

UJI ANGKA LEMPENG TOTAL TERHADAP DARAH ALSEVER BUATAN UNTUK PEMERIKSAAN MIKROBIOLOGI

Dewi, Tita Nurul Aulia¹; Nurhayati, Dewi¹; Kurniati, Iis¹; Dermawan, Asep¹

¹Jurusan Analisis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Bandung

Email: titanurul.ad18@gmail.com

ABSTRAK

Jenis spesimen yang diperiksa ditentukan oleh gambaran klinis yang tampak. Jika gejala-gejala mengarah pada keterlibatan satu sistem organ, maka spesimen diambil dari sumber tersebut. Jika tidak ada tanda atau gejala yang terlokalisir, maka pertamanya diambil sampel darah berulang untuk biakan. Di luar tubuh (in vitro) darah akan mengalami pembekuan karena kondisinya berbeda dengan kondisi didalam tubuh. Sehingga perlu dilakukan penambahan antikoagulan atau larutan pengawet darah dan di simpan pada suhu 2-8°C. Penambahan pengawet darah juga dilakukan untuk menghindari atau meminimalisir kontaminasi bakteri. Salah satu pengawet darah yang dapat digunakan yaitu larutan Alsever. Larutan Alsever pabrikan relatif mahal dan cukup sulit didapatkan. Namun terdiri dari bahan-bahan yang mudah didapatkan, sehingga dapat dibuat larutan Alsever buatan. Tujuan penelitian ini adalah untuk melihat ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri pada darah Alsever buatan, dan berapa lama waktu simpan darah Alsever buatan pada suhu ruang dan suhu refrigerator dapat meminimalisir kontaminasi bakteri. Telah dilakukan uji Angka Lempeng Total (ALT) pada darah dengan penambahan Alsever buatan, dengan desain penelitian quasi eksperimen. Hasil penelitian menunjukkan terdapat pertumbuhan bakteri namun masih dalam kategori negatif. Larutan Alsever buatan dapat meminimalisir kontaminasi bakteri sampai jam ke-72 atau 3 hari baik pada suhu refrigerator maupun suhu ruang.

Kata Kunci : Larutan Alsever, Darah, Kontaminasi Bakteri, Angka Lempeng Total

ABSTRACT

The type of specimen examined is determined by the visible clinical picture. If the symptoms lead to the involvement of one organ system, then the specimen is taken from the source. If there are no localized signs or symptoms, repeated blood samples are taken for culture first. Outside the body (in vitro) blood will experience clots because the conditions are different from the conditions in the body. So it is necessary to add anticoagulants or blood preservative solutions and store at a temperature of 2-8°C. The addition of blood preservatives is also done to avoid or minimize bacterial contamination. One of the blood preservatives that can be used is Alsever's solution. The manufacturer's Alsever solution is relatively expensive and quite difficult to obtain. But it consists of ingredients that are easily available, so that an artificial Alsever solution can be made. The aim of this study was to see whether or not there was bacterial growth in artificial Alsever's blood, and how long the stored blood of artificial Alsever at room temperature and refrigerator temperature could minimize bacterial contamination. Tests of Total Plate (ALT) in blood have been carried out with the addition of artificial Alsever, with a quasi-experimental research design. The results showed that there was bacterial growth but still in the negative category. Artificial Alsever solutions can minimize bacterial contamination until 72 hours or 3 days both at refrigerator temperature and room temperature.

Keywords : Alsever Solution, Blood, Bacterial Contamination, Total Plate Count

PENDAHULUAN

Pemeriksaan mikrobiologi berkenaan dengan diagnosis etiologi infeksi, meliputi identifikasi agen secara morfologis, isolasi biakan, dan identifikasi agen. Jenis spesimen yang diperiksa ditentukan oleh gambaran klinis yang tampak. Jika gejala-gejala mengarah pada keterlibatan satu sistem organ, maka spesimen diambil dari sumber tersebut. Jika tidak ada tanda atau gejala yang terlokalisir, maka pertama-tama diambil sampel darah berulang untuk biakan.¹

Darah terdiri dari sel-sel dan cairan khusus, terdiri dari 45% eritrosit, 54% plasma dan kurang dari 1% trombosit dan leukosit. Didalam tubuh (in vivo), eritrosit hidup selama 120 hari, sedangkan di luar tubuh (in vitro) darah akan mengalami pembekuan karena kondisinya berbeda dengan kondisi didalam tubuh. Sehingga harus dilakukan penambahan antikoagulan atau pengawet darah dan disimpan pada suhu antara 2-6° C untuk mempertahankan kelangsungan hidup sel dan fungsinya.^{2,3}

Selain untuk menghindari pembekuan, penambahan pengawet darah juga dilakukan untuk menghindari atau meminimalisir kontaminasi bakteri, mengingat bahwa darah merupakan media yang baik untuk pertumbuhan bakteri.² Bakteri kontaminan bisa berasal dari kulit yang masuk kedalam unit darah selama pengumpulan darah (biasanya *Staphylococci*), penanganan yang tidak benar selama proses darah, atau disebabkan karena adanya kerusakan pada kantong darah.⁴

Beberapa kontaminan terutama spesies *Pseudomonas*, tumbuh pada 2°C – 6°C dan dapat bertahan hidup atau berkembang biak dalam unit sel darah merah yang didinginkan.

Staphylococcus tumbuh dalam kondisi yang lebih hangat dan dapat berproliferasi pada platelete concentrate yang disimpan pada suhu 20°C – 24°C.⁴

Salah satu pengawet darah yang dapat digunakan yaitu larutan Alsever. Dimana komposisinya terdiri dari dekstrosa, natrium sitrat, asam sitrat dan natrium klorida, dan memungkinkan penyimpanan darah sampai 10 minggu pada suhu refrigerator.⁵ Namun, larutan Alsever komersil cukup sulit didapatkan dan harganya yang relatif mahal.

Sebelumnya, telah dilakukan penelitian penggunaan Alsever buatan sebagai pengawet darah simpan dan memiliki stabilitas sampai 15 hari ditinjau dari kadar hemoglobin, nilai hematokrit, dan indeks eritrosit.⁶ Namun belum diketahui berapa lama larutan alsever buatan tersebut dapat meminimalisir pertumbuhan bakteri akibat kontaminasi pada darah.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah terdapat pertumbuhan bakteri pada darah dengan pengawet Alsever buatan. Untuk mengetahui berapa waktu simpan darah dengan pengawet alsever buatan dapat meminimalisir pertumbuhan bakteri pada suhu refrigerator dan suhu ruang.

METODE

Metode penelitian ini yaitu quasi eksperimen (eksperimen semu) 12 perlakuan, yaitu pengaruh suhu (suhu refrigerator dan suhu ruang) dan lama simpan (12, 24, 36, 48, 60 dan 72 jam) terhadap pertumbuhan bakteri pada darah simpan dengan pengawet Alsever buatan yang kemudian hasil di analisis menggunakan tabel berdasarkan jumlah koloni yang tumbuh pada setiap cawan petri.

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Kampus

Analisis Kesehatan Poltekkes Kemenkes RI Bandung pada bulan April hingga Mei 2019.

Pengumpulan data dilakukan dengan menggunakan data primer dari hasil pemeriksaan ALT pada darah simpan Alsever buatan. Dimana sampel diambil dari 1 orang sebanyak 10 mL darah manusia dengan kondisi tubuh yang sehat, tidak memiliki riwayat penyakit infeksi akibat bakteri dan tidak mengonsumsi antibiotik atau sedang dalam masa pengobatan. Sampel darah yang telah diambil ditambahkan larutan Alsever buatan dengan perbandingan 1:1. Sampel disimpan pada suhu refrigerator dan suhu ruang. Sampel diinokulasikan pada media PCA pada jam ke-12, 24, 36, 48, 60 dan 72 yang kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pemeriksaan dilakukan dengan dua kali pengulangan (duplo) yang didapatkan berdasarkan perhitungan rumus Gomez. Koloni bakteri yang dapat dihitung adalah yang jumlahnya lebih dari 30 koloni dan kurang dari 300 koloni setiap cawan petri.

HASIL

Hasil pemeriksaan uji ALT pada darah dengan penambahan larutan Alsever buatan dilakukan dengan dua kali pengulangan baik yang disimpan pada suhu refrigerator maupun suhu ruang yang diperiksa pada jam ke-12, 24, 36, 48, 60, dan 72 yang disajikan dalam tabel 1 dan tabel 2.

Pada tabel 1 menunjukkan hasil pemeriksaan uji ALT darah Alsever buatan pada suhu ruang. Dimana mulai dari pemeriksaan pada penyimpanan 0 jam sampai penyimpanan 72 jam menunjukkan hasil yang negatif baik pada pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , dan 10^{-3} . Koloni yang tumbuh hanya dalam rentang 1-4 koloni. Sedangkan pada tabel 2 menunjukkan hasil pemeriksaan uji ALT darah Alsever buatan pada refrigerator. Dimana hasilnya tidak jauh berbeda dengan hasil pemeriksaan pada ALT pada suhu ruang. Hasil pemeriksaan pada penyimpanan 12 sampai 72 jam menunjukkan hasil yang negatif baik pada pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , dan 10^{-3} , dengan koloni yang tumbuh hanya dalam rentang 1-4 koloni saja dalam setiap cawan petri. Cawan petri yang dapat dihitung adalah cawan petri dengan jumlah koloni yang lebih dari 30 dan kurang dari 300 koloni.

Tabel 1 Hasil pemeriksaan uji ALT darah Alsever buatan pada suhu ruang

Suhu	Pengulangan	Pengenceran	Waktu Simpan (jam)						
			0	12	24	36	48	60	72
Ruang	1	10^{-1}	0	0	0	0	3	0	0
		10^{-2}	0	1	0	1	4	1	0
		10^{-3}	1	0	1	1	0	2	0
	2	10^{-1}	0	1	0	2	0	1	0
		10^{-2}	4	0	1	1	0	3	0
		10^{-3}	0	0	1	0	0	2	0

Tabel 2 Hasil pemeriksaan uji ALT darah Alsever buatan pada suhu refrigerator

Suhu	Pengulangan	Pengecekan	Waktu Simpan (jam)					
			12	24	36	48	60	72
Refrigerator	1	10 ⁻¹	2	0	1	0	2	0
		10 ⁻²	0	0	3	0	1	0
		10 ⁻³	0	0	0	0	0	0
	2	10 ⁻¹	0	0	3	0	1	0
		10 ⁻²	0	0	3	0	1	0
		10 ⁻³	1	0	1	0	0	0

PEMBAHASAN

Larutan Alsever merupakan larutan yang secara rutin digunakan sebagai antikoagulan dan pengawet darah, baik darah utuh maupun sel darah merah. Dimana masa penyimpanan maksimalnya bisa mencapai 10 minggu jika disimpan pada suhu refrigerator. Namun, pada penelitian ini larutan Alsever yang digunakan berupa larutan Alsever buatan dengan waktu simpan yang digunakan hanya sampai 72 jam (3 hari), serta disimpan pada suhu refrigerator dan suhu ruang untuk melihat apakah larutan Alsever buatan tersebut dapat meminimalisir bakteri kontaminan atau tidak baik pada suhu refrigerator maupun suhu ruang, yang kemudian diperiksa dengan menggunakan uji ALT.

Hasil penelitian menunjukkan hasil negatif, meskipun pada beberapa plate (cawan petri) terdapat pertumbuhan koloni, namun jumlah koloni tersebut tidak dapat dihitung, karena jumlah koloni bakteri yang tumbuh hanya dalam rentang 1-4 koloni saja. Dimana pada uji ALT yang dapat dihitung adalah cawan petri yang dengan pertumbuhan koloni lebih dari 30 koloni dan kurang dari 300 koloni bakteri. Koloni bakteri yang tumbuh berbentuk bulat, berwarna putih, dan berukuran sangat kecil ($\pm 1 - 2$ mm).

Pada beberapa cawan petri terdapat koloni yang dicurigai

sebagai koloni *Bacillus sp.*, koloni berbentuk bulat dengan tepi tak beraturan, berwarna putih, dengan ukuran ± 40 mm dan ± 10 mm. Hal tersebut dicurigai terjadi karena adanya kontaminasi dari udara pada saat proses pengerjaan uji ALT.

Larutan Alsever buatan ini terdiri dari 2,05% glukosa, 0,8% trisodium sitrat, 0,055% Asam sitrat monohidrat, 0,4% NaCl dan 100 mL aquadest. Dimana sebelum digunakan, larutan Alsever telah dilakukan sterilisasi pada autoclave. sehingga dapat dipastikan bahwa larutan Alsever buatan tersebut steril.

Natrium klorida (NaCl) sering dimanfaatkan untuk membatasi dan mencegah pertumbuhan bakteri, namun pada penelitian ini konsentrasi NaCl yang digunakan hanya 0,4%, sehingga tidak dapat menghambat tumbuhnya bakteri. NaCl disini berperan untuk menjaga tekanan osmotik sel darah.

Bahan-bahan lain yang digunakan untuk pembuatan larutan Alsever yaitu Glukosa yang berfungsi sebagai bahan metabolisme sel darah, Trisodium sitrat berperan sebagai antikoagulan dan Asam Sitrat Monohidrat berperan sebagai buffer pH darah.

Zat kimia trisodium sitrat dan asam sitrat monohidrat juga digunakan sebagai pengawet, karena dapat meminimalisir kontaminasi bakteri. Sehingga

dicurigai sedikitnya pertumbuhan koloni pada darah Alsever buatan tersebut diminimalisir dengan adanya trisodium sitrat dan asam sitrat monohidrat. Kemungkinan lain dari sedikitnya koloni bakteri yang tumbuh adalah antibodi alami yang masih terdapat dalam darah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, karena darah yang digunakan dalam penelitian ini merupakan darah utuh, bukan dalam bentuk *Wash Red Cell* (WRC).

Larutan Alsever dapat menjadi memiliki efek bakterisidal pada konsentrasi rendah dari strain *Serratia liquenfaciens* (10^2 CFU/mL) yang berasal dari supernatan RBC yang sudah disimpan beberapa hari, dengan dilakukan modifikasi yaitu menambahkan antibiotik pada larutan Alsever.⁷ Darah dengan pengawet larutan Alsever buatan dengan penambahan antibiotik dapat stabil sampai hari ke-21 jika ditinjau dari parameter eritrosit.⁸

Pada penelitian ini tidak dilakukan pewarnaan maupun identifikasi bakteri, sehingga tidak dapat diketahui jenis bakteri yang tumbuh pada beberapa cawan petri tersebut. Pada penelitian ini juga tidak dilakukan pemeriksaan kontrol bakteri yang bersifat septikeri (bakteri yang dapat menyebabkan infeksi yang dapat ditemukan pada darah) atau penyebab sepsis.

Bakteri kontaminan terutama yang berasal dari kulit pada saat pengambilan sampel cukup dapat mempengaruhi pemeriksaan mikrobiologi pada darah. Bakteri kontaminan tersebut kemungkinan dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen yang dicurigai terdapat pada darah yang disebabkan akibat adanya infeksi, karena bakteri kulit (flora normal) memiliki kemampuan untuk menghasilkan asam lemak yang dapat mencegah invasi spesies lain.

Maka meminimalisir kontaminasi bakteri perlu dilakukan.

KESIMPULAN

Terdapat pertumbuhan bakteri namun masih termasuk negatif, baik pada suhu ruang maupun pada suhu refrigerator. Larutan Alsever buatan dapat meminimalisir kontaminasi bakteri sampai jam ke-72 atau tiga hari pada sampel darah alsever yang disimpan pada suhu ruang dan suhu refrigerator.

Disarankan untuk penelitian selanjutnya dapat dilakukan penelitian dengan memperpanjang waktu simpan, dapat juga dilakukan pemeriksaan kontrol bakteri dengan menggunakan bakteri yang biasanya terdapat dalam darah akibat adanya infeksi (sepsis). Dilakukan penelitian dengan menggunakan darah dalam bentuk *Wash Red Cell* (WRC)

DAFTAR RUJUKAN

1. Brooks, G., Butel, J., & Morse, S. (2005). *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Mikrobiologi Kedokteran (Medical Microbiology)* (2nd ed.). (D. D. Sjabana, Ed., & d. N. Wldorini, Trans.) Salemba Medika.
2. World Health Organization. (2005). *Safe Blood and Blood Products: Manual on the Management, Maintenance and Use of Blood Cold Chain Equipment*. Switzerland: WHO.
3. AABB. (2005). *Technical Manual* (15th ed.). United States: AABB.
4. WHO. *Clinical Transfusion Practice: Guidelines for Medical Interns*. WHO.
5. Lorne Laboratories. (2017). *Significance of Alsever's Solution*. Retrieved 09 24, 2018, from Lorne Laboratories: <https://www.lornelabs.com/news>

- [-events/blog/significance-of-alsevers-solution](#)
6. Asmiwati, R. (2017). *Uji Stabilitas Darah Simpan dalam Larutan Alsever Buatan Ditinjau dari Kadar Hemoglobin, Nilai Hematokrit Jumlah dan Indeks Eritrosit*. Skripsi D-IV Analisis Kesehatan Bandung.
 7. Martincic, I., Mastronardi, C., Chung, A., & Ramirez-Arcos, S. (2008). *Unexplained Agglutination of Stored Blood Cells in Alsever's Solution caused by The Gram-Negative Bacterium Serratia liquefaciens*. PubMed.
 8. Juliastuti, A. (2018). *Uji Stabilitas Parameter Eritrosit Darah Simpan dalam Larutan Alsever Buatan dengan Penambahan Antibakteri*. D-IV Analisis Kesehatan Bandung.