

# **POLA PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus* PADA MEDIA AGAR DARAH MANUSIA GOLONGAN O, AB, DAN DARAH DOMBA SEBAGAI KONTROL**

Dwi Krihariyani<sup>1</sup>, Evy Diah Woelansari<sup>1</sup>, Entuy Kurniawan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Poltekkes Kemenkes Surabaya

<sup>2</sup>Poltekkes Kemenkes Bandung

Email: dkrihariyani@yahoo.co.id

## **ABSTRACT**

*Blood Agar Plate (BAP) with sheep blood is the medium used for the identification and isolation of the bacterium Staphylococcus aureus. Because to produce is difficult, but is needed in health education institutions, BAP then used media as a human blood substitute. This study was to observe the pattern of growth of Staphylococcus aureus in media BAP human blood group O, AB and the blood of the sheep as a controle. With the aim to test the feasibility of using human blood group O and AB as essential compounds in the manufacture of a blood substitute sheep BAP media. Staphylococcus aureus growth patterns observed macroscopically to colony morphology, the number of colonies, and the diameter of the haemolysis zone. The suspension of bacteria used were pure cultures of Staphylococcus aureus (ATCC 25923) which is synchronized with Mc Farland 0.5 Standart solution, then do thinning  $10^{-2}$ . The suspension of bacteria that are already experiencing thinning planted in the media BAP human blood group O, AB and sheep blood each at 9 petri dish. From the observation of colony morphology, the number of colonies, and the diameter of the zone of haemolysis performed statistical tests using Kruskal Wallis test values obtained Asymp. Sig of 0.352 for the number of colonies and haemolysis zone diameters greater than (0.05), which means there is no significant difference between the growth pattern of Staphylococcus aureus in media BAP using human blood group O, AB and sheep blood as a medium BAP controle.*

*Keywords: BAP, haemolysis, colony count, Staphylococcus aureus*

## **ABSTRAK**

*Media agar darah domba adalah media yang digunakan untuk identifikasi dan isolasi bakteri Staphylococcus aureus. Namun karena pengadaanya yang cukup sulit, tetapi sangat dibutuhkan pada instansi pendidikan kesehatan maka digunakan media agardarah manusia sebagai penggantinya. Penelitian ini untuk mengamati pola pertumbuhan Staphylococcus aureus pada media agar darah manusia golongan O, AB dan darah domba sebagai kontrol. Dengan tujuan untuk menguji kelayakan penggunaan darah manusia golongan O dan AB sebagai senyawa esensial dalam pembuatan media agar darah pengganti darah domba. Pola pertumbuhan Staphylococcus aureus diamati secara makroskopis terhadap morfologi koloni, jumlah koloni, dan diameter zona hemolisa. Suspensi bakteri yang digunakan adalah biakan murni Staphylococcus aureus (ATCC 25923) yang disetarakan dengan larutan Standart Mc Farland 0,5, kemudian dilakukan penipisan  $10^{-2}$ . Suspensi bakteri yang sudah mengalami penipisan ditanam pada media agar darah manusia golongan O, AB dan darah domba masing-masing pada 9 cawan petri. Dari hasil pengamatan terhadap morfologi koloni, jumlah koloni, dan diameter zona hemolisa dilakukan uji statistik*

*menggunakan Kruskal Wallis Test didapatkan nilai Asymp. Sig sebesar 0.352 untuk jumlah koloni dan diameter zona hemolisa lebih besar dari (0.05) yang berarti tidak ada perbedaan signifikan antara pola pertumbuhan bakteri Staphylococcus aureus pada media agar menggunakan darah manusia golongan O, AB dan darah domba sebagai media BAPkontrol.*

*Kata kunci : Media agar darah, Hemolisa, Hitung koloni, Staphylococcus aureus*

## **PENDAHULUAN**

Media pertumbuhan mikroorganisme adalah suatu bahan yang terdiri dari campuran zat-zat makanan (nutrisi) yang diperlukan mikroorganisme untuk pertumbuhannya. Mikroorganisme memanfaatkan nutrisi media berupa molekul-molekul kecil yang dirakit untuk menyusun komponen sel. Isolasi mikroorganisme untuk menjadi kultur murni dapat dilakukan dengan menggunakan media pertumbuhan (Tenny O, 2014).

Darah domba adalah senyawa esensial yang digunakan untuk pembuatan media agar darah, dan media ini menjadi media standar untuk isolasi bakteri yang mempunyai kemampuan untuk menghemolisa darah. Media agar darah mengandung darah mamalia (umumnya domba) yang tidak beku sebanyak 5-10%. Penambahan darah tersebut bertujuan untuk mempersubur perbenihan dan untuk menumbuhkan bakteri yang sukar tumbuh pada perbenihan biasa. Disamping itu media ini dapat membedakan sifat-sifat bakteri, kemampuan bakteri menghancurkan eritrosit (Entjang, 2003).

Darah domba wol (*Wool Sheep*) di negara seperti Indonesia tidak mudahdidapatkan, karena domba wol

sulit dikembangbiakkan dan tidak dapat hidup beradaptasi dengan iklim tropis seperti iklim di Indonesia. Oleh karena itu, sebagai alternatif digunakan darah manusia sebagai senyawa esensial untuk pembuatan mediaagar darah (Entjang, 2003, Abdat, 2010). Darah manusia yang digunakan adalah golongan darah O dan AB, karena golongan darah ini mempunyai perbedaan dalam hal susunan antigennya. Sehingga perlu dilakukan uji kelayakan penggunaan darah manusia golongan O dan AB sebagai senyawa esensial dalam pembuatan media agar darah, pengganti darah domba.

Perbenihan bakteri bermanfaat untuk mengidentifikasi bakteri penyebab penyakit, keperluan pengobatan, jika ditanam pada biakan murni dapat digunakan untuk mempelajari sifat-sifat dari setiap jenis bakteri dan untuk keperluan industri dapat digunakan sebagai awal dari pembuatan antibiotik (Russell, 2006).

Nutrien dalam media perbenihan yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri yaitu sumber energi, sumber karbon, sumber nitrogen, pH 7,2-7,6, potensial oksidasi-reduksi yang tepat, garam-garam sulfat, fosfat, dan lain-lain

Umumnya bahan yang digunakan untuk kebanyakan media mikrobiologi adalah agar, polisakarida asam yang diekstrak dari alga merah tertentu (Jawetz dkk, 2005).

*Staphylococcus aureus* merupakan sel berbentuk bola dengan garis tengah sekitar 1  $\mu\text{m}$  dan tersusun dalam kelompok-kelompok tak beraturan. Pada biakan cair tampak juga kokus tunggal, berpasangan, berbentuk tetrad dan berbentuk rantai. Kokus muda bersifat gram positif kuat, sedangkan pada biakan yang lebih tua, banyak sel menjadi gram negatif. *Staphylococcus aureus* tidak bergerak dan tidak membentuk spora. Oleh pengaruh obat-obat seperti penisilin, *Staphylococcus aureus* dilisiskan (Jawetz, dkk 2005).

Suhu optimal untuk membiakkan *Staphylococcus* adalah 28-38<sup>0</sup>C atau sekitar 35<sup>0</sup>C, namun pembentukan pigmen yang paling baik adalah pada suhu kamar (20 °C – 25 °C). Apabila bakteri tersebut diisolasi dari seorang penderita, suhu optimal yang diperlukan adalah 37<sup>0</sup>C. pH Optimal untuk pertumbuhan *Staphylococcus aureus* adalah 7,4. Pada umumnya *Staphylococcus* dapat tumbuh pada medium-medium yang biasa dipakai di laboratorium bakteriologi, misalnya

sebagai berikut : 1. *Nutrient Agar Plate*. Medium tersebut penting untuk mengetahui adanya pembentukan pigmen dan *Staphylococcus aureus* akan membentuk pigmen berwarna kuning emas. Koloni yang tumbuh berbentuk bulat, berdiameter 1-2 mm, konveks dengan tepi rata, permukaan mengkilat dan konsistensi lunak. 2. *Media agar darah*. Untuk pertumbuhan optimum bakteri *Staphylococcus* diperlukan 11 asam amino. Bakteri ini juga tidak dapat tumbuh pada media sintetik yang tidak mengandung asam amino atau protein. Selain asam amino atau protein, *Staphylococcus* juga memerlukan vitamin misalnya : threonin, asam nikotinat dan biotin. Pada media agar darah, kebutuhan akan protein tercukupi dengan adanya penambahan darah. Darah yang biasanya digunakan adalah darah mamalia. Koloni yang tumbuh tampak besar, sedang, kecil, berwarna putih hingga kekuningan, cembung, permukaan mengkilat dan pada galur yang ganas biasanya memberikan zona hemolisa yang jernih di sekitar koloni yang mirip dengan koloni *Streptococcus S-hemolyticus* (Sjoekoer dkk, 2003).

## METODE

Dalam penelitian ini menggunakan eksperimen laboratoris. Pengamatan terhadap pola pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada media agar darah dengan menggunakan senyawa esensial darah manusia golongan O, AB dan darah domba dilakukan pengamatan secara makroskopis terhadap morfologi koloni, jumlah koloni, dan diameter zona hemolisa.

Bahan Penelitian : Sampel yang digunakan adalah media agar darah base (Oxoid) yang ditambahkan 5% darah manusia golongan O, AB, dan darah domba. Menggunakan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) yang disetarakan dengan larutan standart Mc.Farland 0,5 (150 juta koloni bakteri) dan dilakukan penipisan  $10^{-2}$ .

Data diperoleh dari pengamatan secara makroskopis terhadap morfologi koloni, menghitung jumlah koloni, dan mengukur diameter zona hemolisa koloni yang tumbuh pada media agar darah yang menggunakan senyawa esensial darah manusia golongan O, AB, dan darah domba kemudian diinkubasi  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24 dan 48 jam.

Pengambilan darah pada manusia : Lokasi : Vena mediana cubiti. Diambil darah vena sebanyak 10 ml dan dilakukan defibrinasi.

Pembuatan media agar darah :  
Komposisi Media Agar Darah: Nutrient substrate 40 gram : sebagai sumber energi / nutrisi bagi bakteri ; Natrium chloride (Merck) 5% (v/w) : sebagai pengatur kesetimbangan tekanan osmosis ; Agar 15% : sebagai bahan pematat media.

Prosedur pembuatan media agar darah: Menimbang 40 gram *Blood Agar Base* (Oxoid). Selanjutnya ditambahkan aquades hingga 1000 ml, dan disterilkan dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$ . Setelah keluar dari autoklaf dibiarkan sampai suhunya mencapai  $45^{\circ}$ - $50^{\circ}\text{C}$  atau hangat kemudian menambahkan darah manusia golongan O, AB, dan darah domba steril yang sudah didefibrinasi masing-masing sebanyak 7 % kemudian dituang pada cawan petri masing-masing 9 petri sebanyak 15 ml.

Pengenceran dan penanaman pada media percobaan : Inokulasi bakteri dipersiapkan dengan cara mensuspensikan bakteri *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) ke dalam  $\pm 1$  ml Pz. Kemudian disetarakan dengan standart Mc.Farland 0,5 (0,5 ml  $\text{BaCl}_2$  1,175% + 99,5 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1%). Jika terlalu keruh bisa ditambahkan Pz steril

dan jika terlalu jernih bisa ditambahkan suspensi bakteri hingga kekeruhan sebanding dengan kekeruhan standart Mc.Farland<sup>0,5</sup>. Suspensi bakteri kemudian dibuat penipisan  $10^{-2}$  dengan Pz steril sebagai pengencer. Suspensi  $10^{-2}$  ditanam sebanyak 1 ose standart pada 1 plate media agar darah domba sebagai kontrol dan masing-masing plate media agar darah manusiagolongan O dan AB dengan cara *streak plate* pada 9 plate. Menggunakan metode *streak plate* (Prinsip metode ini yaitu mendapatkan koloni yang benar-benar terpisah dari koloni yang lain, sehingga mempermudah proses isolasi). Menginkubasi selama 24 dan 48 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ . Mengamati morfologi koloni yang tumbuh. Menghitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh dengan mempunyai ciri-ciri *Staphylococcus aureus* dan tumbuh berpencah satu-satu. Mengukur diameter zona hemolisa yang terbentuk. Metode

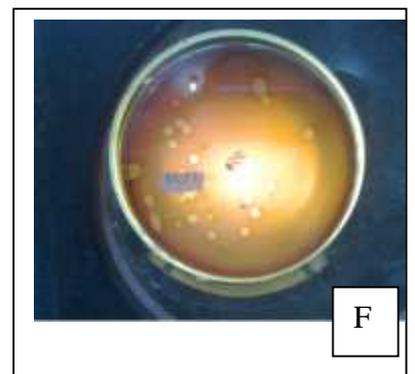
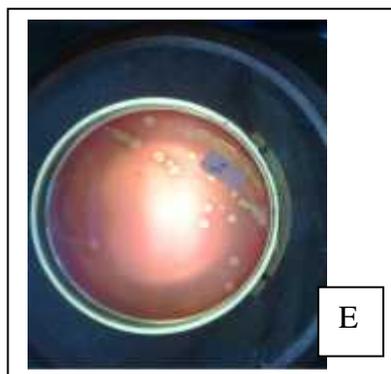
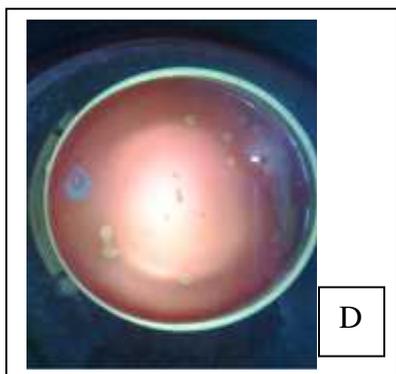
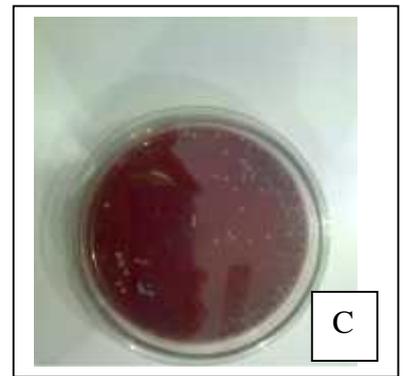
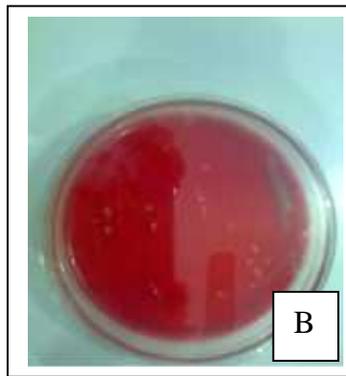
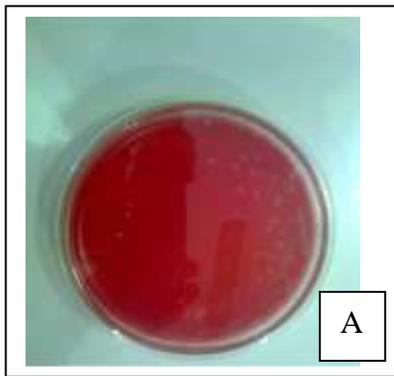
Analisa Data. Data dianalisa menggunakan Uji *Kruskal Wallis*.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan terhadap morfologi koloni, menghitung jumlah koloni, dan mengukur diameter zona hemolisa yang terbentuk pada media agar darah menggunakan senyawa esensial darah manusia golongan O, AB, dan darah domba. Hasil pengamatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* adalah berkoloni satu-satu, kecil, bulat, halus, berpigmen putih pada masa inkubasi 24 jam dan berukuran sedang serta berpigmen putih kekuningan pada masa inkubasi 48 jam serta dihitung koloninya. Di sekeliling koloni tampak daerah terang yang berarti menghemolisa. Hemolisa yang terbentuk di antara keduanya adalah sama, yaitu -hemolisa, seperti pada tabel dibawah ini.

**Tabel 1**  
**Hasil rata-rata perhitungan jumlah koloni, morfologi koloni, dan diameter zona hemolisa**

Senyawa Esensial	Rata-rata Jumlah Koloni	Rata-rata Morfologi Koloni	Rata-rata Jumlah Koloni	Rata-rata Morfologi Koloni	Rata-rata Diameter Zona Hemolisa
	24 Jam		48 Jam		
Darah manusia golongan O	113	Putih, cembung berukuran kecil	128	Putih kekuningan, cembung berukuran sedang	0,3
Darah manusia golongan AB	104	Putih, cembung berukuran kecil	102	Putih kekuningan, cembung berukuran sedang	0,3
Darah Domba	122	Putih, cembung berukuran kecil	133	Putih kekuningan, cembung berukuran sedang	0,3



Gambar 1. Pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus*

Keterangan :

- A = Media agar darah manusia golongan O dengan waktu inkubasi 24 jam
- B = Media agar darah manusia golongan AB dengan waktu inkubasi 24 jam
- C = Media agar darah domba dengan waktu inkubasi 24 jam
- D = Media agar darah manusia golongan O dengan waktu inkubasi 48 jam
- E = Media agar darah manusia golongan AB dengan waktu inkubasi 48 jam
- F = Media agar darah domba dengan waktu inkubasi 48 jam

Dari Uji *Kruskal Wallis* terlihat nilai *Asymp. Sig* sebesar 0.352 untuk jumlah koloni dan diameter zona hemolisa yang berarti lebih besar dari (0.05) sehingga  $H_0$  di terima dan  $H_1$  ditolak yang berarti tidak ada perbedaan signifikan antara Pola Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Media agar darah menggunakan senyawa esensial darah manusia golongan O, AB, dan darah domba.

Secara umum, tidak ada perbedaan yang signifikan antara jumlah bakteri *Staphylococcus aureus* pada media agar darah menggunakan senyawa esensial darah manusia golongan O, AB, dan darah domba pada waktu inkubasi 24 dan 48 jam. Hal ini dikarenakan jenis darah yang digunakan sama-sama mengandung karbohidrat yang merupakan sumber nutrisi utama untuk mendukung pertumbuhan bakteri. Glukosa merupakan jenis karbohidrat yang paling sering dimanfaatkan oleh

mikroorganisme sebagai sumber energi (Radji,dkk. 2010).Hanya saja peningkatan jumlah bakteri ini tidak bisa terkontrol dengan baik. Mayoritas jumlah bakteri meningkat setelah waktu inkubasi 48 jam, namun pada beberapa cawan petri jumlah ini justru mengalami penurunan. Penanaman secara *streak plate* akan mendapatkan hasil yang lebih bagus jika ose yang digunakan adalah ose standart sehingga bisa dikorelasikan antara jumlah bakteri yang akan ditanam dan jumlah bakteri yang akan tumbuh. Atau bisa menggunakan sistem tuang, sehingga pertumbuhan bakteri bisa merata diseluruh permukaan media.

Dari hasil pengamatan, pembentukan zona hemolisa pada waktu inkubasi 24 jam masih belum sempurna dan terjadi pada semua cawan petri. Namun setelah mengalami inkubasi selama 48 jam, zona hemolisa terbentuk secara sempurna yaitu -hemolisa dan terjadi pada semua plate. Dari pengukuran

diameter zona hemolisa yang terbentuk pada media agar darah menggunakan senyawa esensial darah manusia golongan O, AB, dan darah domba didapatkan hasil dengan rentang yang tidak terlalu jauh. Perbedaan yang tidak begitu signifikan ini disebabkan karena adanya perbedaan morfologi eritrosit manusia memiliki diameter 6-8  $\mu\text{m}$ , jauh lebih besar daripada eritrosit domba yang hanya berdiameter 1-2,6  $\mu\text{m}$ .

Dari pola pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang diamati berdasarkan morfologi koloni, jumlah koloni, dan diameter zona hemolisa pada media agar darah menggunakan senyawa esensial darah manusia golongan O, AB, dan darah domba mempunyai hasil yang hampir sama. Hendaknya darah yang digunakan berasal dari manusia yang sehat dan tidak mengkonsumsi antibiotik sehingga media dapat menumbuhkan bakteri dengan baik. Perbedaan golongan darah dalam pembuatan media agar darah tidak mempunyai pengaruh yang besar terhadap pertumbuhan bakteri. Perbedaan tersebut disebabkan karena adanya perbedaan molekul monosakarida (karbohidrat sederhana) yang berada di bagian ujung dari oligosakarida yang terikat ke protein serta glikolipid membran sel darah

merah (SDM) Sedangkan unsur utama yang diperlukan untuk pertumbuhan bakteri seperti karbohidrat dan protein telah sama-sama terkandung dalam darah dengan berbagai jenis golongan darah. Sehingga darah manusia golongan O dan AB juga bisa dijadikan sebagai bahan alternatif pembuatan media agar darah (Sadikin, 2001).

### SIMPULAN

Dari hasil pengamatan dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan pola pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada media agar darah menggunakan senyawa esensial darah manusia golongan O, AB, dan darah domba. Sehingga darah manusia golongan O dan AB dapat dijadikan sebagai bahan alternatif pembuatan media agar darah.

### DAFTAR RUJUKAN

- Abdat, Amali. 2010. *Pertumbuhan Streptococcus pneumoniae pada Agar Darah Manusia dan Agar Darah Domba*. Artikel Ilmiah. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang
- Entjang, Indan. 2003. *Mikrobiologi & Parasitologi*, Bandung : PT Citra Aditya Bakti
- Indra. 2008. <http://ekmon-saurus/bab-2-Media-pertumbuhan/.htm>. Diakses pada tanggal 08 maret 2009.

- Jawetz, E., J.L. Melnick and E.A. Adelberg. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta : EGC
- Label, Caray. 2008. <http://Caray label makalah -dan - skripsi pembuatan-media- agar dan-sterilisasi/htm>. Diakses pada tanggal 08 maret 2009.
- Radji, Maksum. 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi*. Jakarta :EGC
- Russell, F.M., *et al.* 2006. As a Bacterial Culture Medium, Citrated Sheep Blood Agar Is a Practical Alternative to Citrated Human Blood Agar in Laboratories of Developing Countries, *Journal Clinical Microbiology*, 2006 Sep; 44(9): 3346-3351. Doi: 10.1128/JCM.02631-05
- Sadikin, Mohamad. 2002. *Biokimia Darah*. Jakarta : Widya Medika
- Tenny, O., Egwuatu. 2014. Effect of Blood Agar from Different Animal Blood on Growth Rates and Morphology of Common Pathogenic Bacteria. *Advances in Microbiology*, 4, 1237-1241 Published Online December 2014 in SciRes. <http://www.scirp.org/journal/aim>