

EFEKTIFITAS PENAMBAHAN LARUTAN NAOH DAN KOH PADA SPUTUM PENDERITA TB PARU UNTUK PEMERIKSAAN BTA SECARA MIKROSKOPIS

Mardiyatus Shalehah

Jurusan Analis Kesehatan, Poltekkes Kemenkes Surabaya; mardiya12sholeha@gmail.com

Diah Titik Mutiarawati

Jurusan Analis Kesehatan, Poltekkes Kemenkes Surabaya; diah_titikmutiarawati@poltekkesdepkes-sby.ac.id

Wisnu Istanto

Jurusan Analis Kesehatan, Poltekkes Kemenkes Surabaya; istantowisnu@yahoo.com

ABSTRACT

This study aimed to determine the effectiveness of adding NaOH and KOH solutions as a decontaminant in the microscopic discovery of BTA. The addition of NaOH and KOH solutions can affect the preparation of sputum specimens to be cleaner than preparations that are not given the addition of NaOH and KOH solutions. The type of research used was Experimental Observation, which was comparing NaOH and KOH to determine the effectiveness as a decontaminant in the microscopic discovery of AFB. This research was conducted at the Tembok Dukuh Health Center Surabaya in March-April 2019 with a total of 23 respondents. Before staining, the specimen was added with a decontaminant that aimed to kill germs other than BTA. a addition of NaOH solution with concentration (3%, 4%, and 5%) and KOH solution with concentration (3%, 4%, and 5%). The results of statistical tests on the number of acid-fast bacteria (BTA) using Kruskal showed that there was no effect of adding NaOH and KOH solutions to the number of acid-fast bacteria.

Keywords: Mycobacterium tuberculosis, AFB, Decontamination, NaOH, KOH, Sputum, Microscopy

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektifitas penambahan larutan NaOH dan KOH sebagai dekontaminan dalam penemuan BTA secara mikroskopis. Penambahan larutan NaOH dan KOH dapat mempengaruhi sediaan spesimen sputum menjadi lebih bersih daripada sediaan yang tidak diberi penambahan larutan NaOH dan KOH. Jenis penelitian yang digunakan berupa *Observasional Eksperimental* yaitu membandingkan NaOH dan KOH untuk mengetahui efektifitas sebagai dekontaminan dalam penemuan BTA secara mikroskopis. Penelitian ini dilakukan di Puskesmas Tembok Dukuh Surabaya pada bulan Maret-April 2019 dengan jumlah 23 responden. Sebelum dilakukan pewarnaan, spesimen ditambahkan dekontaminan yang bertujuan untuk membunuh kuman selain BTA. penambahan larutan NaOH dengan konsentrasi (3%, 4%, dan 5%) dan larutan KOH dengan konsentrasi (3%, 4%, dan 5%). Hasil uji statistik pada jumlah bakteri tahan asam (BTA) menggunakan *Kruskal* menunjukkan bahwa tidak adanya pengaruh penambahan larutan NaOH dan KOH terhadap jumlah bakteri tahan asam.

Kata kunci: Mycobacterium tuberculosis, BTA, Dekontaminasi, NaOH, KOH, Sputum, Mikroskopis

PENDAHULUAN

Latar Belakang (Opsional)

Tuberkulosis (TBC) merupakan penyakit infeksi yang menular dan dapat menyebabkan kematian. Indonesia masih tercatat sebagai salah satu negara dengan beban Tuberkulosis yang tinggi. Kementerian kesehatan tahun 2018 melaporkan bahwa jumlah kasus baru TB pada tahun 2017 di Indonesia sebanyak 420.994. Berdasarkan jenis kelamin, jumlah kasus baru TBC tahun 2017 pada laki-laki 1,4 kali lebih besar dibandingkan pada perempuan. Bahkan berdasarkan Survei Prevalensi Tuberkulosis prevalensi pada laki-laki 3 kali lebih tinggi dibandingkan pada perempuan⁶.

Penyakit tuberkulosis disebabkan oleh kuman *Mycobacterium tuberculosis* yang dapat menyerang berbagai organ atau jaringan tubuh, terutama yang paling sering pada paru-paru manusia sehingga untuk pemeriksaan bakteri ini menggunakan spesimen sputum⁷. *M. tuberculosis* sulit tumbuh pada biakan, dibutuhkan maksimal 90-100 hari pengamatan biakan untuk memastikan hasil negatif pada pertumbuhan BTA sehingga pemeriksaan mikroskopis BTA menjadi sangat penting untuk penemuan BTA pada spesimen⁹.

Mycobacterium tuberculosis berbentuk batang dan bersifat tahan asam (BTA) karena memiliki lapisan lilin dan lemak sehingga sukar ditembus penegetan. Maka dari itu, pemeriksaan BTA menggunakan pewarnaan

Zehl-Nelsen yang memiliki prinsip cat karbol fuchsin dapat memembus la pisan di nding dan lemak bakteri *Mycobacterium tuberculosis* karena pengaruh fenol dan pemanasan¹.

Dahak dari pasien dengan infeksi tuberkulosis sering mengandung partikel padat bahan dari paru - paru dan bahan ini harus dipilih untuk kultur. Namun, karena dahak TB diambil melalui tenggorokan dan mulut, kontaminasi dengan flora normal faring tidak bisa dihindari. Maka perlu ditambahkan dekontaminan untuk mempermudah penemuan BTA⁸. Karakteristik bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang cenderung lebih tahan terhadap bahan kimia dari bakteri lain karena sifat hidrofobik permukaan sel. Asam dan basa memungkinkan kelangsungan hidup beberapa basil tuberkulosis dan digunakan untuk membantu menghilangkan kontaminan. Selain itu, basil tuberkulosis tahan terhadap pengeringan sehingga bertahan untuk yang lama dalam dahak kering⁵.

Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membandingkan efektifitas NaOH dan KOH yang keduanya merupakan larutan basa untuk diketahui sebagai dekontaminan pada pemeriksaan Bakteri Tahan Asam (BTA). Sehingga dapat meningkatkan kualitas pemeriksaan dengan meningkatkan penemuan bakteri tahan asam pada sputum penderita TB paru.

METODE

Bahan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah sputum dari responden yang suspek dan positif tuberkulosis yang diperoleh dari puskesmas Tembok Dukuh Surabaya dengan jumlah sebanyak 23 sampel. Penelitian ini dilakukan di Puskesmas Tembok Dukuh selama bulan Maret – April 2019. Jenis penelitian ini adalah *Observasional Eksperimental* yang bertujuan untuk mengetahui efektifitas penambahan larutan NaOH dan KOH pada sputum untuk pemeriksaan BTA secara mikroskopis. Sehingga variabel penelitian ini adalah hasil jumlah BTA dengan penambahan larutan basa. Pemeriksaan BTA menggunakan pewarnaan *Ziehl Nelsen*. Namun sebelum dilakukan pewarnaan *Ziehl Nelsen*, sputum dilakukan pengolahan dahak menggunakan larutan NaOH dan KOH.

Analisa data dari hasil penelitian dilakukan secara deskriptif yang disajikan dalam bentuk tabel untuk mengetahui perbedaan 3 kelompok perlakuan dari sampel dahak yaitu : dahak tanpa penambahan larutan basa, dahak dengan larutan basa (NaOH) dan dahak dengan larutan basa (KOH). Selanjutnya dilakukan uji statistik dengan menggunakan uji One Way Anova apabila data berdistribusi normal, tetapi apabila data tidak berdistribusi normal dilakukan uji Kruskal Wallis menggunakan aplikasi SPSS.

HASIL PENELITIAN

Dari penelitian yang telah dilakukan mengenai efektifitas penambahan larutan NaOH dan KOH terhadap jumlah BTA secara mikroskopis, setiap sampel dilakukan pengolahan pada dahak/sputum sebanyak 7 perlakuan dan diperoleh hasil penelitian seperti dijabarkan pada tabel 1.

Berdasarkan tabel 1, sampel yang digunakan adalah sebanyak 23 spesimen sputum penderita paru. Jumlah Bakteri Tahan Asam (BTA) pada sediaan yang tanpa dilakukan penambahan larutan sebelum pewarnaan ZN adalah sebanyak 217 dan setelah dilakukan penambahan larutan NaOH (3%, 4% dan 5%) secara berurutan adalah 166, 168, dan 200. Sedangkan pada sediaan yang telah ditambahkan larutan KOH (3%, 4%, dan 5%) secara berurutan adalah sebanyak 143, 137, dan 136. Hal ini menunjukkan bahwa adanya perbedaan jumlah Bakteri Tahan Asam dari beberapa perlakuan dan konsentrasi. Sedangkan data persentase jumlah BTA dapat dilihat sebagai berikut : Dari gambar 1 menunjukkan bahwa pada sediaan yang tanpa penambahan larutan menunjukkan hasil lebih tinggi daripada sediaan yang diberi penambahan larutan NaOH dan KOH. penambahan larutan NaOH 5% lebih tinggi daripada penambahan larutan KOH.

Analisa Data

Berdasarkan uji normalitas menggunakan One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test pada tabel 1 menghasilkan nilai signifikan 0,000 yang lebih kecil dari α (0,05) yang berarti hasil tidak berdistribusi normal. Sehingga dilanjutkan non parametrik yaitu uji Kruskal Wallis. Data hasil uji Kruskal Wallis tersebut menyatakan bahwa nilai sig sebesar 0,981 yang berarti tidak adanya pengaruh secara signifikan dengan penambahan larutan NaOH (3%, 4%, dan 5%) dan KOH (3%, 4% dan 5%) terhadap penemuan BTA secara mikroskopis.

Tabel 1. Data Hasil Penelitian Efektifitas Penambahan Larutan NaOH Dan KOH Pada Penemuan BTA Secara Mikroskopis

No Sampel	BTA Tanpa Larutan	BTA NaOH 3%	BTA NaOH 4%	BTA NaOH 5%	BTA KOH 3%	BTA KOH 4%	BTA KOH 5%
1	35	24	10	11	25	12	14
2	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0
4	37	25	35	26	24	25	12
5	26	25	26	27	23	22	13
6	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0
8	24	14	25	35	11	14	15
9	0	0	0	0	0	0	0
10	18	14	16	29	13	15	28
11	15	14	15	28	11	12	11
12	0	0	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0	0	0
14	17	23	15	16	12	11	15
15	20	12	14	17	12	13	14
16	0	0	0	0	0	0	0
17	0	0	0	0	0	0	0
18	0	0	0	0	0	0	0
19	25	15	12	11	12	13	14
20	0	0	0	0	0	0	0
21	0	0	0	0	0	0	0
22	0	0	0	0	0	0	0
23	0	0	0	0	0	0	0
Jumlah	217	166	168	200	143	137	136
Rata-Rata	9,43478	7,21739	7,30435	8,69565	6,21739	5,95652	5,91304

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektifitas penambahan larutan NaOH dan KOH sebagai dekontaminan dalam penemuan BTA secara mikroskopis. Penelitian ini menggunakan sampel spesimen sputum penderita TB paru dari Puskesmas Tembok Dukuh Surabaya dengan jumlah sampel sebanyak 11 responden dan RSUD Soetomo dengan jumlah sampel sebanyak 9 responden, sehingga total sampel yang terkumpul sebanyak 23 responden.

Sebelum dilakukan pewarnaan, spesimen ditambahkan dekontaminan yaitu larutan NaOH dan KOH yang bertujuan untuk menghilangkan kontaminan-kontaminan yang terdapat pada dahak seperti bakteri gram positif, gram negatif, epitel, dan leukosit yang dapat mengganggu penemuan BTA secara mikroskopis. Larutan NaOH dan KOH dengan perbedaan konsentrasi yaitu 3%, 4%, 5%. Masing-masing konsentrasi kedua larutan tersebut dimasukkan pada tabung yang telah berisi spesimen sputum dengan perbandingan 1:1 yaitu 100 µL spesimen dan 100 µL. Setelah larutan dan spesimen homogen kemudian diputar pada sentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit. Sentrifuge bertujuan untuk mengendapkan BTA dengan larutan NaOH dan KOH sehingga terkumpul pada dasar tabung yang disebut sedimen.

Pemeriksaan bakteri tahan asam merupakan pemeriksaan skrining diagnosis penyakit tuberkulosis, dengan pewarnaan *Ziehl-Nelsen* BTA dapat dilihat di mikroskop sebagai kuman yang berwarna merah dengan latar belakang biru, kuman BTA berbentuk batang ramping, dapat terlihat tersendiri, berbentuk V atau berkelompok penderita yang sampelnya melalui pemeriksaan mikroskopis positif dihubungkan dengan banyaknya kuman di sputum dan dengan tingkat penularannya³.

Data statistik terhadap jumlah bakteri tahan asam (BTA) menggunakan uji *Kruskal Wallis* diketahui bahwa nilai signifikansi $p=0,981$ yang artinya nilai signifikansi lebih besar dari $\alpha (p>0,05)$, oleh karena itu H_0 diterima yang artinya tidak ada efektifitas penambahan larutan NaOH dan KOH terhadap jumlah bakteri tahan asam pada sputum penderita paru. Hal ini disebabkan karena beberapa faktor diantaranya jumlah volume spesimen kurang dari 1 mL. Untuk mendapatkan BTA pada pemeriksaan mikroskopis diperlukan jumlahnya paling sedikit 5.000 kuman dalam satu mill-liter dahak. Dahak yang baik untuk diperiksa adalah dahak kental dan purulen (*mucopurulent*) berwarna hijau kekuning-kuningan, dengan volume 3 - 5 mL tiap pengambilan². Sedangkan pada penelitian yang telah dilakukan hanya menggunakan sampel sebanyak 100 mikro liter, sehingga kemungkinan BTA yang ditemukan hanya sedikit. Hasil pemeriksaan secara mikroskopis pada sediaan yang tanpa menambahkan larutan (NaOH dan KOH) jumlah BTA lebih banyak daripada sediaan yang telah

ditambahkan larutan NaOH dan KOH. Namun, pada lebih bersih daripada sediaan tanpa penambahan larutan tersebut.

Dari data hasil tersebut, jika dibandingkan larutan NaOH dan KOH dalam jumlah penemuan BTA secara jelas lebih efektif dengan penambahan larutan NaOH. NaOH akan mencairkan sputum yang mukoid dan menghancurkan organisme kontaminan. Karena NaOH juga bersifat toksik terhadap mikobakteria, maka basil tuberkulosis tidak boleh terpapar lebih dari 30 menit termasuk waktu sentrifugasi karena akan membunuh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* itu sendiri⁸.

Senyawa lain yang memiliki sifat sama dengan natrium hidroksida adalah kalium hidroksida. Kalium hidroksida dengan rumus molekul KOH merupakan senyawa alkali kuat dan memiliki tingkat kelarutan lebih tinggi daripada NaOH⁴. Sehingga pada preparat terlihat lebih bersih jika dibandingkan dengan larutan NaOH. Namun, dengan penambahan larutan KOH tidak dapat menghilangkan organisme jamur, karena larutan KOH digunakan untuk pewarnaan jamur.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan mengenai efektifitas penambahan larutan NaOH dan KOH pada penemuan BTA secara mikroskopis, dapat disimpulkan bahwa penambahan larutan NaOH dan KOH pada sputum TB paru tidak ditemukan secara efektif tentang jumlah BTA secara mikroskopis. Jumlah bakteri tahan asam pada sediaan yang tanpa dilakukan pengolahan sputum sebelum pewarnaan adalah sebanyak 217. Jumlah bakteri tahan asam pada spesimen sputum yang telah diberi penambahan larutan NaOH dengan konsentrasi 3%, 4%, dan 5% secara berurutan adalah 166, 168, dan 200. Jumlah bakteri tahan asam (BTA) yang telah diberi penambahan larutan KOH (3%, 4% dan 5%) sebelum pewarnaan adalah sebanyak 143, 137, dan 136. Hasil data uji kruskal wallis menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh ketika spesimen sputum ditambahkan larutan NaOH dan KOH terhadap jumlah BTA.

Saran

Perlu dilakukan penelitian selanjutnya untuk menganalisis pengaruh lamanya paparan larutan dekontaminasi terhadap bakteri tahan asam (BTA). Bagi peneliti selanjutnya untuk memperhatikan volume sputum sehingga didapatkan hasil yang valid.

DAFTAR PUSTAKA

1. Chen P, Shi M, Feng G-D, Liu J-Y, Wang B-J, Shi X-D. A highly efficient Ziehl-Neelsen stain: identifying de novo intracellular *Mycobacterium tuberculosis* and improving detection of extracellular *M. tuberculosis* in cerebrospinal fluid. 2012. Diakses pada 06 Februari 2019. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22238448>.
2. Departemen Kesehatan RI. Pedoman Nasional penanggulangan Tuberkulosis. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. 2002.
3. Departemen Kesehatan RI. Pedoman Nasional Penanggulangan Tuberkulosis. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. 2005.
4. Handarini S, dan Pakpahan E. Perbandingan Penggunaan KOH Dan NaOH Dalam Deproteinase Sampel Sputum Untuk Isolasi DNA *Mycobacterium Tuberculosis*. Jurnal Kesehatan Rajawali. 2012; Vol: 4.
5. Ja wets, Melnick dan Adelberg. Mikrobiologi Kedokteran. Edisi 25. Jakarta: Buku Kedokteran EGC; 2012
6. Kementerian Kesehatan RI. Infodatin. Jakarta: Kemenkes RI. 2018; ISSN 2442-7659.
7. Siregar S, Supriatin Y dan Noor L. Efektivitas Variasi Garam Salmiak (NH₄Cl) Dan Sentrifugasi Pada Pemeriksaan Basil Tahan Asam Penderita Tuberculosis, Jurnal Teknologi Laboratorium. 2017; Vol. 6:2338–5634
8. Vandepitte J, Verhaegen J, Engbaek K, Rohner P. Basic Laboratory Procedures In Clinical Bacteriology. Edisi 2. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2003
9. Wahyuningsih E. Pola Klinik Tuberculosis Paru di RSUP Dr. Karia di Semarang Periode Juli 2012- Agustus 2013. Undergraduate thesis, Faculty of Medicine Diponegoro University. 2014