbuat dari bahan yang transparan dan bening.

6) Uji fungsi reagen Ziehl Neelsen

Uji ini diperlukan untuk memastikan reagen Ziehl Neelsen yang tersedia dapat mewarnai M.Tb dengan baik.

Pemantapan Mutu Eksternal Mikroskopik TB

Kinerja laboratorium mikroskopik TB dinilai oleh laboratorium rujukan dalam jejaring laboratorium TB melalui :

a. Uji Silang

Prinsip uji silang mikroskopik pembacaan ulang oleh laboratorium rujukan tanpa mengetahui hasil pembacaan laboratorium sebelumnya. Saat ini terdapat dua metode PME yaitu :

- 1) Metode LQAS (Lot Quality Assurance Sampling) : memeriksa sediaan yang diambil secara lot yaitu melalui penghitungan statistik yang spesifik untuk

setiap laboratorium atau wilayah kerja terkait. Metode ini dilakukan pada faskes mikroskopik yang menggunakan pemeriksaan mikroskopik sebagai satu-satunya uji diagnosis pasien TB.

- 2) Metode proporsional: memeriksa ulang seluruh sediaan positif dan 10% sediaan negatif. Metode ini dilakukan untuk faskes mikroskopik yang berjejaring dengan laboratorium TCM, dan melakukan pemeriksaan mikroskopik hanya pada pasien follow up. Pada umumnya jumlah sediaan negatif akan besar jumlahnya, sehingga bila menggunakan metode LQAS akan meningkatkan jumlah sediaan uji silang.

Pemilihan dan pengambilan sediaan mengacu pada pencatatan Register TB 04, secara berkala setiap triwulan. Diperlukan jejaring laboratorium mikroskopik TB yang aktif untuk menjamin keberhasilan PME; diikuti oleh seluruh laboratorium mikroskopik TB di wilayah terkait dan dengan frekuensi per triwulan.

4. Karakteristik (Usia, Jenis Kelamin) dan Pelatihan Pemeriksaan Mikroskopis Tuberkulosis untuk Ahli Teknologi Laboratorium Medis

a. Usia

Kinerja seseorang dapat dipengaruhi oleh faktor usia karena berkaitan dengan perubahan yang dialami individu, baik dari segi pengalaman maupun kondisi fisik dan mental, untuk menjaga agar produktivitas tidak menurun seiring bertambahnya usia, perlu memperhatikan aspek fisik, mental, kemampuan kerja, serta tanggung jawab seseorang.

b. Jenis Kelamin

Kemampuan fisik dan kekuatan otot pada pria dan wanita memang berbeda. Namun, menurut Departemen Ketenagakerjaan, perbedaan jenis kelamin perempuan tidak secara langsung memengaruhi kemampuan fisik atau aspek budaya kerja. Jenis kelamin dapat memengaruhi kecocokan dengan jenis pekerjaan tertentu, waktu pelaksanaan tugas, serta aturan-aturan yang berlaku di lingkungan kerja.

c. Pelatihan Pemeriksaan Mikroskopis Tuberkulosis untuk Ahli Teknologi Laboratorium Medis

Tenaga Ahli Teknologi Laboratorium Medis (ATLM) memegang peran strategis pada penemuan serta pelaporan kasus TB, sehingga keterlibatan mereka menjadi krusial untuk program penanggulangan tuberkulosis sesuai fungsi dan tanggung jawab yang ditetapkan. Setiap hasil uji laboratorium yang digunakan sebagai dasar diagnosis dan tatalaksana pasien wajib memenuhi standar kualitas tinggi untuk menjamin keakuratannya. Berdasarkan International Standard for TB Care (ISTC) 2009, penegakan diagnosis Tuberkulosis mensyaratkan pemeriksaan laboratorium yang menerapkan sistem pemantapan mutu secara ketat (Kemenkes RI, 2020).

Peningkatan kualitas dan pemantapan mutu bagi personel medis merupakan kebutuhan mendasar untuk mewujudkan layanan kesehatan berstandar tinggi. Tenaga Ahli Teknologi Laboratorium Medis (ATLM) yang memiliki keahlian, kepercayaan, serta nilai moral tinggi berperan penting mendorong pencapaian status kesehatan masyarakat optimal. Berdasarkan Perpres RI (2021), program penanggulangan tuberkulosis membutuhkan penguatan sumber daya manusia melalui pelatihan yang tersistem bagi tenaga kesehatan terkait.

Program pelatihan berperan sebagai sarana pengembangan yang bertujuan meningkatkan kualitas kerja serta profesionalitas tenaga medis beserta staf pendukung kesehatan agar optimal menjalankan tugasnya (Kemenkes RI, 2023). Mengingat tingginya angka TB Paru di Indonesia, pelatihan khusus pemeriksaan mikroskopis Tuberkulosis menjadi kebutuhan mendasar bagi Tenaga Ahli Teknologi Laboratorium Medis (ATLM). Hal ini terutama penting sebab sebagian besar pengujian Bakteri Tahan Asam (BTA) di laboratorium medik menggunakan sampel dahak pasien.

Pemeriksaan mikroskopis BTA menawarkan berbagai keunggulan sebagai metode yang terjangkau, praktis, dan akurat dengan tingkat spesifisitas serta sensitivitas yang baik. Metode ini dapat diterapkan di setiap unit laboratorium fasyankes yang memiliki peralatan mikroskop beserta ATLM yang sudah mendapat pelatihan khusus TB. Berdasarkan Standar Kompetensi Kerja Nasional No. 170/2018 untuk Bidang Teknologi Laboratorium Medik (Unit Kompetensi Q.86TLM00.021.1), seluruh ATLM di Indonesia diharapkan mampu menjalankan pemeriksaan mikroskopis BTA. Hal ini menekankan pentingnya penyelarasan

program pelatihan dengan standar kompetensi yang telah ditetapkan untuk tenaga laboratorium medik, guna memastikan kualitas pemeriksaan yang optimal.

Strategi DOTS membutuhkan komponen utama berupa pengamatan mikroskopis sediaan dahak berkualitas tinggi, yang berfungsi sebagai alat diagnosis awal serta pemantauan berkelanjutan. Penentuan status pasien, inisiasi terapi, dan evaluasi kesembuhan sangat bergantung pada kualitas hasil uji laboratorium dahak. Keberhasilan program penanggulangan tuberkulosis bertumpu pada mutu pemeriksaan laboratorium yang optimal. Setiap fasilitas laboratorium yang menjalankan tes TB wajib menerapkan sistem pemantapan mutu, khususnya pada prosedur pemeriksaan BTA menggunakan metode mikroskopik.

Program pelatihan Tenaga Ahli Teknologi Laboratorium Medis (ATLM) mengenai pemeriksaan mikroskopis Tuberkulosis bertujuan menghasilkan tenaga yang memenuhi standar kompetensi. Setelah menyelesaikan program ini, peserta diharapkan menguasai empat bidang utama: pertama, tahap persiapan pemeriksaan Bakteri Tahan Asam (BTA); kedua, metode pemeriksaan mikroskopis BTA; ketiga, sistem pelaporan hasil analisis preparat langsung; dan keempat, penerapan protokol keselamatan serta kesehatan kerja di lingkungan laboratorium mikrobiologi klinis. Keseluruhan materi ini dirancang untuk memastikan kualitas pemeriksaan yang optimal sesuai standar yang ditetapkan.

1. Pembuatan Sediaan Dahak

a. 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.

b. Peralatan Pemeriksaan Sediaan Dahak

Untuk pembuatan sediaan apus dibutuhkan peralatan sebagai berikut :

- Kaca sediaan yang baru dan bersih, sebaiknya frosted end slide (objek glas yang ujungnya buram)
- Bambu/lidi/ tusuk gigi
- Tang
- Pensil 2B
- Lampu spritus/ Bunsen

- Pinset
- Wadah pembuangan lidi bekas+ disinfektan
- Disinfektan (lisol 5%, Alkohol 70%, Hipoklorit 0,5%)

c. Memberikan Identitas sediaan

Tahap awal pembuatan sediaan diawali dengan pemberian identitas. Penulisan identitas dilaksanakan pada area frosted end slide menggunakan pensil 2B. Alternatif penandaan menggunakan label khusus bagi kaca sediaan non-frosted. Nomor identitas yang dituliskan harus sesuai dengan Form TB 05.

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

Keterangan:

- 2 digit = tahun
- 7-11 digit = 7 untuk RS, 11 untuk Puskesmas
- 1 digit = 1 untuk terduga TB SO, 2 untuk terduga TB RO
- 20
- 4 digit = no urut TB .06
- “_” = kode huruf sesuai waktu pengambilan dahak

Penulisan nomor identitas sediaan pada formulir, kaca sediaan dan dinding pot dahak:

- Pada kaca sediaan, tulis di bagian frosted
- Tulis: 1digit/4digit_

d. Cara Pembuatan Sediaan

Cara Pembuatan sediaan dahak sesuai standar

1) Pembuatan sediaan dahak

Pengambilan contoh uji spesimen menggunakan batang lidi yang sudah dimodifikasi dengan tang menjadi pipih. Pilih area purulen untuk diambil. Letakkan spesimen pada kaca sediaan berbentuk oval (2 x 3), lalu ratakan menggunakan tusuk gigi dengan pola melingkar kecil. Perhatikan: hindari gerakan melingkar saat spesimen mengering karena berisiko menghasilkan aerosol.

2) Pengeringan

Biarkan mengering pada temperatur ruangan. Setelah selesai, masukkan peralatan bekas pakai (lidi dan tusuk gigi) ke tempat khusus berlapis plastik yang berisi cairan disinfektan.

3) Fiksasi

Gunakan pinset untuk memegang kaca sediaan dengan posisi menghadap atas. Lakukan fiksasi dengan melewati sediaan di atas nyala api bunsen berwarna biru sebanyak 2-3 kali dengan durasi 1-2 detik.

Lewatkan sediaan di atas api bunsen yang berwarna biru 2- 3 kali selama 1-2 detik.

Penilaian ketebalan sediaan apus

Pengujian kualitas ketebalan sediaan dapat dilaksanakan sebelum pewarnaan.

Caranya: posisikan sediaan kering 4-5 cm di atas kertas koran. Standar sediaan yang memenuhi syarat ditandai dengan tulisan koran yang masih terlihat samar.

- Contoh sediaan yang benar, tulisan di koran masih terbaca secara samar.
- Contoh sediaan yang terlalu tebal, tulisan di koran tidak terbaca.
- Contoh sediaan yang terlalu tipis, tulisan di koran terbaca dengan mudah.

Catatan :

Petunjuk pengiriman sediaan untuk fasilitas pelayanan kesehatan yang tidak menjalankan proses pewarnaan dan pemeriksaan mikroskopis:

Bungkus sediaan dengan kertas tissue kemudian digulung beberapa kali agar tidak pecah atau kirimkan dalam kotak sediaan bersama Form TB 05.

e. Pewarnaan Metode Ziehl Neelsen (ZN)

Persiapan menyeluruh terhadap alat serta reagen merupakan langkah awal yang wajib dilakukan sebelum mengawali proses pewarnaan sediaan. Hal ini bertujuan menghindari hambatan selama pelaksanaan. Guna memastikan ketersediaan bahan pengujian yang optimal, diperlukan penerapan sistem pengadaan yang tepat guna serta penggunaan reagen berkualitas tinggi. Mekanisme Dasar Pewarnaan ZN:

- 1) Struktur *M. tuberculosis* memiliki komponen lipid (Mycolic acid) pada dindingnya yang bersifat resisten terhadap asam
- 2) Aktivitas pemanasan berperan memfasilitasi penetrasi Carbol Fuchsin menembus dinding sel
- 3) Pengikatan zat warna Carbol Fuchsin pada dinding sel tetap bertahan meski telah melalui proses dekolonisasi menggunakan asam alkohol

Reagensia yang diperlukan untuk pewarnaan ZN

- 1) Carbol Fuchsin 1 %
- 2) Asam Alkohol 3 %
- 3) Methylene blue 0,1 %

Peralatan yang diperlukan untuk pewarnaan ZN

- 1) Rak pewarnaan
- 2) Pinset/ Penjepit kayu
- 3) Air mengalir/ botol semprot air
- 4) Sulut api
- 5) Rak pengering
- 6) Pengatur waktu/ timer
- 7) Corong & Kertas Saring
- 8) Kain Basah

Cara melakukan pewarnaan ZN

- Posisikan sediaan pada rak pewarnaan dengan memberikan ruang selebar satu jari
- Aplikasikan larutan Carbol Fuchsin 1% menggunakan corong berlapis kertas saring, mulai dari sisi awal hingga merata ke seluruh permukaan sediaan

Pemanasan

- Berikan panas pada sediaan sampai terlihat uap (hindari mendidih), biarkan mendingin selama 10 menit
- Gunakan alat pemanas yang terbuat dari kawat baja, bagian ujungnya dibalut sumbu kompor atau kain kasa yang terikat kawat halus, rendam pada spiritus sebelum penggunaan
- Padamkan alat pemanas menggunakan kain yang telah dibasahi

Pencucian

Alirkan air secara halus untuk membersihkan sediaan, hindari penyiraman langsung ke permukaan apusan.

Dekolorisasi

- Hilangkan air yang tersisa pada sediaan
- Aplikasikan methylene blue 0.1% merata pada permukaan sediaan, diamkan selama 60 detik
- Bersihkan menggunakan air mengalir

Pewarnaan Latar (counter staining)

- Aplikasikan methylen blue 0.1% merata pada permukaan sediaan, tunggu 60 detik
- Bersihkan menggunakan air mengalir
- Letakkan sediaan pada rak pengering sampai kering

Kualitas pewarnaan ZN

Hasil pewarnaan optimal akan menampilkan BTA merah, baik tunggal maupun berkelompok, dengan latar belakang biru serta leukosit yang teridentifikasi jelas saat pengamatan mikroskopis.

Hasil pewarnaan suboptimal ditandai munculnya residu pewarna dan kristal-kristal yang menghalangi pengamatan BTA secara mikroskopis.

2. Pembacaan Sediaan Dahak

Proses pengamatan sediaan dahak diawali dengan penyesuaian fokus menggunakan lensa objektif 10x pada mikroskop, yang selanjutnya diganti ke lensa objektif 100x. Pengamatan dilaksanakan secara sistematis mengikuti jalur horizontal maksimal, mulai dari sisi kiri menuju sisi kanan atau arah sebaliknya. Metode ini memastikan tercapainya pengamatan minimal 100 area pandang. Pada hasil pengamatan, BTA teridentifikasi melalui penampakan mikroorganisme berwarna merah yang bisa muncul secara tunggal atau berkelompok. Penting untuk melakukan pembedaan antara BTA dengan benda-benda pengganggu yang memiliki kemiripan visual, termasuk BTA yang berasal dari lingkungan yang biasanya mengkontaminasi sumber air keran.

3. Pelaporan Skala IUATLD

Pelaporan hasil pemeriksaan mikroskopik dengan mengacu kepada skala IUATLD

- Negatif : tidak ditemukan BTA dalam 100 lapang pandang
- Scanty : ditemukan 1-9 BTA dalam 100 lapang pandang (tuliskan jml BTA yang ditemukan)
- 1+ : ditemukan 10 – 99 BTA dlm 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 (periksaminimal 20 lapang pandang)

Catat hasil pemeriksaan pada Register Lab TB 04 (hasil positif ditulis dengan tinta merah) dan bagian bawah Form TB 05. Berikan tanggal dan tanda tangan pada form TB 05

c. Kualitas Sediaan Dahak

Penilaian kualitas sediaan dahak mengacu pada enam parameter standar mutu yang wajib terpenuhi. Parameter tersebut mencakup aspek kualitas contoh uji yang diambil, dimensi ukuran yang tepat, tingkat ketebalan yang sesuai, tingkat kerataan permukaan, mutu pewarnaan yang diterapkan, serta tingkat kebersihan spesimen. Seluruh parameter ini menjadi acuan untuk menentukan apakah suatu sediaan dahak memenuhi syarat pemeriksaan atau tidak.

1) Kualitas contoh uji (spesimen)

Spesimen dahak berkualitas baik apabila ditemukan:

- Lekosit PMN ≥ 25 per LP pada perbesaran 10 x 10
- Epitel pada perbesaran 10 x 10

2) Ukuran sediaan dahak

Standar pengukuran sediaan dahak mengacu pada bentuk oval dengan spesifikasi panjang mencapai 3 cm serta dimensi lebar 2 cm.

3) Ketebalan

Penilaian ketebalan mencakup dua tahap pengamatan: pra-pewarnaan dan saat pengujian mikroskopik. Tahap pertama melibatkan penempatan sediaan dengan jarak 4cm di atas permukaan kertas. Tahap kedua berlangsung sesuai proses pewarnaan. Indikator mutu yang baik ditandai dengan sel leukosit yang tersusun tanpa tumpang tindih (one layer cells).

4) Kerataan

Pengamatan kerataan meliputi pemeriksaan makroskopis dan mikroskopik, memastikan tidak ada zona kosong.

- Kualitas sediaan optimal tercermin melalui distribusi apusan dahak merata pada setiap area pengamatan mikroskopik, tanpa celah kosong.

- Masalah umum mencakup sediaan berlebihan atau terkelupas, umumnya akibat fiksasi prematur atau teknik pencucian langsung pada apusan.
- Ketidakrataan sediaan sering terjadi karena absennya teknik perataan spiral-spiral kecil.

5) Pewarnaan

Sediaan berkualitas menampilkan kontras jelas antara BTA dengan warna latar, bebas residu pewarna.

6) Kebersihan

Penilaian kebersihan mencakup pengamatan makroskopis dan mikroskopik. Sediaan optimal tampak bersih tanpa sisa pewarna atau kristal. Residu dapat menghambat proses pembacaan mikroskopik. Penilaian mutu sediaan dahak menggunakan metode diagram sarang laba-laba.

d. Penyimpanan sediaan dahak

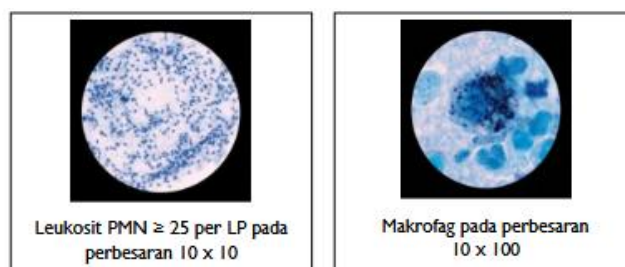
penting. Seusai proses pembacaan, sediaan perlu dibersihkan dari minyak imersi menggunakan dua metode alternatif. Metode pertama memanfaatkan xylol untuk membersihkan permukaan. Metode kedua menggunakan tissue yang diletakkan di permukaan sediaan agar minyak imersi dapat terserap. Langkah terakhir yaitu menempatkan sediaan tersebut pada kotak penyimpanan khusus dengan pengaturan berurutan mengacu pada penomoran register lab TB 04.

e. Sediaan Dahak yang Baik

Sediaan dahak yang baik adalah sediaan yang memenuhi 6 syarat kualitas sediaan meliputi:

1) Kualitas spesimen

Spesimen dahak berkualitas baik apabila ditemukan:



Gambar 2.2 Sediaan dahak dengan kualitas spesimen baik

2) Ukuran sediaan dahak



Gambar 2.3 Ukuran sediaan dahak

3) Ketebalan

- Proses penilaian ketebalan bisa dijalankan melalui dua tahap: sebelum proses pewarnaan dan ketika melaksanakan pemeriksaan mikroskopis.
- Metode penilaian ketebalan tahap awal menggunakan teknik penempatan sediaan dengan jarak kurang lebih 4cm di bagian atas permukaan kertas.
- Opsi penilaian ketebalan juga memungkinkan untuk dilaksanakan sesuai proses pewarnaan sediaan dahak. Sediaan yang memenuhi standar mutu akan menampilkan sel leukosit yang tersusun tanpa tumpang tindih (one layer cells).

-

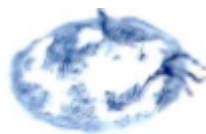
4) Kerataan

- Standar kualitas sediaan yang memenuhi syarat ditandai dengan penyebaran spesimen yang merata tanpa adanya ruang kosong pada permukaan.



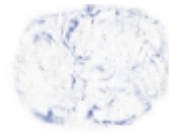
Gambar 2.4 Sediaan dahak dengan kerataan baik

- Ketidaksesuaian sediaan muncul saat lapisan terlampau tebal disertai area yang mengelupas, umumnya akibat proses fiksasi yang tergesa sebelum kering sempurna atau teknik pencucian yang langsung mengenai area apusan.



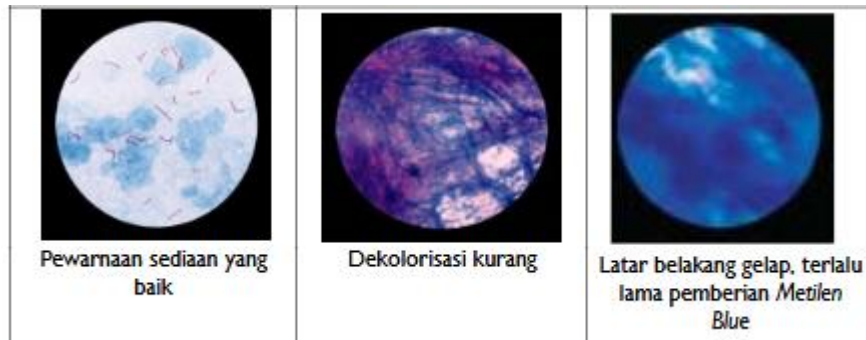
Gambar 2.5 Sediaan dahak terlalu tebal

- c. Ketidakmerataan sediaan terjadi akibat pengabaian teknik perataan menggunakan pola spiral berukuran kecil saat pembuatan.



Gambar 2.6 Sediaan dahak tidak rata

5) Pewarnaan



Gambar 2.7 Pewarnaan sediaan dahak

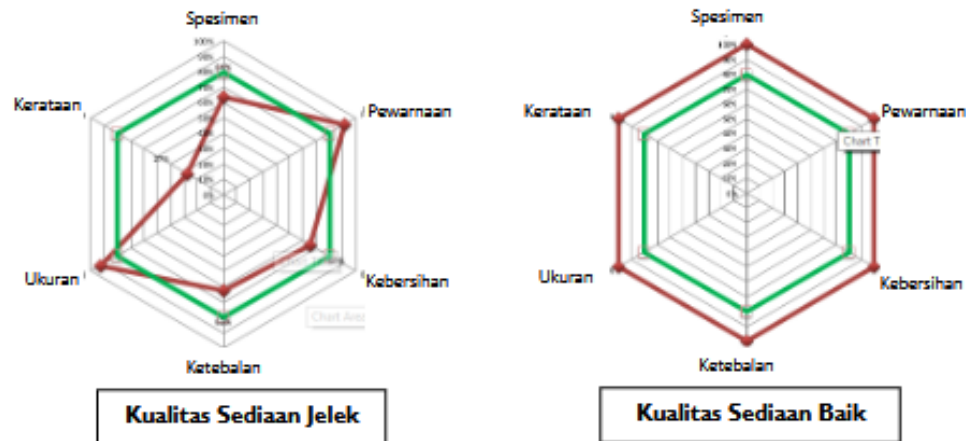
6) Kebersihan

Proses penilaian kebersihan mencakup dua aspek pengamatan: pengujian makroskopis dan mikroskopis. Sebuah sediaan berkualitas tinggi menampilkan permukaan yang bersih tanpa adanya residu pewarnaan atau kristal yang mengendap. Apabila sediaan tidak memenuhi standar kebersihan, hal ini akan berdampak negatif pada proses pembacaan mikroskopis.



Gambar 2.8 Kebersihan sediaan dahak

Metode penilaian kualitas sediaan dahak yang optimal menggunakan sistem pengukuran berbentuk diagram sarang laba-laba sebagai alat bantu standarisasi.



Gambar 2.9 Diagram sarang laba-laba

f. Standar Prosedur Operasional Pemeriksaan Mikroskopis TBC

1. SPO pengambilan dahak
2. SPO penerimaan spesimen di laboratorium
3. SPO pembuatan sediaan dahak
4. SPO pewarnaan sediaan
5. SPO Uji fungsi reagen Ziehl Neelsen
6. SPO pembacaan hasil sediaan
7. SPO pelaporan hasil pemeriksaan

g. Gangguan Teknis & Troubleshooting

Kondisi	Permasalahan	Penanganan
Positif Palsu	Bekas pewarnaan sediaan pada kaca sediaan bekas yang dipakai ulang.	Hanya menggunakan kaca sediaan yang baru.
	BTA berpindah dari sediaan positif ke sediaan negatif.	Gunakan rak pewarnaan dan beri jarak antar sediaan, jangan gunakan bak pewarnaan (<i>staining jar</i>).
	Partikel makanan.	Minta sampel baru.
	Sisa zat warna.	Gunakan reagen pewarnaan yang baru, tanpa endapan dan kontaminasi organisme.
	BTA berpindah dari minyak imersi pada lensa atau melalui botol minyak imersi yang terkontaminasi.	Setiap pembacaan BTA dengan hasil positif, selalu lap minyak imersi pada lensa sebelum melanjutkan dengan sediaan lain. Ganti botol oli imersi ketika ada kontaminasi.
Negatif Palsu	Sediaan yang terlalu tebal, atau sediaan yang tidak bersih, menyebabkan apusan tersapu saat pewarnaan.	Jangan buat sediaan terlalu tebal.
	Ukuran apusan terlalu besar dan apusan terlalu kecil.	Buat sediaan 2x3 cm dengan dahak sebesar biji kacang hijau.
	Apusan BTA yang tidak terwarnai atau terlalu pucat.	Saat pewarnaan, buang sisa air bilasan diantara tahap pewarnaan untuk mencegah reagen terencerkan.
	Temperatur <i>hotplate</i> yang salah.	Setel temperature <i>hotplate</i> pada suhu 65 -75°C dan monitor setiap hari/ setiap minggu.
	Pembacaan sediaan yang tidak selesai.	Baca sediaan pada garis horizontal terpanjang / 100LP.

Gambar 2.10 Gangguan Teknis & Troubleshooting

4. Keselamatan dan Kesehatan Kerja di Laboratorium Mikrobiologi Klinik

K3 Laboratorium dan Perilaku Petugas

- APD Wajib: Jas laboratorium (tertutup depan, panjang hingga lutut, lengan berkaret), masker, sarung tangan.
- Jas harus dicuci di fasilitas kerja setelah didekontaminasi dan tidak boleh dibawa pulang.
- Perilaku aman:
 - Cuci tangan dengan sabun disinfektan.
 - Dekontaminasi meja & lantai setelah bekerja.
 - Pisahkan limbah infeksius dan non-infeksius.
 - Bekerja searah aliran udara (tidak melawan arah ventilasi).
- Larangan di Laboratorium
 - Tidak boleh makan, minum, merokok, membuka pot sputum sembarangan, pipet dengan mulut, menggunakan pot atau sarung tangan bekas, berdiri di depan pasien saat berdahak, atau membawa benda ke mulut.

Peralatan Pendukung K3

- Wadah alat bekas harus kuat, tidak bocor, diberi larutan disinfektan cukup.
- Otoklaf (jika tersedia) harus ada di dalam laboratorium.
- Lampu spiritus/bunsen hanya untuk fiksasi sediaan.
- Bahan habis pakai: sabun cair, tisu, larutan disinfektan (Lysol, hipoklorit 1–5%).

Pengelolaan Limbah

- Semua limbah harus tidak infeksius sebelum keluar dari laboratorium.
- Jenis limbah:
 - Infeksius: padat, cair, tajam
 - Non-infeksius: dapat/ tidak dapat didaur ulang

Proses dekontaminasi:

- Rendam semalam dalam disinfektan (12 jam)
- Jika ada otoklaf: gunakan kantong tahan panas dan autoklaf sesuai pedoman

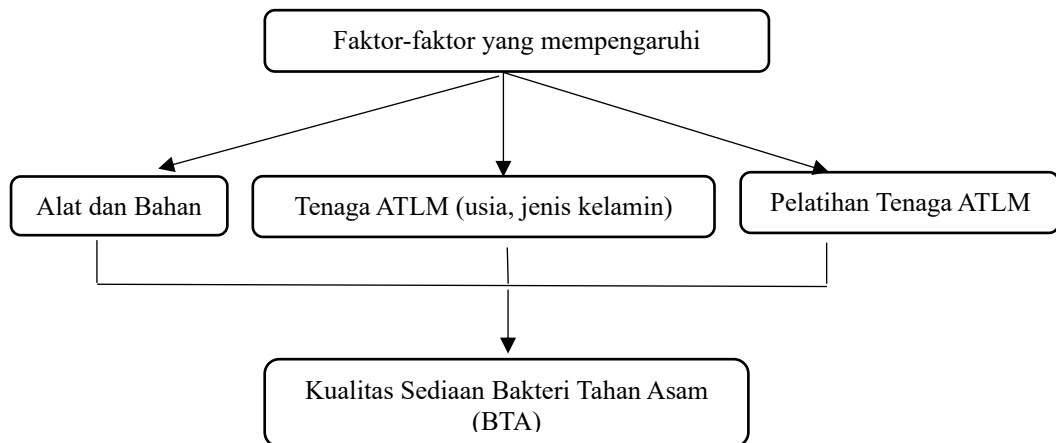
Pemusnahan limbah:

- Insinerasi (dibakar)
- Penimbunan terkendali
- Dikelola pihak ketiga secara berkala

Kesiapsiagaan Darurat

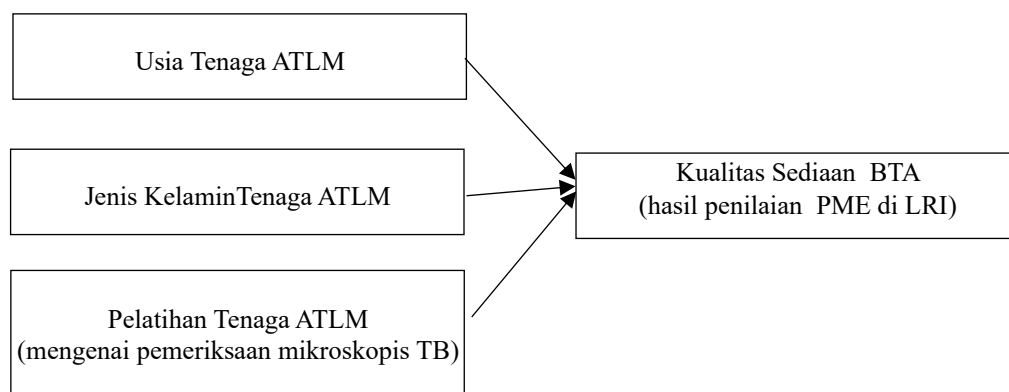
- Wajib tersedia:
 - Obat P3K, Alat pemadam kebakaran

B. Kerangka Teori



Gambar 2.11 Kerangka Teori.

C. Kerangka Konsep



Gambar 2.12 Kerangka Konsep.

D. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah :

- H0 : Tidak ada Hubungan antara Usia Tenaga Ahli Teknologi Laboratorium Medis (ATLM) dengan Kualitas Sediaan Bakteri Tahan Asam (BTA) di Puskesmas Kabupaten Lampung Selatan.
- Ha : Ada Hubungan antara Usia Tenaga Ahli Teknologi Laboratorium Medis (ATLM) dengan Kualitas Sediaan Bakteri Tahan Asam (BTA) di Puskesmas Kabupaten Lampung Selatan.
- H0 : Tidak ada Hubungan antara Jenis Kelamin Tenaga Ahli Teknologi Laboratorium Medis (ATLM) dengan Kualitas Sediaan Bakteri Tahan Asam (BTA) di Puskesmas Kabupaten Lampung Selatan.
- Ha : Ada Hubungan antara Jenis Kelamin Tenaga Ahli Teknologi Laboratorium Medis (ATLM) dengan Kualitas Sediaan Bakteri Tahan Asam (BTA) di Puskesmas Kabupaten Lampung Selatan.
- H0 : Tidak ada Hubungan antara Pelatihan Tenaga Ahli Teknologi Laboratorium Medis (ATLM) dengan Kualitas Sediaan Bakteri Tahan Asam (BTA) di Puskesmas Kabupaten Lampung Selatan.
- Ha : Ada Hubungan antara Pelatihan Tenaga Ahli Teknologi Laboratorium Medis (ATLM) dengan Kualitas Sediaan Bakteri Tahan Asam (BTA) di Puskesmas Kabupaten Lampung Selatan.