

KULTUR BIFASIK AGAR – DARAH SEBAGAI ALTERNATIF METODE CEPAT DAN SENSITIF UNTUK DETEKSI MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

Suliaty

Kesehatan Poltekkes Kemenkes Surabaya Jurusan Analis

Abstraction: Bifasik, Blood, Detect Mycobacterium Tuberculosis. Target of this research is to know culture benefit of bifasik agar-darah alternatively method quickly and sensitive to detect bacterium of TB, and analyse difference of sensitifitas detect Mycobacterium tuberculosis among culture of sputum TB paru suspek at media of bifasik media and agar-darah of Lowenstein-Jensen, and analyse difference of speed of Mycobacterium tuberculosis among culture of sputum TB paru suspek at media of bifasik media and agar-darah of Lowenstein-Jensen. this Type Research is analytic research of laboratory observasional, that is by comparing result of growth of bacterium of Mycobacterium tuberculosis among culture method of sputum at media of bifasik agar-darah with media of Lowenstein-Jensen. this Population Research in the form of Sputum TB paru suspek of patient paying a visit to Poli Paru RSUD Dr. Soetomo. Hasi Research indicate that there is difference of sensitivitas detect Mycobacterium tuberculosis at culture of sputum among media of bifasik and blood of Lowenstein-Jensen, There is difference having a meaning of the the duration speed of growth of Mycobacterium tuberculosis among culture of sampel sputum at media of bifasik agar-darah with media of Lowenstein-Jensen.

Abstrak: Bifasik Agar, Darah, Deteksi Mycobacterium Tuberculosis. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui manfaat kultur bifasik agar–darah sebagai alternatif metode cepat dan sensitif untuk deteksi bakteri TB, dan menganalisis perbedaan sensitifitas deteksi Mycobacterium tuberculosis antara kultur sputum suspek TB paru pada media bifasik agar–darah dan media Lowenstein–Jensen, dan menganalisis perbedaan kecepatan Mycobacterium tuberculosis antara kultur sputum suspek TB paru pada media bifasik agar–darah dan media Lowenstein–Jensen. Jenis penelitian ini adalah penelitian analitik observasional laboratorium, yaitu dengan membandingkan hasil pertumbuhan bakteri Mycobacterium tuberculosis antara metode kultur sputum pada media bifasik agar–darah dengan media Lowenstein–Jensen. Populasi penelitian ini berupa Sputum suspek TB paru dari pasien yang berkunjung ke Poli Paru RSUD Dr. Soetomo. Hasi penelitian menunjukkan bahwa ada perbedaan sensitivitas deteksi Mycobacterium tuberculosis pada kultur sputum antara media bifasik agar darah dan Lowenstein-Jensen, Ada perbedaan yang bermakna lamanya kecepatan pertumbuhan Mycobacterium tuberculosis antara kultur sampel sputum pada media bifasik agar-darah dengan media Lowenstein-Jensen.

Kata Kunci: Bifasik Agar, Darah, Deteksi Mycobacterium Tuberculosis

PENDAHULUAN

Penyakit tuberkulosis merupakan masalah kesehatan masyarakat. Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) prevalensi TB menduduki peringkat ke tiga setelah penyakit kardiovaskuler dan penyakit saluran pernafasan dan nomer satu dari semua golongan penyakit infeksi. (Depkes RI, 2002). Menurut data WHO, jumlah penderita penyakit TB menempati urutan ke tiga. Pada tahun 2000, dalam urutan insiden kasus baru TB dari ke tiga negara ini yaitu di India, di Cina, dan di Indonesia. Selain terjadipeningkatan prevalensi, diperberat dengan masalah peningkatan prevalensi infeksi HIV AIDS. Adanya peningkatan insiden TB koinfeksi HIV dapat meningkatkan kesulitan pengobatan. Demikian pula dengan masalah dalam peningkatan resistensi obat antituberkulosis (OAT). Peningkatan insiden TB, TB koinfeksi HIV, maupun TB resisten OAT, yang dapat mengakibatkan terjadinya resiko penularan, dan juga menjadi kendala pengendalian TB (Kim SJ, 1998). DOTS merupakan program strategi penanggulangan TB yang dapat dilaksanakan dalam salah satu komponen utama adalah menegakkan diagnosa TB berdasarkan ditemukan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dalam sputum suspek TB (Depkes RI, 2002). Diagnosa Tuberkulosis (TB) ditegakkan berdasarkan pemeriksaan sputum secara mikroskopis langsung dengan metode sputum tiga kali, sewaktu, pagi, sewaktu (SPS). Pada kasus kronik atau gagal pengobatan yang dilakukan adalah dengan metode diagnosis konfirmatif TB melalui pemeriksaan kultur. Metode kultur standar untuk diagnosis TB, selain berguna untuk diagnosis konfirmatif atau definitif juga berperan penting pada uji kepekaan *Mycobacterium*

tuberculosis terhadap anti tuberkulosis (OAT). Memiliki keuntungan pada monitoring maupun deteksi kasus resistensi – MDR (Multi Drug Resistant), pada prinsip kultur untuk memperbanyak dan menumbuhkan bakteri, untuk mengatasi kesulitan diagnosa pada kasus TB koinfeksi HIV yang sering dilaporkan dengan BTA negatif. Dengan pertumbuhan bakteri yang lambat, memerlukan waktu lama lebih dari tiga minggu (Sandjaya, 1995). Pada saat ini, telah berkembang metode kultur yang lebih akurat dan sensitif, baik kultur media cair maupun padat, yaitu BACTEC system, dan *Mycobacteria Growth Indikator Tube* (MGIT)m sehingga masih terus berkembang metode yang akurat dan sederhana dengan biaya yang murah (Forbes BA, et al., 2005).

Modifikasi media nutrien agar yang mengandung serum ditambahkan darah manusia yang diperoleh dari Palang Merah Indonesia (PMI), karena banyak mengandung zat besi dan albumin, serta dengan penambahan penisilin 100 units/ml, untuk tujuan menghambat mikroba kontaminan non *Mycobacterium*. Media cair yang berupa darah diharapkan mirip dengan kondisi *invivo* pada jaringan parenkim paru yang juga kaya zat besi dan albumin dan nutrisi lainnya. Dengan demikian diharapkan media bifasik agar darah, mempercepat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* secara optimal, sehingga mudah dilakukan identifikasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah kultur bifasik agar – darah dapat memberikan hasil kultur yang lebih cepat dan sensitif mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* dan biaya relatif murah. Penegakan diagnosis TB membantu penentuan pengobatan yang tepat, dengan demikian dapat mempercepat kesembuhan penderita TB, dengan

demikian bermakna memutus rantai penularan. Berdasarkan uraian di atas dijelaskan masalahnya adalah Metode penanaman dalam media kultur standar konvensional membutuhkan waktu yang lama, sehingga diperlukan suatu alternatif media kultur dengan metode cepat dan akurat untuk deteksi *Mycobacterium tuberculosis*. Sehingga rumusan masalahnya adalah apakah ada perbedaan sensitifitas deteksi *Mycobacterium tuberculosis* antara kultur sputum pada media bifasik agar–darah menggunakan media Lowenstein–Jensen? apakah terdapat perbedaan kecepatan pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* antara kultur sputum suspek TB paru pada media bifasik agar–darah dengan media Lowenstein–Jensen?

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui manfaat kultur bifasik agar–darah sebagai alternatif metode cepat dan sensitif untuk deteksi bakteri TB, dan menganalisis perbedaan sensitifitas deteksi *Mycobacterium tuberculosis* antara kultur sputum suspek TB paru pada media bifasik agar–darah dan media Lowenstein–Jensen, dan menganalisis perbedaan kecepatan *Mycobacterium tuberculosis* antara kultur sputum suspek TB paru pada media bifasik agar–darah dan media Lowenstein–Jensen.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah penelitian analitik observasional laboratorium, yaitu dengan membandingkan hasil pertumbuhan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* antara metode kultur sputum pada media bifasik agar–darah dengan media Lowenstein–Jensen. Populasi penelitian ini berupa Sputum suspek TB paru dari pasien yang berkunjung ke Poli Paru RSUD Dr. Soetomo. Data

yang diperoleh dengan mengamati hasil pertumbuhan kultur sputum antara metode kultur pada media L–J dengan media bifasik agar–darah, dicatat dan dibuat tabulasi data. Analisis data dengan uji statistik Mann–Whitney. Penelitian dilakukan di Poli Paru RSUD Dr. Soetomo tempat pengambilan sampel penelitian, di Laboratorium TDC UNAIR untuk dilakukan pewarnaan dan kultur dari sampel pemeriksaan kultur sputum, selama 6 bulan di tahun 2007.

Prosedur kultur preparasi media bifasik Agar–Darah. Media bifasik agar–darah di modifikasi dari media nutrisi – agar oksid yang ditimbang sebanyak 28 g, dilarutkan dalam 1000 ml aquades (pH 7.0) dalam erlenmeyer lalu tutup rapat, media disterilisasi dalam otoklaf pada suhu 121°C – 15 menit. Selesai disteril media nutrisi–agar didinginkan pada suhu mencapai 50°C, ditambahkan 10% serum manusia yang telah di inaktifkan 56°C selama 30 menit dan penisilin 100 units/ ml, kemudian dituangkan 10 ml ke dalam botol gelas (screw capped dengan volume 50 ml). Di miringkan 30° C sampai menjadi padat, dilanjutkan dengan penambahan darah PMI (antikoagulan EDTA) yang sudah di inaktifkan 50° C selama 30 menit, ditambahkan saponin 20%, kemudian diambil sebanyak 5 ml secara aseptik kemudian dimasukkan dalam media agar miring dengan posisi tegak. Kultur Sputum pada Media Bifasik Agar–Darah. Sedimen hasil dekontaminasi dan konsentrasi sputum, di ambil sebanyak 100µl (duplo pada 2 botol) menggunakan mikropipet, ditanam pada permukaan media bifasik agar–darah. Dimasukan inkubator CO₂ pada suhu 37 ° C selama 3 hari. Pada minggu pertama, kemudian dilakukan sentrifus 3000 rpm selama 15 menit, supernatan dibuang menggunakan pipet

pastur steril dengan aseptik, kemudian dilanjutkan masa inkubasi sampai delapan minggu. Hasil positif bila ada pertumbuhan koloni karakteristik, kering, kasar, putih seperti bunga kol, kemudian diidentifikasi mikroskopis pewarnaan Ziehl Neelsen basil tahan asam positif, uji akumulasi niasin positif dan uji reduksi nitrat positif, bila terjadi kontaminasi sampel, maka digagalkan sebagai sampel penelitian.

HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian pemeriksaan kultur sputum pada pasien dengan tuberkulosis paru pada media bifasik agar-darah dan Lowenstein-Jensen. telah dilakukan pada sejumlah 68 sampel sputum. Hasil dari penanaman 68 sampel sputum yang terdiri dari 32 sputum BTA negatif dan 36 sputum BTA positif diketahui bahwa sputum BTA negatif berjumlah 32, Sampel sputum BTA 1+ berjumlah 15, Sampel sputum BTA 2+ berjumlah 11, dan 10 sampel sputum BTA 3+ dari 68 penderita tuberkulosis paru pada bulan januari sampai dengan Juni 2007.

Tabel 1. Distribusi kultur dari 68 sampel sputum BTA negatif dan BTA positif.

Jenis sampel sputum BTA (-) / BTA(+)	F
BTA negatif	32
BTA positif (jumlah 36)	15
BTA positif (1+)	11
BTA positif (2+)	10
BTA positif (3+)	

Hasil pemeriksaan kultur dan sampel sputum penderita tuberkulosis paru. Setelah sputum didekontaminasi dan di sentrifus dengan metode modifikasi alkali Petroff (WHO) kemudian dibuat hapusan dari sedimen,

dilanjutkan penanaman pada media kultur bifasik agar-darah dan media Lowenstein -Jensen. Pada masa inkubasi dengan pengamatan hari ketujuh menunjukkan masih di temukan adanya pertumbuhan koloni karakteristik yang teridentifikasi mycobacterium tuberculosis pada sampel sputum BTA negatif, pada media kultur bifasik agar-darah. S

Sedangkan pada media kultur Lowenstein-Jensen tidak ditemukan pertumbuhan sampai hari ke tujuh pengamatan. Pada media kultur bifasik agar - darah terdapat pertumbuhan adanya koloni bakteri Mycobacterium tuberculosis dari sampel sputum BTA positif (1+) pada pengamatan hari ke tujuh maupun ke tiga. Sedangkan pada media kultur Lowenstein - Jensen tidak ada pertumbuhan. Sedangkan pada sampel sputum BTA positif (2+ dan 3+) ditemukan pertumbuhan koloni karakteristik (gambar 5.3 dan 5.4), baik pada kedua jenis media, media kultur bifasik agar-darah maupun media Lowenstein-Jensen.

Perbandingan kecepatan pertumbuhan Mycobacterium tuberculosis antara media kultur bifasik agar-darah dengan media L - J dalam waktu inkubasi dengan pengamatan hari ke tiga sampai hari ke tujuh.

Pada media kultur bifasik agar-darah dengan sampel sputum BTA negatif (-) ternyata hampir seluruhnya (25 sampel = 78,1%) yang masih dapat dideteksi Mycobacterium tuberculosis dari 32 sputum pada inkubasi hari ke tujuh, dari 11 spesimen sputum positif (1+) menunjukkan seluruhnya media (100%) ditemukan pertumbuhan pada inkubasi hari ke tujuh, 15 sampel sputum positif (2+) juga menunjukkan sudah ditemukan pertumbuhan pada inkubasi hari ke lima, seluruhnya (100%) positif dari 15 sampel sputum. Sedangkan sampel sputum positif (3+)

juga seluruhnya (100%) menunjukkan positif artinya sudah ditemukan pertumbuhan pada inkubasi hari ke tiga.

Sedangkan pada media kultur Lowenstein–Jensen dengan sampel sputum BTA negative (-), dari 32 sampel. Semua tidak menunjukkan pertumbuhan koloni (0%) pada inkubasi hari ke tujuh, sampel sputum BTA positif (1+) dari 11 sampel didapatkan sebagian besar (7 sampel = 63,6%) yang ditemukan pertumbuhan koloni pada inkubasi hari ke tujuh, dan sampel sputum BTA positif (2+) dari 15 sampel di dapatkan hampir seluruhnya (12 sampel = 80%) sampel sputum yang ditemukan pertumbuhan koloni pada inkubasi hari ke tujuh. Dan sampel sputum BTA positif (3+) dari pengamatan hari ke tujuh dari 10 sampel sputum seluruhnya (100%) menunjukkan adanya pertumbuhan koloni.

Hasil Uji Mann - Whitney perbedaan pertumbuhan kultur bakteri *Mycobacterium tuberculosis* metode media kultur bifasik agar – darah dengan media Lowenstein – Jensen pengamatan pada inkubasi hari ke tujuh, menunjukkan bahwa sampel sputum BTA negatif (-) dari media kultur bifasik agar – darah dengan media Lowenstein – Jensen ada perbedaan, sedangkan sampel sputum BTA positif (1+, 2+, 3+) dari kedua media tersebut tidak ada perbedaan dalam pertumbuhan adanya koloni karakteristik.

Pada pengamatan hari ke tujuh ada 32 sampel sputum BTA negatif ternyata hampir seluruhnya (25 sampel sputum = 78,14%), masih dapat dideteksi *Mycobacterium tuberculosis*, sedangkan pada media Lowenstein – Jensen sampel tidak ada pertumbuhan. Pada 36 sampel sputum BTA positif (1+, 2+, 3+) pada pengamatan hari ke

tujuh semuanya (100%) terdeteksi adanya *Mycobacterium tuberculosis* pada media bifasik agar – darah, sedangkan pada media Lowenstein – Jensen hanya 7 dari 11 sampel sputum BTA positif (1+) di temukan pertumbuhan koloni (63,64%). Pada 15 sampel sputum BTA positif (2+) pada pengamatan hari ke tujuh hampir seluruhnya (12 sampel sputum = 80%) terdeteksi *Mycobacterium tuberculosis* pada media bifasik agar – darah, sedangkan pada sampel sputum BTA positif (3+) pada pengamatan hari ke tujuh seluruhnya (100%) ditemukan adanya pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis*.

PEMBAHASAN

Penegakkan diagnosis TBC paru pada program penanggulangan tuberkulosis di Indonesia terutama berdasarkan deteksi basil batang tahan asam BTA positif dari spesimen sputum 3x, sewaktu – pagi – sewaktu (S-P-S) secara mikroskopis, namun hal ini masih ada kendala sensitifitas walaupun hasilnya dapat diperoleh cepat dalam 10 menit sampai 20 menit.

Teknik untuk deteksi mikroba penyebab infeksi yang lebih akurat dalam menegakkan diagnosis TBC yaitu metode kultur, namun sampai saat ini metode kultur pada media padat masih terdapat kendala yaitu lamanya waktu memperoleh hasil pemeriksaan. Media darah untuk kultur mengandung nutrisi lengkap seperti habitat natural untuk pertumbuhan adanya *Mycobacterium tuberculosis* di jaringan parenchyme paru, juga mengandung oksigen dan karbon CO₂ yang tinggi, selain itu lengkap dengan faktor – faktor growth hormon dan enzim – enzim yang meningkatkan metabolisme sel atas dasar kondisi tersebut diharapkan metode kultur bakteri TBC dalam darah dapat

meningkatkan sensitifitas deteksi hasil pemeriksaan. Kultur sputum dimulai dengan penanganan sputum yang benar atau akurat, karena sputum yang diperoleh dari teknik batuk dalam dan dikeluarkan dapat diperoleh selain mikroba dari saluran bronkus juga flora normal yang ada disaluran nafas atas maupun rongga mulut. Berdasarkan hal ini, sputum spontan untuk kultur harus dilakukan proses dekontaminasi dan konsentrasi menggunakan metode modifikasi alkali Petroff (WHO).

Alkali NaOH 4% dengan sama volume sputum, sehingga konsentrasi akhir NaOH 2%, ini dapat mematikan mikroba flora normal, sedangkan *Mycobacterium tuberculosis* tetap bertahan hidup. Selain itu Na OH berfungsi mengencerkan dahak yang kental sehingga bakteri TBC terlepas dari lendir.

Proses sentrifus mengakibatkan bakteri TBC terkonsentret di dasar tabung, mengakibatkan sedimen lebih banyak mengandung *Mycobacterium tuberculosis*. Sedimen ditanam 100 µl duplo pada media bifasik agar – darah dan duplo pada media Lowenstein – Jensen, meningkatkan kemungkinan deteksi *Mycobacterium tuberculosis*. Media bifasik agar – darah, media cair darah dapat meningkatkan kecepatan pertumbuhan bakteri *Mycobacterium tuberculosis*, sedangkan media agar padat miring untuk menangkap sel bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dan melekatkan pada permukaan media agar miring sehingga mudah dideteksi koloni karakteristik putih kasar sehingga dapat diidentifikasi lebih lanjut.

Kelebihan lain dari media cair berupa darah dan agar miring ini diberikan penisilin dimaksudkan untuk mematikan mikroba lain yang bukan *Mycobacterium tuberculosis*. Kultur bakteri TBC menggunakan media

padat lempeng agar darah. selain itu media lempeng agar darah ini ditambahkan penisilin.

Untuk menghambat adanya pertumbuhan bakteri non karakteristik. Hasil penelitian menyatakan bahwa pertumbuhan koloni *Mycobacterium tuberculosis* lebih cepat pada media lempeng agar darah dari pada media padat dengan dasar telur. Pada penelitian ini digunakan botol kultur, tidak menggunakan lempeng petri karena lebih kecil kemungkinan terjadi kontaminasi, hal ini juga dilakukan oleh peneliti terdahulu Kiliturgay, tahun 1977. Selain itu juga dilakukan penelitian lain yang menggunakan botol kultur dengan media agar darah, tidak menggunakan lempeng petri.

Pada penelitian ini didapatkan bahwa media dalam botol kultur untuk menjaga keseimbangan pertumbuhan koloni dan nutrisi, kemungkinan tidak akan terjadi kekeringan pada medium dan lebih kecil kemungkinan terjadi kontaminasi, hal ini dilakukan oleh Drancourt M, et al., tahun 2003. Pada penelitian ini digunakan media kultur Bifasik agar–darah yaitu memodifikasi media kultur dengan nutrien agar ditambahkan serum sebagai pengganti telur.

Pada hari ketiga inkubasi, saat kultur sputum ditambahkan dengan darah dan yang sudah ditambahkan dengan saponin 20 % kemudian di inkubasi lebih lanjut sampai hari ke tujuh. Untuk mengetahui sensitifitas dan kecepatan deteksi pertumbuhan koloni karakteristik *Mycobacterium tuberculosis*. Pada penelitian ini dilakukan pemeriksaan dengan besar sampel = 68 sampel sputum BTA negatif dan positif (1+, 2+, 3+), dari 68 penderita tuberkulosis paru di Poli Penyakit Paru RSUD Dr. Soetomo Surabaya. Sputum pada penelitian ini dilakukan dekontaminasi serta

konsentrasi menggunakan metode modifikasi alkali Petroff (WHO). Sedimen dikultur sebanyak 100 µl diambil menggunakan mikropipet dengan yellow tip steril pada media bifasik agar – darah dan Lowenstein – Jensen. Pada media Bifasik agar – darah dilakukan dengan cara sebagai berikut: ditanam pada permukaan media bifasik agar – darah yang sudah dilakukan uji sterilitas.. Di lakukan inkubasi pada inkubator CO2 dalam suhu 37°C selama tiga hari, kemudian diamati pada hari ke 3 dan selanjutnya ditambahkan darah yang dicampur dengan saponin untuk pertumbuhan koloni karakteristik, kemudian di lakukan inkubasi sampai hari ke 7, dalam pengamatan menunjukkan pertumbuhan koloni bakteri TBC.

Penambahan darah (PMI – EDTA) dimana anticoagulan - EDTA sebagai pencegahan pembekuan darah, tetapi anti coagulan - EDTA tidak berpengaruh aanya pertumbuhan Mycobacterium tuberculosis (Priti K, et al., 2000). Darah memiliki kaya mikronutrien, ferrous, kalium, natrium dan zinc sehingga dapat merangsang pertumbuhan bakteri TBC seperti terdapat pada penderita tuberkulosis. Selanjutnya ditambahkan saponin yang bersifat untuk melisis darah dengan konsentrasi 20%, saponin dalam darah tidak mempengaruhi perubahan sel eritrosit, namun dapat melisis sel makrofag, sehingga Bakteri Mycobacterium tuberculosis intrasluler makrofag terbebas ke dalam cairan darah (Anthony J, et al., 2000). Peranan saponin dalam media kultur bifasik agar – darah pada kuman Mycobacterium tuberculosis adalah bakteri patogen yang mampu tumbuh didalam sel (facultave intracelluler) dalam tubuh inang, bakteri ini mampu melakukan multiplikasi atau bertahan, lama hidup dalam sel makrofag,

apabila makrofag di lisis sehingga memungkinkan terjadi peningkatan bakteri TBC terbebas dalam media cair darah (Anthony J, et al., 2000).

Dari penelitian telah dilakukan pemeriksaan terhadap 68 sampel sputum yang didapatkan hasil sensitivitas dan kecepatan deteksi pada media kultur bifasik agar – darah dengan media Lowenstein – Jensen. Pertumbuhan bakteri Mycobacterium tuberculosis. Hasil sensitivitas di dapatkan bahwa kultur bifasik agar – darah dengan spesimen sputum BTA negatif (-) menunjukkan dari 32 sampel sputum, ditemukan hampir seluruhnya (25 media = 78,14%) mengalami adanya pertumbuhan pada inkubasi hari ke tujuh, dari 11 sampel sputum bakteri TBC positif (1+) menunjukkan seluruhnya media ada pertumbuhan pada inkubasi hari ke tujuh, 15 sampel sputum BTA positif (2+) dan menunjukkan adanya pertumbuhan pada inkubasi hari ke lima (100%) dan sampel sputum BTA positif (3+) juga menunjukkan seluruhnya (100%) ada pertumbuhan pada inkubasi hari ke tiga. Sedangkan pada media kultur menggunakan Lowenstein – Jensen dengan sampel sputum BTA negatif (-) menunjukkan: dari 32 sampel sputum semua tidak ditemukan pertumbuhan koloni (0%) pada inkubasi hari ke tujuh, 11 sampel sputum BTA positif (1+) menunjukkan pertumbuhan koloni (63,6%) dan 15 sampel sputum BTA positif (2+) juga menunjukkan ada pertumbuhan koloni (80%), dan 10 sampel sputum BTA positif (3+) menunjukkan semua media ada pertumbuhan koloni (100%). Hasil dari kecepatan deteksi pada media kultur bifasik agar – darah dengan media Lowenstein – Jensen dalam pertumbuhan bakteri Mycobacterium tuberculosis. Hasil uji statistik Mann-Whitney yang didapatkan sebagai

berikut spesimen sputum BTA (-) ada perbedaan pertumbuhan pada media bifasik agar – darah lebih cepat tumbuh pada hari ke tujuh, sedangkan pada media Lowenstein – Jensen belum tumbuh. Spesimen sputum (1+, 2+, 3+) tidak ada perbedaan dalam pertumbuhan pada media kultur bifasik agar – darah dengan media Lowenstein – Jensen dalam inkubasi hari ke tujuh.

Sensitifitas dan kecepatan deteksi bakteri TBC pada kedua media kultur ini karena media cair darah lebih tinggi dan lebih lengkap nutrisi, growth faktor O₂ dan CO₂ sehingga lebih meningkatkan growth rate Mycobacterium tuberculosis atau percepatan multiplikasi sel bakteri TBC dari pada nutrisi pada media padat Lowenstein – Jensen, selain itu media cair lebih menyebarkan paparan nutrisi setiap sel Mycobacterium tuberculosis dari media padat, sedangkan media agar miring padat pada media bifasik agar – darah berguna melekatkan mycobacterium tuberculosis yang bermultiplikasi menjadi banyak dan berat sehingga menumpuk pada permukaan media agar miring, yang memudahkan deteksi dan identifikasi selanjutnya.

Pada penelitian ini juga dilakukan penanaman strein referens untuk kontrol media kultur bifasik agar–darah dalam mendeteksi pertumbuhan bakteri Mycobacterium tuberculosis juga dilakukan terhadap bakteri gram negatif dan gram positif. Sebagai kontrol strein digunakan yaitu strein referens Mycobacterium tuberculosis dengan standart H 37 Rv (ATCC 27294) ditemukan ada pertumbuhan koloni karakteristik Mycobacterium tuberculosis pada media kultur bifasik agar–darah, sedangkan pada kontrol bakteri gram negatif digunakan strein referens Escherichia coli dengan standart

(ATCC 10798) dalam penanaman kultur tidak ditemukan pertumbuhan koloni pada media kultur bifasik agar–darah dan selanjutnya pada kontrol gram positif digunakan strein referens Staphylococcus aureus dengan standart (ATCC, 12598) dalam penanaman kultur juga tidak ditemukan pertumbuhan koloni pada media kultur bifasik agar–darah. Kelebihan media bifasik agar–darah pada penelitian ini juga terbukti kemampuan selektifitasnya, karena penambahan penisilin yang bersifat mematikan gram negatif yang berasal dari sampel sputum. Berdasarkan beberapa kelebihan media bifasik agar–darah baik sensitifitas, kecepatan deteksi bakteri TBC, selain itu juga selektifitasnya, untuk menegakkan diagnosis tuberkulosis secara rutin dilaboratorium mikrobiologi.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa Ada perbedaan sensitivitas deteksi Mycobacterium tuberculosis pada kultur sputum antara media bifasik agar darah dan Lowenstein-Jensen, Ada perbedaan yang bermakna lamanya kecepatan pertumbuhan Mycobacterium tuberculosis antara kultur sampel sputum pada media bifasik agar-darah dengan media Lowenstein-Jensen. Sehingga disarankan Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk melengkapi uji validitas internal maupun eksternal dari penelitian ini, Pada penelitian ini selanjutnya perlu dilakukan uji validitas, Perlu dilakukan penelitian tentang kepekaan Mycobacterium tuberculosis terhadap obat anti-tubekulosis.

DAFTAR PUSTAKA

- Belisle, Braunstein M, Rosenkrands I, and Andersen P., 2005, The Proteome of *Mycobacterium tuberculosis* in Cole ST, Eisenach KD, Murray DN, Jacobs WR, Tuberculosis chapter 16 hlm 235 – 260.
- Clark-Curtiss JE, Haydel SE, 2003. Molecular genetics of TBC pathogenesis. *Annu Rev Microbiol*; 57: 517 - 549.
- Departemen Kesehatan RI, 2002. Pedoman Penanggulangan TBC cetakan ke 8. Jakarta. hlm. 1 – 36.
- Dzen SM, Roskistiningsih, Sanarto S, Sri W, 2003. *Bakteriologi Medik*, bayumedia Publishing, FK Unbra. hlm. 293 – 316.
- Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS, 2005. *Mycobacteria*.
- In : Bailey and Scott's *Diagnostic Microbiology*. 11 th ed. Mosby. St Louis, pp. 538 – 571.
- Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS, 2005. Laboratory cultivation and isolation of bacteria. In : Bailey and Scott's *Diagnostic Microbiology*. 11 th ed. Mosby. St Louis, pp. 133 – 146.
- Frieden TR, Sterling TR, Munsiff SS, Watt CJ, Dye C, 2003. Tuberculosis. *Lancet*. ; 362 (9387): 887 - 899.
- Joklik WK, Willett HP, Amos DB, Wilfert CM, 1988. *Mycobacterium* in : Zinsser *Mikrobiologi*. 19 th edition. Appleton & Lange. California , pp. 423 - 448.
- Jonas V, Alden MJ, Curry JI, Kamisango K, Knott CA, Lankford R, Wolfe JM and Moore DF, 1993. Detection and Identification of *Mycobacterium tuberculosis* Directly from Sputum Sediments By Amplification of Rrna, *Journal of Clinical Mikrobiologi*. 31(9): 2410 – 2416.
- Kim SJ, Frieden T, Luelmo F, Norval PY, Rieder H, Valenzuela P, Weyer K, 1998. *Laboratory Services in Tuberculosis Control, Culture part III*, WHO, Geneva, Switzerland. Pp.11 – 85.
- Levinson W., 2004, *Mycobacteria, Review of Microbiology* ed. 9, Lange Medical Books, hlm. 161 -168.
- Monack DM, Mueller A, Falkow S, 2004. Persistent bacterial infections: the interface of the pathogen and the host immune system. *Nat Rev Microbiol*; 2(9): 747 - 765.