

## Pertumbuhan Koloni *Mycobacterium tuberculosis* Pada Agar Darah dengan Penambahan Air Kelapa (*Cocos nucifera. L*) Dan Media *Lowenstein Jensen*

M. Nuraeni<sup>1</sup>, R. Sebayang<sup>2</sup>

Dosen Jurusan D.IV. Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan  
Universitas Katolik Musi Charitas Palembang  
Email: yuventia@ukmc.ac.id

**ABSTRAK:** Tuberkulosis masih menjadi masalah kesehatan di Indonesia. Diagnosis laboratorium merupakan tahapan yang penting agar penderita segera mendapatkan pengobatan. *Gold standard* untuk menegakkan diagnosis dengan pemeriksaan kultur. Kultur *Mycobacterium tuberculosis* relatif mahal dan membutuhkan waktu yang lama, maka diupayakan tersedia media kultur yang relatif lebih murah dan waktu pertumbuhan yang lebih cepat. Base agar darah merupakan media yang memungkinkan pertumbuhan sebagian besar organisme. Dengan penambahan air kelapa pada base agar darah mendukung pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui waktu dan kesuburan pertumbuhan koloni *Mycobacterium tuberculosis* pada base darah yang ditambahkan air kelapa konsentrasi 100%, dibandingkan dengan *Lowenstein Jensen*. Hasil penelitian menunjukkan pertumbuhan koloni *Mycobacterium tuberculosis* pada base agar darah dan media *Lowenstein Jensen* tampak pada hari ke 14. Data dianalisis menggunakan uji wilcoxon, hasil uji menunjukkan terdapat perbedaan jumlah koloni *Mycobacterium tuberculosis* pada base darah dan *Lowenstein Jensen*, dengan nilai probabilitas sig (*2-tailed*) yaitu  $0,000 < 0.025$ .

**Kata Kunci :** *Mycobacterium tuberculosis* pada base agar darah

**ABSTRACT:** Tuberculosis is still being a health problem in Indonesian. Laboratory diagnosis is an important step for the patients to get treatment immediately. *Gold standard* for diagnosing with culture examination. *Mycobacterium tuberculosis* culture is relatively expensive and requires a long time of growth, so culture media is available which is relatively cheaper and faster growth time. Blood agar base is a medium that allows the growth of most organisms. By adding coconut water to the blood agar base so that it can support the growth of *Mycobacterium tuberculosis*. This study aims to determine the time and fertility of the growth of *Mycobacterium tuberculosis* colonies on a blood agar base which was added with coconut water with 100 % concentration then compared with *Lowenstein Jansen*. The results showed that growth of *Mycobacterium tuberculosis* colonies on blood agar and *Lowenstein Jensen* media were seen on the fourteenth day. The data were analyzed by using wilcoxon. The test result showed that there were differences of *Mycobacterium tuberculosis* colonies on blood agar base. and *Lowenstein Jensen* media with probability value of sig (*2-tailed*)  $0.000 < 0.025$ .

**Keywords:** *Mycobacterium tuberculosis* on blood agar base

Tuberkulosis paru merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* dan dapat ditularkan melalui saluran pernapasan. Saat ini Tuberkulosis Paru masih menjadi masalah kesehatan dunia yang belum terselesaikan. Tahun 2010 Indonesia menempati peringkat ke 5 dalam kasus penderita Tuberkulosis di dunia. Data Din.Kes Kota Palembang tahun 2014, penderita TB Paru selama kurun waktu lima tahun dari tahun 2010 sampai dengan 2014 berturut-turut adalah 1037, 2109, 1329, 1097 dan 1314. terjadi peningkatan

pada tahun 2011 dan 2012. Pada tahun 2013 menurun, namun terjadi peningkatan lagi pada tahun 2014.

Berbagai upaya dilakukan agar penderita segera mendapat pengobatan. Pemeriksaan *gold standard* untuk diagnosis tuberkulosis dengan pemeriksaan kultur. Media kultur *Mycobacterium tuberculosis* relatif mahal. Beberapa media yang relatif lebih murah dan banyak digunakan di laboratorium adalah base agar darah. Media ini dibuat dengan menambahkan 5% darah domba untuk isolasi

bakteri dan melihat aktivitas hemolitik bakteri *Streptococcus* (Zimbro, 2009).

Sifat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* lambat yaitu 2-6 minggu atau lebih. Media artifisial untuk isolasi megandung telur dan garam-garam. Media biakan untuk *Mycobacterium tuberculosis* yang banyak digunakan adalah *Kudoh*, *Lowenstein-jenses* dan *Ogawa* (Sinaga, 2011).

Bahan-bahan alami yang mudah didapatkan dan memiliki potensi sebagai bahan dasar media adalah air kelapa. Molnár, et al., (2011) menjelaskan bahwa air kelapa dan santan, dapat digunakan sebagai media kultur, karena mengandung asam amino, asam organik, asam nukleat, beberapa vitamin, gula dan alkohol gula, hormon tanaman serta mineral. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa air kelapa dapat digunakan sebagai media pertumbuhan bakteri. Putri, dkk., (2011) melakukan penelitian dengan menambahkan air kelapa pada media dengan konsentrasi 3%, 4% dan 5% untuk menumbuhkan mikroalga *Tetraselmis sp.*

Penelitian lain yang dilakukan oleh Yolanda dan Mulyana (2011) terbukti, air kelapa konsentrasi 100 % yang ditambahkan pada media Mac Congkey dapat menumbuhkan bakteri *E.coli* dan *Klebsiella pneumonia*. Berdasarkan penelitian terdahulu, dalam penelitian ini ingin diketahui jumlah koloni *Mycobacterium tuberculosis* pada base agar darah yang ditambahkan air kelapa dengan konsentrasi 100% dan diinkubasi pada suhu 37 °C, dibandingkan dengan pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* pada media *Lowenstein Jensen*. Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah sebagai informasi ilmiah bagi petugas laboratorium tentang pemanfaatan air kelapa sebagai media alternatif untuk pertumbuhan bakteri *Mycobacterium tuberculosis*.

## METODE

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimen laboratorium, penelitian dilakukan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Palembang, pada bulan Maret s/d Mei 2018. Sampel penelitian adalah air kelapa *Cocos nucifera L*, yang digunakan sebagai pelarut media agar darah untuk kultur bakteri *Mycobacterium tuberculosis*.

Pembuatan media LJ berdasarkan Buku Petunjuk Teknis Pemeriksaan Biakan, Identifikasi Dan Uji Kepekaan *Mycobacterium tuberculosis* pada Media padat Men.Kes.RI, (2012 ), dengan cara: menimbang medium dasar

LJ sebanyak 18,65 gram, dilarutkan ke dalam 300 ml aquadest, kemudian ditambahkan 6 ml glycerol dan 10 ml larutan malachite green 2%. Larutan disterilkan menggunakan *autoclaved* pada suhu 121 °C selama 30 menit dan dinginkan, selanjutnya ditambahkan telur yang telah dihomogenkan sebanyak 500 ml. Media dimasukkan ke dalam tabung bertutup alur sebanyak 6-8 ml, kemudian dipanaskan pada suhu 85°C selama 50 menit.

Pembuatan Media base agar darah dengan penambahan air kelapa konsentrasi 100% dengan cara : 4 gram media base agar darah dan 1,25 ml gliserol, dimasukkan ke dalam 20 ml aquades lalu dihomogenkan. Selanjutnya ditambahkan 3,0 *malachite green*. 2 %, disterilisasi dengan autoclave selama 15 menit pada suhu 121 °C, dinginkan sampai mendekati suhu ± 50 °C. Ditambahkan 100 ml air kelapa secara aseptik ke dalam *conical flask* steril, berikutnya ditambahkan 7 ml darah domba ke dalam larutan, dan dihomogenkan, kemudian dituangkan ke dalam botol anulir sebanyak 6-8 ml.

Untuk mengetahui pertumbuhan koloni *Micobakterium tuberculosis*, digunakan strain murni *Micobakterium tuberculosis* H37RV, yang dibiakkan pada media *Lowenstein Jensen* dan base agar darah yang ditambahkan air kelapa konsentrasi 100% dan diinkubasi pada 37 °C, selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap pertumbuhan koloni bakteri untuk melihat apakah ada pertumbuhan pada hari ke dua, tujuh dan empatbelas.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian diketahui ada pertumbuhan koloni *Mycobacterium tuberculosis* pada base agar darah dan *Lowenstein Jensen* dengan suhu inkubasi 37 °C terjadi pada hari ke 14.

Adanya pertumbuhan koloni *Mycobacterium tuberculosis* pada base agar darah menunjukkan bahwa media ini mengandung unsur yang dibutuhkan bakteri untuk pertumbuhan. Sumber nutrisi pada base agar darah, selain air kelapa, juga nutrient substrat, sodium chloride yang terdapat pada media agar.

Menurut Munawaroh et al, (2015), air kelapa mengandung protein, lemak dan kaya akan karbohidrat sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhan bakteri. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Yolanda dan Mulyana, (2011), menggunakan limbah air kelapa tua sebagai

bahan dasar media isolasi, yang dikomposisikan menyerupai agar Mac Conkey dan lempeng agar darah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa air kelapa tua dapat dipakai sebagai bahan dasar media isolasi bakteri *Enterobacteriaceae* dan kokus gram positif.

Molnár *et al.*, (2011) menjelaskan bahwa air kelapa dan santan, dapat digunakan sebagai kultur jaringan. Air kelapa memiliki kombinasi senyawa yang lebih kompleks dibandingkan santan, yaitu mengandung sejumlah asam amino, asam organik, asam nukleat, beberapa vitamin, gula, hormon tanaman, mineral, dan zat lainnya. Media yang ditambahkan air kelapa dapat menginduksi sel tumbuhan untuk membelah sehingga tumbuh dengan cepat, dengan demikian dapat digunakan sebagai media kultur.

Menurut Soedarto (2014), Pertumbuhan maksimal terjadi jika kondisi medium kultur optimal bagi kehidupan bakteri. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Yolanda dan Mulyana (2011), menggunakan MacConkey sebagai media standar untuk enterobacteriaceae. Pada media yang tidak mengandung air kelapa tua tidak dijumpai adanya pertumbuhan bakteri, sedangkan pada media air kelapa tua terdapat pertumbuhan hampir semua bakteri uji.

Pertumbuhan, koloni *Mycobacterium tuberculosis* pada base agar darah tampak pada hari ke 14 demikian juga pertumbuhan pada media *Lowenstein Jensen*. Karakteristik koloni *Mycobacterium tuberculosis* pada base agar darah koloni dengan ukuran kecil, kasar berwarna keabu-abuan dan berkilau dengan latar belakang merah, sedangkan pada media *Lowenstein Jensen* koloni kasar berwarna krem, dengan latar belakang hijau kebiruan.

Berdasarkan waktu pertumbuhan, hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian Munawaroh *et al.*, (2015) menggunakan media kultur *Lowenstein Jensen* dan Coco Blood Malachite green yang disebut dengan media CMB, dengan penambahan air kelapa muda. Pertumbuhan koloni *Mycobacterium tuberculosis* pada media CBM tercepat 2 hari dan terlama adalah 6 hari, sedangkan pada media *Lowenstein Jensen* pertumbuhan tercepat adalah 6 hari dan terlama 49 hari. Perbedaan hasil penelitian ini dapat disebabkan umur air kelapa yaitu kelapa muda dan kelapa tua.

Dalam penelitian ini, koloni *Mycobacterium tuberculosis* baru tumbuh pada hari ke 14, lambatnya pertumbuhan koloni disebabkan karena sifat pertumbuhan bakteri ini sangat lambat. Menurut Soedarto (2014), koloni *Mycobacterium tuberculosis* baru terbentuk pada 4-6 minggu sesudah inkubasi dengan suhu

inkubasi 37 °C, Sifat koloni pada media kultur adalah kering, keras, tidak mudah meleleh, permukaan koloni tidak teratur dan berwarna gelap.

Jumlah koloni yang tumbuh pada base agar darah dan *Lowenstein Jensen* berdasarkan uji statistik, terdapat perbedaan. Jumlah koloni *Mycobacterium tuberculosis* pada *Lowenstein Jensen* lebih banyak dibandingkan pada base agar darah. Derajat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* pada base agar darah berada dalam rentang 1+ dan 2+, sedangkan jumlah koloni pada media *Lowenstein Jensen* dalam rentang 2+ dan 3+.

Perbedaan kesuburan ini dapat disebabkan antara lain, kandungan unsur yang ada pada media. Komposisi pada *Lowenstein Jensen* dan base agar darah berbeda, adanya perbedaan komposisi pada kedua media mempengaruhi jumlah koloni yang tumbuh.

Untuk pertumbuhannya, *Mycobacterium tuberculosis*, membutuhkan banyak unsur nutrisi. Sinaga, (2011) menjelaskan, media artifisial untuk isolasi *Mycobacterium tuberculosis* mengandung bahan kompleks yaitu telur dan garam-garam. Medium *Lowenstein Jensen* merupakan medium berbasis telur, mengandung bahan penghambat kontaminan yang mengganggu pertumbuhan. Untuk pertumbuhan, bakteri membutuhkan unsur fisika yaitu suhu, PH, tekanan osmotik dan unsur kimiawi yaitu sumber C, N, S, P, O, mineral dan faktor pertumbuhan organik Harti, (2014).

Base agar darah yang digunakan dalam penelitian ini, terdiri dari air kelapa, agar, darah domba, malachite green dan gliserol sebagai sumber nutrisi, dengan komposisi yang lebih sederhana. Berdasarkan jumlah koloni, pertumbuhan pada media *Lowenstein Jensen* lebih subur, namun adanya pertumbuhan koloni *Mycobacterium tuberculosis* pada base agar darah dengan penambahan air kelapa menunjukkan media ini memiliki potensi sebagai media alternatif untuk *Mycobacterium tuberculosis*.

## SIMPULAN

*Mycobacterium tuberculosis* tumbuh pada media *Lowenstein Jensen* dan base agar darah yang ditambahkan air kelapa konsentrasi 100%, dengan waktu pertumbuhan yang sama yaitu 14 hari. Terdapat perbedaan jumlah koloni *Mycobacterium tuberculosis* yang tumbuh pada media *Lowenstein Jensen* dan pada base agar darah.

## SARAN

Untuk mengetahui apakah jenis kelapa berpengaruh terhadap pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis*, perlu dilakukan penelitian dengan membandingkan dengan jenis kelapa yang berbeda..

## DAFTAR PUSTAKA

- Dinas Kesehatan Kota Palembang. 2011. *Profil Kesehatan Kota Palembang*. [www.dep.kes.go.id](http://www.dep.kes.go.id) PROFIL\_KES\_PROVINSI\_2014/06\_Su\_matera\_Selatan\_2014.pdf
- Harti, A.S. 2014. *Mikrobiologi Kesehatan*. Yogyakarta: Andi.
- Men. Kes RI. 2012. *Petunjuk Teknis Pemeriksaan Biakan, Identifikasi, dan UjiKepekaan Mycobacterium tuberculosis pada Media Padat*. Jakarta: Men.Kes.
- Misnadiarly dan Djajaningrat H. 2014. *Mikrobiologi Untuk Klinik Dan Laboratorium*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Molnár, Z; Virág, E; and Ördög, V. 2011. Natural substances in tissue culture media of higher plants. *Acta Biologica Szegediensis* 55(1), 123-127. <http://www.sci.u-szeged.hu/ABS>
- Munawaroh, Hidayati dan Utami. 2015. Studi Komparasi Media Kultur Coco Blood Malachite Green (CBM) dengan Lowenstein Jensen (LJ) untuk Diagnosis Cepat, Spesifik, dan Sensitif pada Sputum Pasien Suspek Tuberkulosis. *Majalah Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya*. 2 (2). <http://majalahfk.ub.ac.id/index.php/mkfkub/article/view/56>
- Palange, P; Narang, R and Kandi, V. 2016. Evaluation of Culture Media for Isolation of Mycobacterium Species from Human Clinical Specimens. *Journal Curreus*.8(8), e757. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5045330/>
- Pollack, R; Findlay, L; Mondschein, W; and Modesto, R.R. 2016. *Praktik Laboratorium Mikrobiologi*, edisi ke 4. Indonesia: EGC.
- Radji M. 2016. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi Dan Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Sinaga H. 2011, *Isolasi dan Identifikasi Mycobacterium tuberculosis Untuk Petugas Laboratorium*. Palembang: Multi Sarana.
- Soedarto, 2015. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Sagung Seto.
- Yolanda, H dan Mulyana, Y. 2011. Uji Coba Penggunaan Limbah Air Kelpa Tua Sebagai Bahan Dasar Media Isolasi. *Majalah Kedokteran Bandung* 43(3):117-21. <http://journal.fk.unpad.ac.id/index.php/mkb/article/view/56>
- Zimbrow, M.J; Power D.A; Miller, SM;Wilson, G.E; Johnson, J.A; (2009). *Difco & BBL Manual of Microbiological Culture Media* : United States of America.