

PERBANDINGAN PERTUMBUHAN *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* PADA MEDIA AGAR DARAH DOMBA DENGAN AGAR DARAH MANUSIA PENGARUH PREINKUBASI DALAM SUPPLEMENTED TODD HEWITT BROTH (STHB)

Nabila Fawzia¹, Purnomo Hadi², Helmia Farida²

¹ Mahasiswa Program S-1 Ilmu Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

² Staf Pengajar Ilmu Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro
JL. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang-Semarang 50275, Telp. 02476928010

ABSTRAK

Latar Belakang Agar darah yang umum digunakan saat ini dan menjadi standar adalah dengan agar darah domba (ADD) sebagai media selektif untuk kultur *Streptococcus pneumoniae*. Namun di negara berkembang, penggunaan agar darah domba kurang ekonomis. ADM terdapat kekurangan dalam menumbuhkan bakteri karena adanya perbedaan morfologi dan komposisi darah. Penambahan prosedur kultur dengan preinkubasi dalam STHB (*Supplemented Todd Hewitt Broth*) diharapkan dapat meningkatkan jumlah bakteri yang tumbuh pada media kultur

Tujuan Menguji efektifitas ADMG dan preinkubasi dalam STHB sebagai media untuk menumbuhkan *Streptococcus pneumoniae* dibandingkan dengan ADDG.

Metode Penelitian ini menggunakan desain *true experimental-post test only*. Sampel penelitian adalah 16 swab nasofaring dari subjek sehat yang disimpan dalam media STGG pada temperatur -80°C (n=16). Pengamatan meliputi kuantitas koloni, diameter koloni, diameter zona hemolisis, dan karakteristik koloni. Uji yang digunakan adalah uji *Student -T* atau uji *Mann Whitney* dan uji *Chi Square*.

Hasil Pada penelitian didapatkan perbedaan namun tidak bermakna pada kuantitas koloni (p=0,590; 0,590; 0,590), diameter koloni (p=0,985;0,809;0,985), dan karakteristik koloni (p=0,446; 1,000; 1,000). Pada diameter zona hemolisis ditemukan perbedaan bermakna antar kedua media (p=0,014;0,002;0,002).

Kesimpulan Pertumbuhan *S.pneumoniae* pada Media Agar Darah Manusia dan Preinkubasi dalam STHB tidak lebih baik dibandingkan pada Media Agar Darah Domba.

Kata Kunci: Agar Darah Domba , Agar Darah Manusia, *Streptococcus pneumoniae*, *Supplemented Todd Hewitt Broth*.

ABSTRACT

COMPARISON OF GROWTH *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* IN SHEEP BLOOD AGAR WITH HUMAN BLOOD AGAR. THE EFFECT OF PREINCUBATION IN SUPPLEMENTED TODD HEWITT BROTH (STHB)

Background: Blood Agar that is commonly used nowadays and become standard is with Sheep Blood Agar (SBA) as media selectively for *Streptococcus pneumoniae* as a culture. However, in a developing country like Indonesia, the utilization of SBA is less economical and the tropical climate that does not perfectly fit for sheep's maintenance. On Human Blood Agar (HBA), there is a deficiency in bacteria growing because of the difference of morphology and the composition of blood. The addition of culture procedure with pre-

incubation in STHB (Supplemented Todd Hewitt Broth) expected to increase the amount of bacteria growing in culture media.

Aim: Test the effectiveness of Human Blood Agar with Gentamicin (HBAG) and pre-incubation within STHB as a media to grow *Streptococcus pneumoniae* compared with HBAG.

Methods: This research used design of true experimental-post test only. The sample of this research is sixteen swab nasopharynx from a healthy subject saved in STTG as a media at temperature -80°C ($n=16$). Observation on 18, 24, and 48 hours including the quantity of colony, the diameter of colony, the diameter of hemolysis zone, and the characteristics of colony. The hypothesis test that used was Student-T test or Mann Whitney and Chi-Square test.

Result: On the research obtained the differences but not meaningful on the quantity of colony ($p=0,590$; $0,590$; $0,590$), the diameter of colony ($p=0,985$; $0,809$; $0,985$) and the characteristics of colony ($p=0,446$; $1,000$; $1,000$). On the diameter of hemolysis zone found the meaningful differences between the two media ($p=0,014$; $0,002$; $0,002$).

Conclusion: Growth of *S.pneumoniae* in human blood agar with STHB not better than in sheep blood agar.

Keywords: Sheep Blood Agar, Human Blood Agar, *Streptococcus pneumoniae*, Supplemented Todd Hewitt Broth

PENDAHULUAN

Streptococcus pneumoniae merupakan flora patogen yang dapat tumbuh di saluran pernapasan bagian atas manusia, terutama nasofaring.^{1,2} *S.pneumoniae* bersifat patogen yang penting sebagai penyebab pnemonia pada balita dan lansia serta masih menjadi salah satu penyebab utama kematian anak secara global. Data yang didapat dari UNICEF pada tahun 2013 menyebutkan bahwa pnemonia, diare, dan malaria mengancam kehidupan bagi hampir dari 6000 balita di Indonesia setiap harinya dan menyebabkan hampir 400 anak-anak meninggal setiap harinya akibat dari penyakit pnemonia ini.³ Dengan tingginya angka kematian akibat *S.pneumoniae*, diagnosis dini perlu

ditegakkan untuk mencegah timbulnya kematian akibat keterlambatan diagnosis. Baku emas untuk diagnosis *S.pneumoniae* adalah dengan menggunakan cara kultur bakteri.^{4,5} Agar darah sebagai media yang sering digunakan sebagai media kultur bakteri dan sebagai pembeda bakteri berdasarkan sifat hemolitiknya. Agar darah yang umum digunakan saat ini dan menjadi standar adalah dengan agar darah domba (ADD). Media tersebut digunakan karena dapat menumbuhkan bakteri secara maksimal. Namun di negara berkembang seperti Indonesia, penggunaan agar darah domba kurang ekonomis dan iklim tropis kurang cocok untuk pemeliharaan domba.^{6,7}

Laboratorium di Indonesia sudah banyak digunakan agar darah manusia (ADM). Namun berdasarkan penelitian sebelumnya, ADM terdapat kekurangan dalam menumbuhkan bakteri karena adanya perbedaan morfologi dan komposisi antara sel darah merah domba dengan manusia.⁷ Kandungan komplemen dan antibodi yang terdapat pada darah manusia dapat menghambat pertumbuhan *S.pneumoniae*.⁸ Penggunaan agar darah manusia seringkali dijumpai adanya kegagalan dalam pertumbuhan bakteri patogen sehingga terdapat adanya perbedaan morfologi dan pola hemolitik bakteri yang dapat mengelabui identifikasi bakteri patogen.⁷

Penambahan prosedur kultur dengan preinkubasi dalam STHB (*Supplemented Todd Hewitt Broth*) yang diperkaya serum kelinci dan ekstrak *yeast* 0,5% diharapkan dapat meningkatkan jumlah bakteri yang tumbuh pada media kultur karena kultur *S.pneumoniae* pada nasofaring sering dijumpai hasil negatif, sementara dengan prosedur PCR memberikan hasil positif yang lebih banyak.⁹ Data penelitian yang dilakukan oleh Maria da Gloria Carvalho *et al* menyatakan bahwa terdapat kenaikan jumlah spesimen yang terbukti positif *S.pneumoniae* dengan melakukan

preinkubasi dalam STHB sebelum dilakukan penanaman spesimen pada media agar darah. Hasil dari penelitiannya menunjukkan bahwa dengan preinkubasi dalam STHB dapat mendeteksi berbagai serotipe *S.pneumoniae* dan meningkatkan kemampuan isolasi *S.pneumoniae*. Dengan melakukan preinkubasi sebelum kultur dapat meningkatkan pertumbuhan strain minoritas dari *S.pneumoniae*.⁹

METODE

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental dengan pendekatan *Post Test Only*. Data yang digunakan adalah data primer, yaitu hasil pengukuran pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae*. Kriteria inklusi adalah Swab nasofaring balita sehat yang disimpan dalam media STGG pada temperatur -80°C selama 1 tahun. Sampel diambil dengan cara *Simple random* sampling dengan jumlah sampel pada penelitian ini adalah 16. Penelitian akan dilakukan secara duplo dimana masing-masing sampel dibagi 2 kemudian kelompok pertama ditanam pada Media Agar Darah Manusia dengan Preinkubasi dalam STHB dan kelompok kedua ditanam pada Media Agar Darah Domba.

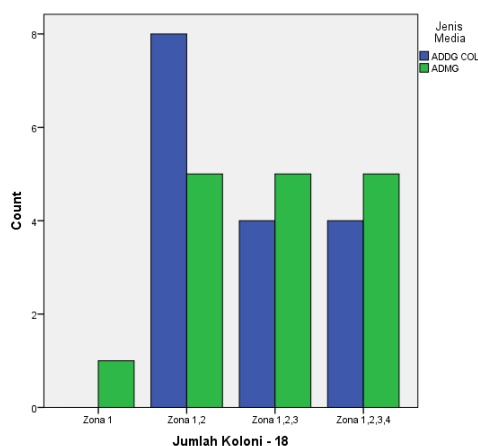
Hasil dari pertumbuhan *S.pneumoniae* diamati kuantitas koloni,

diameter koloni, diameter zona hemolisis, dan karakteristik koloni pada 18, 24, dan 48 jam.

Data yang diperoleh diolah dengan program komputer SPSS, kemudian variabel tergantung diuji normalitasnya dengan uji Saphiro Wilk. Selanjutnya dilakukan uji untuk mengetahui hubungan variabel bebas dan terikat dengan menggunakan uji *Student -T* (skala numerik, distribusi normal) atau uji *Mann Whitney* (skala numerik, distribusi tidak normal) dan uji *Chi Square* (skala nominal dan ordinal).

HASIL PENELITIAN

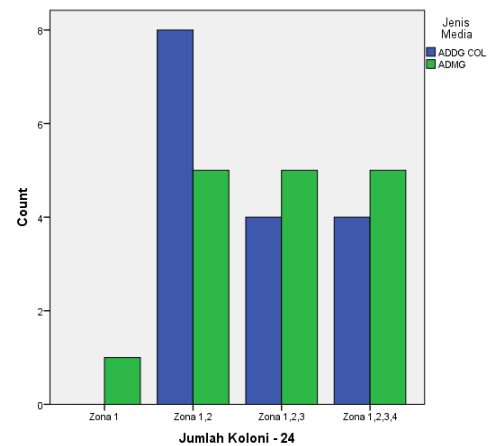
Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni-Agustus 2017. Jumlah sampel penelitian yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi adalah 16 sampel.



Gambar 1. Grafik Kuantitas Koloni (18 Jam)

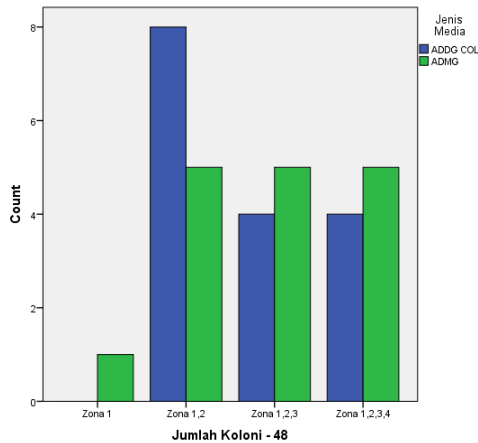
Analisis bivariat perbandingan kuantitas koloni bakteri pada media

ADMG dan ADMG dengan preinkubasi dalam STHB didapat nilai p sebesar 0,59 ($p > 0.05$) maka secara statistik terdapat perbedaan namun tidak signifikan antara kuantitas koloni di ADDG dengan koloni di ADMG dengan preinkubasi dalam STHB.



Gambar 2. Grafik Kuantitas Koloni (24 Jam)

Analisis bivariat perbandingan kuantitas koloni bakteri pada media ADDG dan ADMG dengan preinkubasi dalam STHB didapat nilai p sebesar 0,59 ($p > 0.05$) maka secara statistik terdapat perbedaan namun tidak signifikan antara kuantitas koloni di ADDG dengan koloni di ADMG dengan preinkubasi dalam STHB.



Gambar 3. Grafik Kuantitas Koloni (48 Jam)

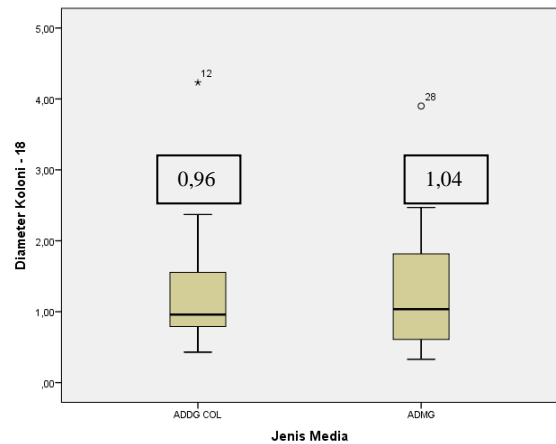
Analisis bivariat perbandingan kuantitas koloni bakteri pada media ADDG dan ADMG dengan preinkubasi dalam STHB didapat nilai p sebesar 0,59 ($p > 0.05$) maka secara statistik terdapat perbedaan namun tidak signifikan antara kuantitas koloni di ADDG dengan koloni di ADMG dengan preinkubasi dalam STHB.

Tabel 1 . Hasil pengukuran diameter koloni pada pengamatan 18, 24, dan 48 jam yang ditanam di media ADDG dan ADMG dengan Preinkubasi dalam STHB.

Variabel	Rerata±SD*;	Median(Min-Maks)
ADDG		
- Diameter Koloni 18 Jam	1,28 ± 0,92	0,96 (0,43 – 4,23)
- Diameter Koloni 24 Jam	1,52 ± 0,97	1,26 (0,50 – 4,00)
- Diameter Koloni 48 Jam	1,94 ± 1,16	1,72 (0,73 – 5,38)
ADMG dengan Preinkubasi dalam STHB		

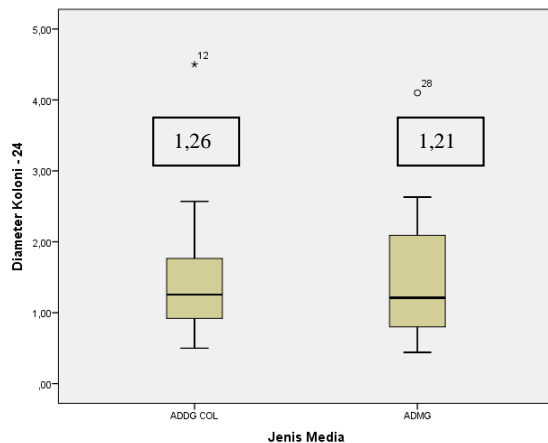
-Diameter Koloni 18 Jam	1,31 ± 0,94	1,04 (0,33 - 3,90)
-Diameter Koloni 24 Jam	1,52 ± 0,95	1,21 (0,44 - 4,10)
-Diameter Koloni 48 Jam	1,92 ± 1,08	1,58 (0,63 - 4,83)

*SD = Standar Deviasi



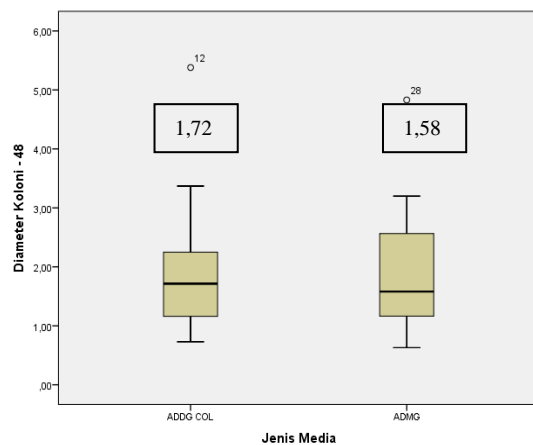
Gambar 4. Grafik Diameter Koloni 18 Jam

Diameter koloni *S. pneumoniae* pada ADMG dengan Preinkubasi dalam STHB memiliki median yang lebih besar (1,04) daripada pertumbuhan pada ADDG (0,96). Hasil ini tidak bermakna secara statistik dengan $p=0,985$ (Uji *Mann Whitney*)



Gambar 5. Grafik Diameter Koloni 24 Jam

Diameter koloni *S. pneumoniae* pada ADDG memiliki median yang lebih besar (1,26) daripada pertumbuhan pada ADMG dengan Preinkubasi dalam STHB (1,21). Hasil ini tidak bermakna secara statistik dengan $p=0,809$ (Uji *Mann Whitney*)



Gambar 6. Grafik Diameter Koloni 48 Jam

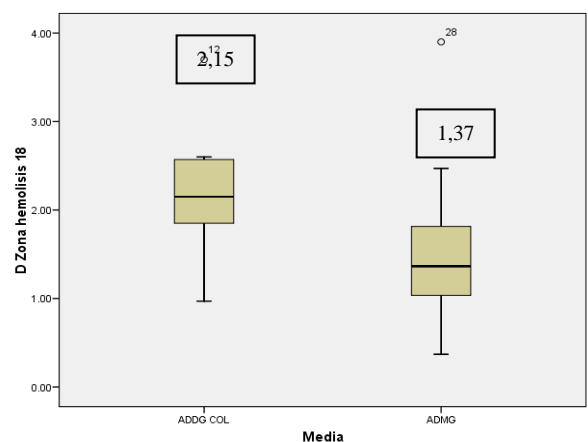
Diameter koloni *S. pneumoniae* pada ADDG memiliki median yang lebih besar (1,72) daripada pertumbuhan pada ADMG dengan Preinkubasi dalam STHB (1,58) Hasil ini tidak bermakna secara

statistik dengan $p=0,985$ (Uji *Mann Whitney*)

Tabel 2 . Hasil pengukuran diameter zona hemolisis pada pengamatan 18, 24, dan 48 jam yang ditanam di media ADDG dan ADMG dengan Preinkubasi dalam STHB

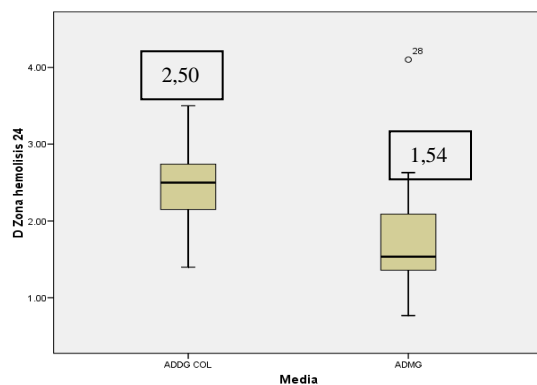
Variabel	Rerata± SB;	Median(Min- Maks)
ADDG		
-Diameter Zona	2,12 ±	2,15 (0,97 -
Hemolisis 18 Jam	0,68	3,70)
-Diameter Zona	2,48 ±	2,50 (1,40 -
Hemolisis 24 Jam	0,51	3,50)
-Diameter Zona	3,49 ±	3,38 (2,20 -
Hemolisis 48 Jam	0,93	5,67)
ADMG		
-Diameter Zona	1,52 ±	1,37 (0,37 -
Hemolisis 18 Jam	0,83	3,90)
-Diameter Zona	1,77 ±	1,54 (0,77 -
Hemolisis 24 Jam	0,79	4,10)
-Diameter Zona	1,87 ±	2,14 (1,03 -
Hemolisis 48 Jam	0,95	4,83)

*SD = Standar Deviasi



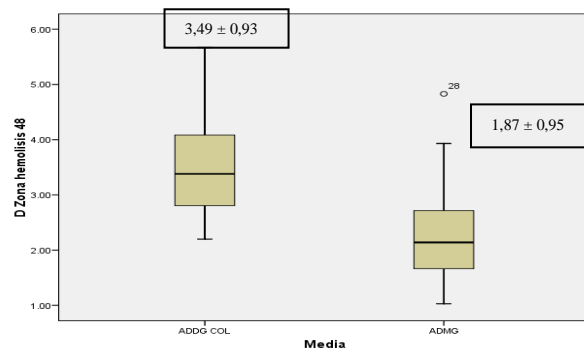
Gambar 7. Grafik Diameter Zona Hemolisis 18 Jam

Diameter zona hemolisis *S. pneumoniae* pada ADDG memiliki median yang lebih besar (2,15) daripada pertumbuhan pada ADMG dengan Preinkubasi dalam STHB (1,37). Hasil ini bermakna secara statistik dengan $p=0,014$ (Uji *Mann Whitney*)



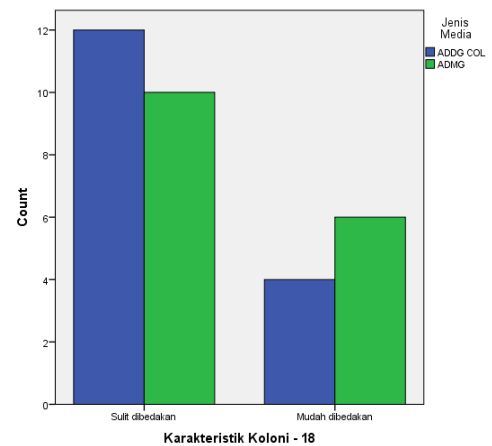
Gambar 8. Grafik Diameter Zona Hemolisis 24 Jam

Diameter zona hemolisis *S. pneumoniae* pada memiliki median yang lebih besar (2,50) daripada pertumbuhan pada ADMG dengan Preinkubasi dalam STHB (1,54). Hasil ini bermakna secara statistik dengan $p=0,002$ (Uji *Mann Whitney*).



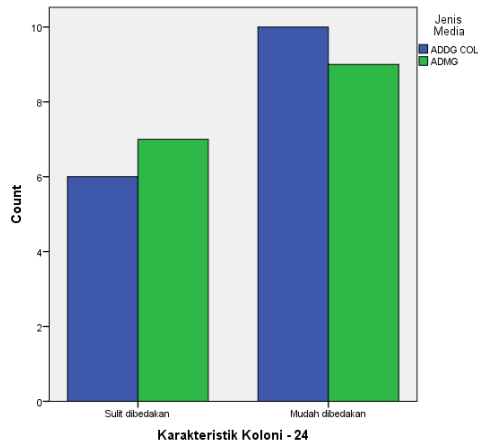
Gambar 9. Grafik Diameter Zona Hemolisis 48 Jam

Diameter zona hemolisis *S. pneumoniae* pada ADDG memiliki rata-rata lebih besar ($3,49 \pm 0,93$) daripada pertumbuhan pada ADMG ($1,87 \pm 0,95$). Hasil ini bermakna secara statistik dengan $p=0,002$ (Uji *Student T*)



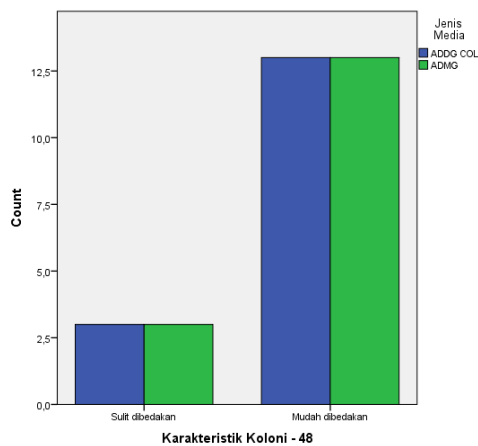
Gambar 10. Grafik Karakteristik koloni 18 jam.

Analisis bivariat perbandingan karakteristik pertumbuhan bakteri pada media ADDG dan ADMG dengan preinkubasi dalam STHB didapat nilai p sebesar 0,446 ($p > 0,05$) maka secara statistik terdapat perbedaan namun tidak signifikan antara karakteristik koloni di ADDG dengan koloni di ADMG dengan preinkubasi dalam STHB.



Gambar 11. Grafik Karakteristik koloni 24 jam.

Analisis bivariat perbandingan karakteristik pertumbuhan bakteri pada media ADDG dan ADMG dengan preinkubasi dalam STHB didapat nilai p sebesar 1,000 ($p > 0.05$) maka secara statistik terdapat perbedaan namun tidak signifikan antara karakteristik koloni di ADDG dengan koloni di ADMG dengan preinkubasi dalam STHB.



Gambar 12. Grafik Karakteristik koloni 48 jam.

Analisis bivariat perbandingan karakteristik pertumbuhan bakteri pada

media ADDG dan ADMG dengan preinkubasi dalam STHB didapat nilai p sebesar 1,000 ($p > 0.05$) maka secara statistik terdapat perbedaan namun tidak signifikan antara karakteristik koloni di ADDG dengan koloni di ADMG dengan preinkubasi dalam STHB.

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, jumlah sampel bakteri yang ditumbuhkan adalah sejumlah 54 sampel swab nasofaring balita sehat yang disimpan dalam STGG dicairkan terlebih dahulu kemudian dilakukan kultur pada 2 media agar darah yang berbeda. Masing-masing sampel dibagi menjadi 2 bagian. Bagian pertama sampel bakteri *S. pneumoniae* pada STGG sebelum dikultur, terlebih dahulu di inkubasi dalam media penyubur *Supplemented Todd Hewitt Broth* (STHB) selama 4-6 jam. Dalam penelitian ini, dilakukan preinkubasi karena pada penelitian yang dilakukan oleh Carvalho *et al*, pemberian media diperkaya (serum kelinci) pada media kultur dan PCR dapat meningkatkan isolasi dari *S.pneumoniae* dan dapat mendeteksi keberagaman dari serotipenya.⁹ Setelah waktu preinkubasi selesai, keseluruhan sampel baik dari bagian pertama maupun kedua diambil dan disteak pada 4 zona di media agar. Untuk memastikan bahwa bakteri yang tumbuh

adalah *S.pneumoniae* dilakukan pengecatan gram dan tes kepekaan optochin. Kemudian diambil 16 nomor sampel yang sudah dikonfirmasi menumbuhkan koloni *S.pneumoniae*.

Bakteri *S. pneumoniae* ditanam pada media ADDG dan ADMG dengan preinkubasi dalam STHB kemudian diamati pola pertumbuhannya dalam 18 jam, 24 jam dan 48 jam yang mencakup kuantitas koloni, diameter koloni, diameter hemolisis, dan karakteristik koloni *S. pneumoniae*.

Hasil dari pengamatan pertumbuhan koloni di 18, 24, dan 48 jam menunjukkan bahwa tidak adanya pertambahan kuantitas koloni di kedua media. Selain itu, tidak terdapat perbedaan bermakna kuantitas koloni di kedua media. Hal ini sejalan dengan penelitian Russell pada tahun 2006 yang mendapatkan hasil *S. pneumoniae* yang ditanam di media agar darah manusia standar tidak ada perbedaan bermakna dalam hal jumlah koloni dengan yang ditumbuhkan di agar darah domba.

Pada pengamatan pertumbuhan pada ADMG dengan preinkubasi dalam STHB menghasilkan koloni dengan diameter lebih besar dibandingkan dengan ADDG hanya saat pengamatan 18 jam. Dalam beberapa studi menyebutkan bahwa penggunaan darah manusia kurang dapat

menumbuhkan bakteri seperti *S. pyogenes* secara maksimal dibandingkan dengan ADD karena perbedaan ukuran sel darah merah domba dengan sel darah merah manusia, dalam penelitian ini menunjukkan hasil yang sebaliknya.^{5,7} Pertumbuhan *S. pneumoniae* didukung oleh penambahan *Todd Hewitt Broth* yang diperkaya dengan serum kelinci akan menambah pertumbuhan bakteri. Hal ini sesuai dengan yang dijelaskan Elliot dalam penelitiannya yang menyebutkan bahwa pertumbuhan pada media THB akan menambah pertumbuhan dan dapat mempertahankan protein M yang digunakan untuk mengelompokkan bakteri *Streptococcus* beta hemolitikus.^{10,11}

Dari hasil penelitian ini juga didapatkan hasil bahwa *S.pneumoniae* tumbuh paling cepat pada 18 jam pertama. Sedangkan pada pengamatan 24 jam dan 48 jam, diameter koloni tidak memiliki kenaikan yang signifikan. Hal ini dikarenakan selama 24 jam pertama, *S. pneumoniae* tumbuh dengan cepat. Pertumbuhan yang cepat ini, diikuti dengan akumulasi limbah yang cukup banyak. Akumulasi limbah inilah yang menghambat pertumbuhan *S. pneumoniae* pada 24 jam berikutnya. Dapat dijelaskan pula bahwa setelah mencapai 14 jam masa kultur, maka bakteri memasuki fase

stasioner. Dalam fase ini terdapat akumulasi limbah, kekurangan nutrisi, perubahan pH, dan perubahan faktor lain yang akan mendesak dan mengganggu biakan, sehingga bakteri mengalami penurunan kecepatan pertumbuhan.¹² Pada penelitian yang dilakukan oleh KJ Nye, dkk disebutkan bahwa pada inkubasi 48 jam *S. pneumoniae* yang dapat diisolasi meningkat, namun peningkatan ini bersifat lebih rendah daripada pada durasi inkubasi 24 jam. Oleh karena itu, pada pengamatan 48 jam rerata diameter koloni pada ADDG dan ADMG dengan preinkubasi dalam STHB menjadi hampir sama.¹³ Berbeda pada pengamatan 18 jam dimana bakteri mengalami fase lag dan fase eksponensial pada kurang dari 14 jam masa kultur dimana nutrisi masih tersedia lengkap sehingga pertumbuhan bakteri bersifat cepat sehingga pada fase ini.

Rerata diameter zona hemolisis pada pengamatan 18 jam, 24 jam, dan 48 jam pada ADDG memiliki perbedaan bermakna dengan rerata diameter koloni pada ADMG dengan preinkubasi dalam STHB. Diameter zona hemolisis ADDG dalam seluruh pengamatan lebih besar dibandingkan ADMG dengan preinkubasi dalam STHB. Hal ini disebabkan karena kecepatan lisis ADDG dipengaruhi karena darah domba memiliki kandungan

sphingomyelin yang lebih tinggi yaitu 51 % daripada darah manusia yang hanya 26 %. Selain itu faktor lain yang mempengaruhi mudahnya aktivitas lisis dari eritrosit domba adalah modulasi permukaan dari aktivasi jalur klasik yaitu pembentukan C2 dan C3 konvertase. Pada penelitian EJ Brown menyatakan bahwa EAC14 yang digunakan C2, sedikitnya 20 kali lebih cepat pada eritrosit domba dibanding eritrosit manusia dan marmut pada perlakuan yang sama dalam jumlah molekul C1 dan C4. Diameter eritrosit domba yang lebih kecil serta membran sel yang tipis juga memudahkan lisis dari darah domba.^{7,14} Dalam penelitian oleh Amali Abdat didapatkan hasil yang sama, yaitu kecepatan lisis *S. pneumoniae* pada media agar darah domba saat pengamatan 24 jam lebih cepat daripada yang ditanam di media agar darah manusia yang berasal dari packed red cell sehingga diameter zona hemolisis lebih besar. Secara substansial, perbedaan morfologi serta komposisi membran eritrosit antara darah domba dan darah manusia berbeda. Sel darah manusia lebih lebar dibanding dengan sel darah merah domba sehingga hal ini mempengaruhi kemampuan hemolisin *S.pneumoniae* dalam melisis sel darah merah manusia.¹⁵

Karakteristik koloni *S. pneumoniae* dinilai untuk membedakan dengan bakteri yang lain yang juga tumbuh pada media agar darah seperti *Staphylococcus aureus* dan kuman gram negatif (-) lain. *S. pneumoniae* pada agar darah berbentuk bulat kecil dengan diameter 1 mm, dikelilingi zona abu-abu kehijauan, pada 18 - 24 jam pertama koloni berbentuk kubah atau datar, tampak basah, tetapi pada 24 - 48 jam selanjutnya koloni akan semakin rata dan melekek pada bagian tengah.¹⁶ *S. pneumoniae* tumbuh dalam ADDG dan ADMG dengan karakteristik khas yang dimiliki dapat dibedakan dengan bakteri lain pada pengamatan 18 jam, 24 jam dan 48 jam. Pada penilaian karakteristik koloni, pengamatan 18 jam menunjukkan masih banyak koloni dalam plate yang sulit diidentifikasi karena cenderung masih berbentuk datar dan diameter kurang dari 1 mm. Pada pengamatan 24 jam masih menunjukkan penambahan jumlah sampel yang dapat diidentifikasi. Setelah 48 jam, karakteristik koloni dalam kedua media kultur pada pengamatan 48 jam sudah lebih dari 80% mudah dibedakan dengan koloni bakteri lain yang ikut tumbuh di plate agar. Hal ini sesuai dengan dengan penelitian KJ Nye, dkk yang menyarankan bahwa *S. pneumoniae* pada akan lebih baik

dilakukan pengamatan hingga 48 jam inkubasi karena karakteristik dan pola pertumbuhannya akan lebih jelas terlihat.¹³ Kelemahan dari penelitian ini adalah pada penelitian ini serotipe *S.pneumoniae* yang diinkubasi pada STHB tidak dapat diidentifikasi sehingga belum dapat membuktikan bahwa STHB dapat meningkatkan keberagaman deteksi serotipe dari *S.pneumoniae* yang berasal dari sampel swab nasofaring. Selain itu, ketebalan pada tiap media tidak selalu sama.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae* pada media agar darah manusia dengan preinkubasi dalam STHB dari spesimen swab nasofaring dibandingkan dengan media agar darah domba memiliki perbedaan dari kuantitas koloni, diameter koloni, diameter zona hemolisis dan karakteristik koloni, namun tidak bermakna.

Hipotesis awal yang diajukan tidak terbukti dimana pertumbuhan *S.pneumoniae* yang ditanam pada ADMG dan preinkubasi dalam STHB tidak lebih baik daripada yang ditanam pada ADDG tanpa preinkubasi STHB yang diukur dari kuantitas koloni, diameter koloni, diameter

zona hemolisis dan karakteristik tampilan koloni

Saran

Pada penelitian selanjutnya diharapkan untuk menggunakan bahan tambahan lainnya yang sekiranya dapat meningkatkan kemampuan untuk menumbuhkan *S.pneumoniae* dan adanya kontrol yang baik untuk ketebalan media.

DAFTAR PUSTAKA

1. CDC. Pneumococcal Disease [Internet]. [cited 2017 Feb 16]. Available from: <http://www.cdc.gov/vaccines/pubs/pinkbook/downloads/pneumo.pdf>
2. O'Brien KL, Wolfson LJ, Watt JP, Henkle E, Deloria-Knoll M, McCall N et al. Hib and pneumococcal global burden of disease study team. Lancet. 2009;893–902.
3. UNICEF. Sekitar 35 juta balita masih beresiko jika target angka kematian anak tidak tercapai [Internet]. [cited 2016 Feb 16]. Available from: https://www.unicef.org/indonesia/id/media_21393.html
4. Ehara N, Fukushima K, Kakeya H, Mukae H, Akamatsu S, Kageyama A, et al. A novel method for rapid detection of Streptococcus pneumoniae antigen in sputum and its application in adult respiratory tract infections. J Med Microbiol. 2008;57(7):820–6.
5. Magbojos CR, Aro RS, Caringal MC, Castillo MM, Llanes DA, Sumaray KD. Preparation of the Blood-Enriched Agar with the Use of Red Cell Suspension. Asian J Heal [Internet]. 2011;1(1):259–75. Available from: <http://dx.doi.org/10.7828/ajoh.v1i.168>
6. Anand C, Gordon R, Shaw H, Fonseca K, Olsen M. Pig and goat blood as substitutes for sheep blood in blood-supplemented agar media. J Clin Microbiol. 2000;38(2):591–4.
7. Yeh E, Pinsky BA, Banaei N, Baron EJ, Russell F, Biribo S, et al. Hair Sheep Blood, Citrated or Defibrinated, Fulfills All Requirements of Blood Agar for Diagnostic Microbiology Laboratory Tests [Internet]. Vol. 4, PLoS ONE. 2009. p. e6141. Available from:<http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0006141>
8. Ts C. Malila Noone Penicillin-resistant. 1990;317–9.
9. Carvalho MDG, Pimenta FC, Jackson D, Roundtree A, Ahmad Y, Millar E V., et al. Revisiting pneumococcal carriage by use of broth enrichment and PCR techniques for enhanced

- detection of carriage and serotypes. *J Clin Microbiol.* 2010;48(5):1611–8.
10. Elliott BYSD. A PROTEOLYTIC ENZYME PRODUCED BY GROUP A STREPTOCOCCUS (From the Hospital of The Rockefeller Institute for Medical Research). 1945;573–92.
11. Remel. Todd Hewitt Broth [Internet]. 2008 [cited 2017 Feb 16]. p. 6730. Available from: <https://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/IFU64800.pdf>
12. Indonesian Aquaculture Society. Viabilitas Keringan Beku Bakteri Asam Laktat untuk Inokulan Probiotik Pakan Ikan [Internet]. 2012 [cited 2017 Sep 16]. Available from: http://aquaculture-mai.org/?option=com_content&view=article&id=210%3Aviabilitas-keringan-beku-bakteri-asam-laktat-untuk-inokulan-probiotik-pakan-ikan-&catid=1%3Alatest-news&Itemid=1
13. Nye K, Fallon D, Gee B, Messer S, Warren R, Andrews N. A Comparison of Blood Agar Supplemented with NAD with Plain Blood Agar and Chocolate Blood Agar in the Isolation of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* from sputum. *J Med Microbiol.* 1998;48:1111–4.
14. Brown EJ, Ramsey J, Hammer CH. Surface modulation of classical pathway activation: C2 and C3 convertase formation and regulation on sheep, guinea pig, and human erythrocytes. *J Immunol* [Internet]. 1983; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/secure/sci-hub.cc/pubmed/6602833>
15. Abdat A. PERTUMBUHAN *Streptococcus pneumoniae* PADA AGAR DARAH MANUSIA DAN AGAR DARAH DOMBA. Universitas Diponegoro; 2010.
16. Kenneth Todar PhD. *Streptococcus pneumoniae* [Internet]. [cited 2017 Feb 16]. Available from: <http://textbookofbacteriology.net/S.pneumoniae.html>