

Pewarna Kain (*Napthol*) Berwarna Merah sebagai Alternatif dari *Carbol Fuchsin* Pewarnaan Bakteri Tahan Asam Metode *Ziehl Neelsen*

Richa Nurafifah Irdhianti¹, Yeni Rahmawati², Sri Martuti³
^{1,2,3} Teknologi Laboratorium Medis, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta
e-mail: Richanurafifah@gmail.com

Abstrak

Bakteri adalah mikroorganisme bersel tunggal yang hanya dapat diamati dengan mikroskop setelah diberi pewarnaan khusus. Teknik pewarnaan seperti metode *Ziehl-Neelsen* penting untuk mengamati bakteri tahan asam (BTA), karena metode ini cepat, mudah, dan akurat. Metode : yang digunakan pada penelitian ini eksperimental, penelitian ini dilakukan di RSUD Wates Hasil : hasil dari penelitian ini dengan jumlah 24 preparat dengan 6 pengulangan didapatkan jumlah skor Hasil skor penilaian pewarnaan menunjukkan hasil pada carbol fuchin 150, pada naphthol 1 gram terdapat hasil 90 dan naphthol 2 gram terdapat hasil 150. Hasil skor penilaian kebersihan didapatkan hasil pada Carbol Fuchin 150, naphthol 1 gram 30 dan hasil pada naphthol 2 gram terdapat hasil 30. Hasil dari persentase efektivitas pada data skor penilaian kebersihan pewarna naphthol 1 gram terdapat hasil 60% dan pada pewarna naphthol 2 gram terdapat nilai persentase 100 %. Hasil penelitian ini dari penilaian pewarnaan pada carbol fuchin dan naphthol 2 gram ternilai efektif dan pada penilaian kebersihan naphthol masih adanya endapan dan kristal, naphthol 1 gram pada penilaian pewarnaan ternilai tidak efektif pada penilaian kebersihan pun masih terlihat endapan dan kristal. Simpulan : Pewarna kain (*Napthol*) berwarna merah berpotensi sebagai alternatif *Carbol Fuchin* tetapi belum bisa menjadi alternatif *Carbol Fuchin*. Pewarna kain (*Napthol*) berwarna merah memiliki tingkat warna merah yang cukup kuat.

Kata kunci: *Napthol, Carbol Fuchsin, Bakteri Tahan Asam.*

Abstract

Bacteria are single-celled microorganisms that can only be observed with a microscope after being given special staining. Staining techniques such as the Ziehl-Neelsen method, are important for observing acid-fast bacteria (AFB), because this method is fast, easy, and accurate. Method: used in this study is experimental, this study was conducted at Wates Regional Hospital Results: the results of this study with a total of 24 preparations with 6 repetitions obtained the number of scores The results of the staining assessment score showed the results on carbol fuchin 150, on 1 gram naphthol there were results of 90 and naphthol 2 grams there were results of 150. The results of the cleanliness assessment score obtained the results on Carbol Fuchin 150, naphthol 1 gram 30 and the results on naphthol 2 grams there were results of 30. The results of the percentage of effectiveness in the cleanliness assessment score data for 1 gram naphthol dye had a result of 60% and on 2 grams naphthol dye there was a percentage value of 100%. The results of this study from the assessment of coloring on carbol fuchin and naphthol 2 grams are considered effective and in the assessment of naphthol cleanliness there are still deposits and crystals, naphthol 1 gram in the assessment of coloring is considered ineffective in the assessment of cleanliness still visible deposits and crystals. Conclusion: Red fabric dye (Naphthol) has the potential as an alternative to Carbol Fuchin but cannot yet be an alternative to Carbol Fuchin. Red fabric dye (Naphthol) has a fairly strong red color level.

Keywords: *Napthol, Carbol Fuchsin, Acid-Fast Bacteria.*

PENDAHULUAN

Bakteri adalah mikroorganisme bersel tunggal yang hanya dapat diamati dengan mikroskop setelah diberi pewarnaan khusus (Engelkirk, Duben-Engelkirk, & Fader, 2020; Anisah & Rahayu,

2015). Teknik pewarnaan, seperti metode *Ziehl-Neelsen* penting untuk mengamati bakteri tahan asam (BTA), karena metode ini cepat, mudah, dan akurat (Suryawati et al, 2018). Pewarnaan dengan metode *Ziehl-Neelsen* menggunakan pewarna *carbol fuchsin*, *carbol fuchsin* ini digunakan sebagai pewarna utama. Proses ini melibatkan pemanasan untuk membantu penyerapan zat warna oleh bakteri, namun *carbol fuchsin* memiliki harga yang tinggi dan bersifat toxic yang menjadi kendala (Riska Maulida, 2023). Alternatif yang lebih ekonomis dan aman diperlukan. Pewarna *naphthol* yang biasanya digunakan untuk kain, berpotensi menjadi pengganti *carbol fuchsin*. Pewarna ini berwarna merah, tajam, cerah, dan lebih terjangkau serta mudah didapat (G.F. Marintika & E. Melwita, 2021). Penelitian bertujuan mengevaluasi efektivitas pewarna *naphthol* sebagai alternatif pengganti *carbol fuchsin* dalam pewarnaan bakteri tahan asam.

METODE

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan desain Intact-Group Comparison untuk mengevaluasi pewarnaan BTA menggunakan metode *Ziehl-Neelsen* (Dhifo Indratama, 2019). Pewarna *carbol fuchsin* akan digantikan dengan pewarna kain *naphthol* berwarna merah. Penelitian dilakukan di Laboratorium Rumah Sakit Umum Daerah Wates dari Januari hingga Maret 2024. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pewarna kain (*Naphthol*) dan *Carbol fuchsin* untuk variabel terikat pada penelitian ini pewarnaan bakteri tahan asam metode *Ziehl neelsen*. Pengulangan sampel dihitung menggunakan rumus rederer sebagai berikut:

$$\begin{aligned}
 (n - 1) (r - 1) &\geq 15 \\
 (4 - 1) (r - 1) &\geq 15 \\
 (3) (r - 1) &\geq 15 \\
 (3r - 3) &\geq 15 \\
 3r &\geq 15 + 3 \\
 3r &\geq 18 \\
 r &\geq 18 \div 3 \\
 &= 6
 \end{aligned}$$

Keterangan pada rumus berikut yaitu n adalah sebagai kontrol atau perlakuan dan r sebagai pengulangan dan yang di cari di sini adalah pengulangan, pengulangan telah di temukan pada rumus tersebut dengan hasil 6 pengulangan dalam 4 perlakuan, total preparat yang harus dibuat adalah 24 preparat. (Dhifo Indratama, 2019). Penilaian sediaan BTA dinilai sebagai berikut :

Tabel 1. Penilaian skoring sediaan BTA

No.	Parameter	Kinerja Petugas	Dampak Terhadap Hasil	Skoring	Penilaian
1	Ukuran	2	5	10	a. 2X3 cm (nilai 2) b. </> 2X3 cm (nilai 1)
2	Kerataan	5	5	25	a. Kerataan ≥80% (nilai 5) b. Kerataan 60-80 (nilai3) Kerataan <60% (nilai 2)
3	Ketebalan	3	5	15	a. Ketebalan baik (nilai 3) Terlalu tebal tipis (nilai 1)
4	Pewarnaan	5	5	25	a. Pewarnaan baik (nilai 5) b. Kontras warna kurang jelas (nilai 3) Warna latar merah (nilai 1)
5	Kebersihan	3	5	15	a. Tidak terdapat sisa zat warna / kristal (nilai 3) Terdapat sisa zat warna / kristal (nilai 1)
6	Kualitas	2	5	10	a. Sputum diambil yang prulen dan

dahak	bukan saliva (nilai 2) b. Sampel diambil berupa saliva walupun didalam pot terdapat sputum yang prulen (nilai 1)
Jumlah 100	

Sumber : kemenkes, 2022

Hasil dari penilaian skoring BTA di atas, lalu dilihat presentase efektifitasnya menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\text{Persentase Efektivitas} = \frac{\text{Jumlah skor Naphthol}}{\text{Jumlah skor carbol fuchin}} \times 100\%$$

Hasil yang di peroleh dari presentase efektifitas warna dapat di bandingkan dengan kriteria tingkat efektifitas sebagai berikut.

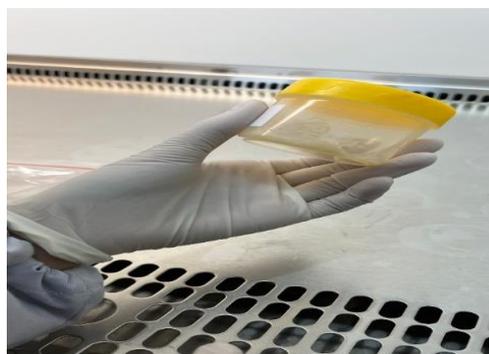
Tabel 2 Kriteria Efektivitas

Presentase	Kriteria
>100%	Sangat Efektif
91 – 100%	Efektif
81 – 90%	Cukup Efektif
61 – 80%	Kurang Efektif
≤60%	Tidak Efektif

(Nitha Ervina Makaminang *ett all*,2022).

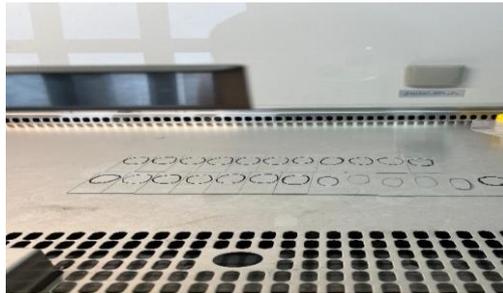
HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian dengan judul “ Pewarna Kain (Naphthol) Berwarna Merah Sebagai Alternatif Dari Carbol Fuchin Pewarnaan Bakteri Tahan Asam Metode *Ziehl Neelsen*” dengan sampel seputum telah di laksanakan di Laboratorium Bakteriologi RSUD Wates pada bulan juli 2024. Penelitian ini menggunakan bahan alternatif dari pewarna kain *Naphthol* berwarna merah yang berbentuk serbuk dan di larutkan menggunakan air panas dengan suhu 42 drajat, larutan pewarna kain *Naphthol* tersebut sebagai pewarna pengganti carbol fuchin metode *Ziehl Neelsen*. Pewarnaan BTA (Bakteri Tahan Asam) dengan 1 sampel sputum positif Tuberculosis, dengan menggunakan 24 preparat untuk pewarnaan menggunakan metode *Ziehl Neelsen* menggunakan *carbol fuchin* dan menggunakan pewarna alternatif *Naphthol*. Berikut adalah dokumentasi dengan lokasi di RSUD Wates



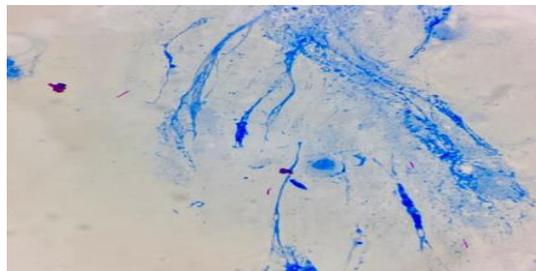
Gambar 1 Sampel Sputum
 (Dokumen Pribadi, 2024)

Gambar 1 menunjukkan bahwa sampel yang di gunakan adalah sampel yang prulen terlihat dari tekstur sputum yang kental dan lengket, warna pada sputum kuning kehijauan, sputum yang sedikit bercampur darah dan sputum yang terlihat kental.



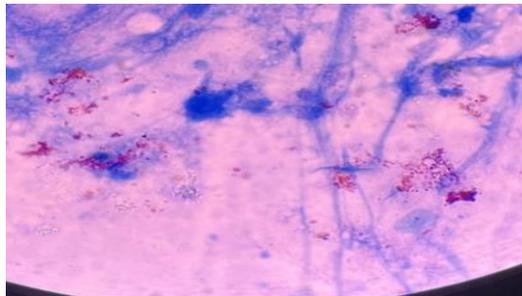
Gambar 2 Preparat Pewarna BTA
(Dokumen Pribadi, 2024)

Preparat yang di gunakan berjumlah 24 preparat dengan ukuran sediaan 2 X 3 cm, lebar sediaan 3 cm dan tinggi sediaan 2 cm. Sputum di oleskan merata dan tidak terlalu tipis.

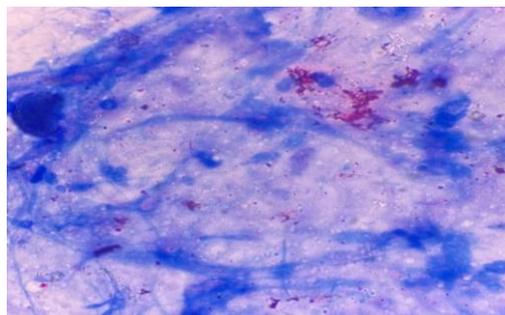


Gambar 3 Pewarna Carbol Fuchin
(Dokumen Pribadi, 2024)

Gambar yang menggunakan pewarna *Carbol Fuchin* pada mikroskop dengan perbesaran 100X terdapat bakteri berbentuk basil atau panjang dan berwarna merah terlihat jelas dengan warna merah sempurna.



Gambar 4 Pewarna metode Ziehl Neelsen menggunakan pewarna alternatif Napthol 1 gram
(Dokumen Pribadi, 2024)



Gambar 5 Pewarna metode Ziehl Neelsen menggunakan pewarna alternatif Napthol 2 gram
(Dokumen Pribadi, 2024)

Gambar 4 dan 5 dengan pewarnaan menggunakan metode *Ziehl Neelsen* dengan pengganti *Carbol Fuchin* yaitu menggunakan pewarna kain *Napthol* berwarna merah di lihat di bawah mikroskop dengan perbesaran 100 X. Terlihat bakteri basil berwarna merah dengan warna bakteri tidak sempurna atau pudar dibandingkan dengan menggunakan *Carbol Fuchin*.

Hasil penelitian selanjutnya yaitu jumlah skoring dari satu sampel yaitu sampel sputum. Jumlah data sebanyak 24 preparat dengan pewarnaan menggunakan metode *Ziehl Neelsen*, 6 untuk kontrol positif, 6 preparat untuk 1 gram *napthol* dan 6 preparat untuk 2 gram *napthol*. Data hasil skor penelitian ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3 Data Skor Pewarnaan pada Preparat BTA dengan zat warna *Napthol* dengan zat warna *Carbol Fuchin*

No	Carbol Fuchin	Napthol 1 gram	Napthol 2 gram
1	25	15	25
2	25	15	25
3	25	15	25
4	25	15	25
5	25	15	25
6	25	15	25
Jumlah	150	90	150

(Data Primer, 2024)

Keterangan : Hasil menunjukkan bahwa dari 24 sediaan dengan 6 pengulangan didapatkan hasil skor kriteria yaitu dari pewarnaan *carbol fuchsin* (kontrol positif) didapatkan 150 point, sedangkan konsentrasi *napthol* 1 gram didapatkan 90 point dan konsentrasi *napthol* 2 gram di dapatkan 150 point. Data hasil skor kriteria kemudian dihitung presentase dan tingkat keefektifitasannya yang dilakukan dengan rumus di lihat dari penilaian kualitas sediaan menurut parameter pewarnaan.

$$\text{Persentase Efektivitas} = \frac{\text{Jumlah skor Napthol}}{\text{Jumlah skor carbol fuchin}} \times 100\%$$

Tabel 4 Data Skor Penilaian Kebersihan pada Preparat BTA dengan zat warna *Napthol* dengan zat warna *Carbol Fuchin*

No	Carbol Fuchin	Napthol 1 gram	Napthol 2 gram
1	25	5	5
2	25	5	5
3	25	5	5
4	25	5	5
5	25	5	5
6	25	5	5
Jumlah	150	30	30

(Data Primer, 2024)

Keterangan : Hasil menunjukkan bahwa dari 24 sediaan dengan 6 pengulangan didapatkan hasil skor kriteria yaitu dari pewarnaan *carbol fuchin* didapatkan 150 point, sedangkan konsentrasi *napthol* 1 gram didapatkan 30 point dan konsentrasi *napthol* 2 gram di dapatkan 30 point. Data hasil skor kriteria di lihat dari penilaian kualitas sediaan menurut parameter kebersihan.

$$\text{Persentase Efektivitas} = \frac{\text{Jumlah skor Napthol}}{\text{Jumlah skor carbol fuchin}} \times 100\%$$

Data Skor Penilaian Pewarnaan

- a. Pewarnaan *naphthol* 1 gram
90: $150 \times 100 \% = 60\%$
- b. Pewarna *naphthol* 2 gram
150: $150 \times 100\% = 100\%$

Data Skor Penilaian Kebersihan

- a. Pewarna *naphthol* 1 gram
30: $150 \times 100 \% = 20 \%$
- b. Pewarna *naphthol* 2 gram
30: $150 \times 100 \% = 20\%$

Hasil dari presentase evektifitas pada data skor penilaian kebersihan pewarna naphthol 1 gram terdapat hasil 20% dan pada pewarna *naphthol* 2 gram terdapat nilai persentase 20 % untuk hasil presentase evektifitas pewarnaan pada pewarna kain *naphthol* 1 gram yaitu 60% dan *naphthol* 2 gram terdapat hasil 100 %. Hasil pewarnaan BTA menunjukkan bahwa belum bisa dikatakan efektif dikarenakan dalam pembacaan di bawah mikroskop latarnya masih terlihat kotor. Pewarnaan BTA juga memiliki prinsip yang harus kita ketahui agar pada saat proses pembuatan lebih berhati – hati.

Prinsip pada pewarnaan BTA adalah *Mycobacterium sp* memiliki dinding sel yang tebal mengandung wax dari lipid dan asam mikolat yang menyebabkan bakteri ini sulit ditembus oleh pengecatan biasa. Zat warna yang biasa di pakai untuk pewarnaan BTA yaitu menggunakan metode *Ziehl Neelsen*, pewarna *Carbol Fuchsin* merupakan pewarna pertama pada penggunaan ZN, *Carbol Fuchsin* berwarna merah dan memiliki sifat basa zat warna *Carbol Fuchsin* ini di larutkan oleh fenol, fenol di gunakan sebagai pelarut untuk membantu memasukan zat warna dalam bakteri sewaktu proses pemanasan, maka dari itu *Carbol Fuchsin* dapat menembus dinding sel yang tebal dan menghasilkan warna merah pada bakteri tahan asam. (Amelia et al., 2019)

Penelitian ini menggunakan pewarna *Carbol Fuchsin* sebagai kontrol positif dari BTA pewarnaan menggunakan metode *Ziehl Neelsen*, pada hasil yang didapatkan di bawah mikroskop menggunakan perbesaran 100x terdapat bakteri berbentuk basil atau batang berwarna merah pekat dan latar belakang dengan warna biru keunguan tidak ada zat warna atau endapan yang tersisa. *Naphthol* menjadi pewarna alternatif *Carbol Fuchsin* yang diteliti pada penelitian ini.

Zat warna naphthol merupakan zat warna yang digunakan sebagai pewarna kain batik, zat warna naphthol juga merupakan gabungan dari senyawa naftolat dan garam pembangkit diazonium (zat pengikat) yaitu berupa OH-, dan zat warna *naphthol* ini mempunyai senyawa berwarna yaitu senyawa ozo. Senyawa ozo ini merupakan senyawa organik dengan rumus yaitu $ArN=NAr1$ dan merupakan gugus ozo, olehkarena itu senyawa ozo ini banyak di gunakan sebagai pewarna. Senyawa azo akan berikatan dengan dinding sel bakteri yang memiliki muatan negatif, olehkarena itu dinding sel bakteri bisa terwarnai oleh zat warna kain *Naphthol*.

SIMPULAN

Pewarna kain (*Naphthol*) berwarna merah berpotensi sebagai alternatif *Carbol Fuchsin* tetapi belum bisa menjadi alternatif *Carbol Fuchsin*. Pewarna kain (*Naphthol*) berwarna merah memiliki tingkat warna merah yang cukup kuat.

DAFTAR PUSTAKA

- Anisah and Rahayu, T. (2015) 'Media Alternatif untuk Pertumbuhan Bakteri Menggunakan Sumber Karbohidrat yang Berbeda', Seminar Nasional XII Pendidikan Biologi FKIP UNS, pp. 855–860.
- Paul G. Engelkirk, Janet Duben-Engelkirk, dan Robert C. Fader. (2020). *Burton's Microbiology for the Health Sciences, Enhanced Edition*"
- Virgianti, D. P., Luciana, C. 2017. Penggunaan Ekstrak Kombinasi Angkak Dan Daun Jati Sebagai Pewarna Penutup Pada Pewarnaan Gram. *Bakti Tunas Husada*, 17(1).
- Suryawati B, Saptawati L, Aphridasari J(2018) 'Sensitivitas Metode Pemeriksaan Mikroskopis Fluorokrom dan Ziehl-Neelsen untuk Deteksi *Mycobacterium tuberculosis* pada Sputum' 2621-0916.

- Maulida A, Harlita T, Makkadafi S(2023). Pengaruh Variasi Waktu Pendinginan Carbol Fuchin Terhadap Hasil Pemeriksaan Mikroskopis Basil Tahan Asam (BTA).
- Amelia R, Hadijah S, Nasir M *Jurnal Media Analisis Kesehatan* (2019) 10(2) 126 Insert citation
- Bantuan Velma.(2014).Gambaran Basil Tahan Asam (BTA) Positif Pada Penderita Diagnosa Klinis Tuberkulosis Paru.Jurnal e-Biomedik (eBM).
- Holderman M, de Queljoe E, Rondonuwu S,(2017) tudy Biologi Manado P, Universitas Sam Ratulangi Manado F.
- Dewi Kristini T, Hamidah R. Potensi Penularan Tuberculosis Paru pada Anggota Keluarga Penderita. 2020;15(1):24–7. Available from: <https://jurnal.unimus.ac.id/index.php/jkmi>,
- Jiwintarum, Yunan, Rohmi & Prayuda I. 2016. “Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*) sebagai pewarna alami untuk pewarnaan bakteri”. *Jurnal Kesehatan Prima* 10 (2): 2460-8661.
- kedokteran 2018 / Betty Suryawati, dkk Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan K, Litbang Kesehatan B, Kesehatan K3(1) 2020.
- Kartikasari W, Nugraha Putra O,(2021) Kolerasi Antara Konversi BTA Pada Fase Intensif Dan Lanjutan Pada Pasien TB Paru Kategori 1:2579-4558.
- Kemenkes RI. (2022). Profil Kesehatan Indonesia 2021. In Pusdatin.Kemenkes.Go.Id.
- Amelia R, Hadijah S, Nasir M *Jurnal Media Analisis Kesehatan* (2019) 10(2) 126
- Pramod D Synthesis of azo dye by coupling of diazonium salt with α -naphthol, β -naphthol . (10) 66-71.Website: www.biotechjournal.in.