

Pemanfaatan Penggunaan Darah Donor Yang Telah Kadaluwarsa Untuk Pembuatan Agar Darah Pada Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Rr.Irma Dewi Novita^a, Indah Febrianti^b

^{ab}Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran
Universitas Diponegoro Semarang
E-mail : irmadewinovita.mi@gmail.com

Received: 10th July 2019; Revised: 2nd July 2019; Accepted: 10th July 2019;
Available online: 19th July 2019; Published regularly: July 2019

Abstract

The use of media so that sheep's blood for the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria is still difficult to get the sheep's blood. Therefore, a way to find alternatives to sheep blood is sought, namely by using donor blood that has expired. In this study using blood agar media using blood donors and blood agar media using sheep blood as a control. Using a blood donor with a presentation of 4% and 5% of the colony diameter, zone of hemolysis, the color of the colony of *Staphylococcus aureus* is almost the same as supported grown in 4% sheep blood agar media. While 6%, 7% and 8% blood donors are not supported for the growth of *Staphylococcus aureus* because the hemolysis zone and colony color are different from controls using sheep blood agar media

Key words : Sheep blood Agar Media ; Blood donors ; *Staphylococcus aureus*

Abstrak

Penggunaan media agar darah domba untuk pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dirasa masih sulit untuk mendapatkan darah dombanya. Oleh sebab itu dicari cara untuk mencari alternatif selain darah domba yaitu dengan menggunakan darah donor yang telah kadaluarsa. Dalam penelitian ini menggunakan media agar darah yang menggunakan darah donor dan media agar darah dengan menggunakan darah domba sebagai kontrol. Hasilnya yaitu penggunaan darah donor dengan presentasi 4% dan 5% menunjukkan diameter koloni, zona hemolisa, warna koloni *Staphylococcus aureus* hampir sama dengan apabila ditumbuhkan di media agar darah domba 4%. Sedangkan penggunaan darah donor sebanyak 6%, 7% dan 8% tidak disarankan untuk pertumbuhan *Staphylococcus aureus* karena zona hemolisa dan warna koloni berbeda dengan kontrol yang menggunakan media agar darah domba

Kata Kunci: Media agar darah domba ; darah donor ; *Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Media agar darah digunakan untuk menumbuhkan dan mengisolasi terutama mikroorganisme patogen yang pertumbuhannya membutuhkan darah seperti *Staphylococcus aureus*. Agar darah juga digunakan untuk mendeteksi dan membedakan kemampuan hemolisa bakteri seperti *Streptococcus sp.* (Mims, 1982; Carter, 1986; Cheesbrough, 1991). Medium agar darah dibuat dari medium basal dengan penambahan darah 5 -10% . Darah yang biasa digunakan untuk mengisolasi dan menumbuhkan bakteri patogen adalah darah kuda, domba, kambing dan kelinci yang mengalami proses defibrinasi (Cheesbrough, 1991)

Untuk kebutuhan praktikum dan penelitian di Fakultas Kedokteran Undip kebutuhan akan penggunaan media agar darah cukup sering. Oleh karena itu mahasiswa dan peneliti harus mencari

kebutuhan darah domba untuk pembuatan media agar darah. Hal ini agak menyusahkan mahasiswa dan peneliti karena di Undip tidak menyediakan domba yang biasa rutin untuk diambil darahnya.

Karena itu maka peneliti mencoba untuk menggunakan darah donor yang sudah kedaluwarsa yang didapatkan dari Rumah Sakit Nasional Diponegoro (RSND) untuk pembuatan media agar darah dengan darah domba sebagai kontrol kualitasnya.

Media agar darah yang digunakan untuk kontrol adalah menggunakan darah domba 5% dan dibandingkan dengan pembuatan agar darah dengan menggunakan darah donor yang sudah kedaluwarsa sebanyak 4%, 5%, 6%, 7% dan 8% dan diamati untuk pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan ATCC 25925 dan *Staphylococcus aureus* yang didapat dari material klinis.

Darah donor yang kadaluarsa dengan seluruh komponen yang dikandungnya masih memperlihatkan warna seperti darah segar, namun secara hematologic tidak boleh ditransfusikan kepada pasien. Darah donor yang sudah kadaluarsa telah sangat berkurang faktor pembekuannya dan ini memenuhi syarat untuk pembuatan medium biakan, karena darah yang mengandung faktor pembekuan harus didefibrinasi.

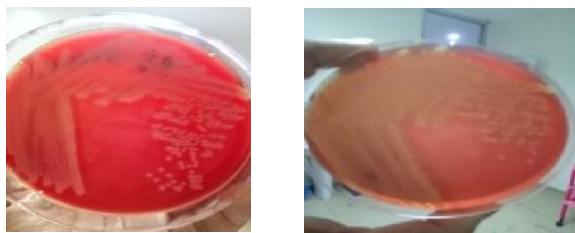
BAHAN DAN METODE

Alat yang digunakan untuk pembuatan media agar adalah neraca analitik, piring petri, jarum suntik, kapas, erlenmeyer. Gelas ukur, dan tabung reaksi. Sedangkan bahan yang digunakan adalah bubuk media agar darah, aquadest pH +/- 7 (netral), pH meter, aluminium foil, darah domba/ darah manusia, alkohol 70%.

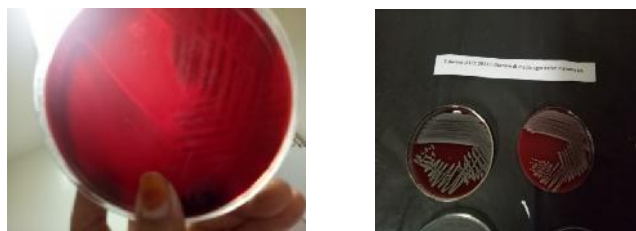
Untuk pembuatan media agar darah adalah sebagai berikut : Bubuk Media Blood Agar Base ditimbang sebanyak 40 gram kemudian dimasukkan ke dalam botol kaca. Lalu dilarutkan dengan aquadest pH 7 sebanyak 1000 ml kemudian dihomogenkan dengan magnetik stirer. Lalu botol kaca yang berisi media ditutup dengan tutup botol yang dilapisi dengan aluminium foil dan diikat dengan benang, kemudian media disterilkan dengan autoclave pada suhu 121⁰ C selama 15 menit. Setelah selesai proses sterilisasi media dikeluarkan dan didinginkan hingga mencapai suhu 40-50⁰C. Setelah suhu tercapai lalu ditambahkan darah domba atau darah manusia dan dihomogenkan hingga merata lalu media dituang ke dalam piring petri steril dan didiamkan hingga membeku (Jawetz,2002)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa bakteri *S. aureus* ATCC 29231 yang ditanam dalam agar darah yang ditambahkan darah domba sebanyak 5% terlihat berwarna kuning keemasan, diameter koloni 1 mm, dengan lebar zona hemolisa 1,5 mm dan koloni dapat tumbuh sampai dengan zona ke 4.



Gambar 1. *S.aureus* yang ditanam di media darah domba 4% dan 5%



Gambar 1. *S.aureus* yang ditanam di media darah manusia 4% /5% dan 6%/7%/8%

Sedangkan untuk pertumbuhan bakteri *S. aureus* yang diambil dari material klinis pasien di RSND dan ditambahkan darah domba sebanyak 5% terlihat berwarna kuning keemasan, diameter koloni antara 0,5 – 1 ul , lebar zona hemolisa 1,5 mm dan koloni juga dapat tumbuh hingga zona ke 4. Ini menjadi acuan untuk pemeriksaan *S.aureus* yang ditanam di media agar darah dengan penambahan darah donor yang telah kedaluwarsa

Untuk penanaman *S.aureus* di media agar darah dengan penambahan darah donor yang telah kedaluwarsa sebanyak 4% dan 5% tidak ada perbedaan dengan kontrol. Diameter koloni dan lebar zona hemolisa juga masih sama dengan kontrol.

Sedangkan untuk pertumbuhan *S.aureus* dengan penambahan agar darah manusia sebanyak 6%,7% dan 8% terlihat warna koloni yang muncul adalah warna putih abu-abu. Hal ini terlihat sangat berbeda dengan kontrol yang berwarna kuning keemasan. Warna yang muncul terlihat lebih pucat disebabkan karena penambahan darah manusia yang lebih banyak menyebabkan media berwarna merah kehitaman.

Tabel 1. Kontrol *S.aureus* ATCC 29231 (Media Blood Agar + Darah Domba 5%)

<i>S.aureus</i> ATCC 29231	ATCC 1	ATCCC 2	ATCC 3	ATCC 4	ATCC 5
Warna koloni	Kuning keemasan	Kuning keemasan	Kuning keemasan	Kuning keemasan	Kuning keemasan
Diameter koloni	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm
Lebar zona hemolisa	1,5 mm	1,5 mm	1,5 mm	1,5 mm	1,5 mm
Tumbuh sd zona	4	4	4	4	4

Tabel 2. Spesimen Klinis *S.aureus* (Media Blood Agar + Darah Domba 5%)

<i>S.aureus</i> specimen klinis	Klinis 1	Klinis 2	Klinis 3	Klinis 4	Klinis 5
Warna koloni	Kuning keemasan	Kuning keemasan	Kuning keemasan	Kuning keemasan	Kuning keemasan
Diameter koloni	0,5 mm	1 mm	0,5 mm	1 mm	0,5 mm
Lebar zona hemolisa	1,5 mm	1,5 mm	1,5 mm	1,5 mm	1,5 mm
Tumbuh sd zona	4	4	4	4	4

Tabel 3. Kontrol *S.aureus* ATCC 29231 (Media Blood Agar + Darah donor 4%)

<i>S.aureus</i> ATCC 29231	ATCC 1	ATCCC 2	ATCC 3	ATCC 4	ATCC 5
Warna koloni	Kuning keputihan	Kuning keputihan	Kuning keputihan	Kuning keputihan	Kuning keputihan
Diameter koloni	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm
Lebar zona hemolisa	1,5 mm	1,5 mm	1,5 mm	1,5 mm	1,5 mm
Tumbuh sd zona	4	4	4	4	4

Tabel 4. Spesimen Klinis *S.aureus* (Media Blood Agar + Darah donor 4%)

<i>S.aureus</i> specimen klinis	Klinis 1	Klinis 2	Klinis 3	Klinis 4	Klinis 5
Warna koloni	Kuning keputihan	Kuning keputihan	Kuning keputihan	Kuning keputihan	Kuning keputihan
Diameter koloni	0,5 mm	1 mm	0,5 mm	1 mm	0,5 mm
Lebar zona hemolisa	1,5 mm	1,5 mm	1,5 mm	1,5 mm	1,5 mm
Tumbuh sd zona	4	4	4	4	4

Tabel 5. Kontrol *S.aureus* ATCC 29231 (Media Blood Agar + Darah Donor 5%)

<i>S.aureus</i> ATCC 29231	ATCC 1	ATCC 2	ATCC 3	ATCC 4	ATCC 5
Warna koloni	Kuning keputihan	Kuning keputihan	Kuning keputihan	Kuning keputihan	Kuning keputihan
Diameter koloni	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm
Lebar zona hemolisa	1,5 mm	1,5 mm	1,5 mm	1,5 mm	1,5 mm
Tumbuh sd zona	4	4	4	4	4

Tabel 6. Spesimen klinis *S.aureus* (Media Blood Agar + Darah Donor 5%)

<i>S.aureus</i> specimen klinis	Klinis 1	Klinis 2	Klinis 3	Klinis 4	Klinis 5
Warna koloni	Kuning keputihan	Kuning keputihan	Kuning keputihan	Kuning keputihan	Kuning keputihan
Diameter koloni	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm
Lebar zona hemolisa	1,5 mm	1,5 mm	1,5 mm	1,5 mm	1,5 mm
Tumbuh sd zona	4	4	4	4	4

Tabel 7. Kontrol *S.aureus* ATCC 29231 (Media Blood Agar + Darah Donor 6%)

<i>S.aureus</i> ATCC 29231	ATCC 1	ATCC 2	ATCC 3	ATCC 4	ATCC 5
Warna koloni	Putih abu-abu	Putih abu-abu	Putih abu-abu	Putih abu-abu	Putih abu-abu
Diameter koloni	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm
Lebar zona hemolisa	1,5 mm	1,5 mm	1,5 mm	1,5 mm	1,5 mm
Tumbuh sd zona	4	4	4	4	4

Tabel 8. Spesimen klinis *S.aureus* (Media Blood Agar + Darah Donor 6%)

<i>S.aureus</i> specimen klinis	Klinis 1	Klinis 2	Klinis 3	Klinis 4	Klinis 5
Warna koloni	Putihabu-abu	Putihabu-abu	Putihabu-abu	Putihabu-abu	Putihabu-abu
Diameter koloni	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm
Lebar zona hemolisa	1,5 mm	1,5 mm	1,5 mm	1,5 mm	1,5 mm
Tumbuh sd zona	4	4	4	4	4

Tabel 9. Kontrol *S.aureus* ATCC 29231 (Media Blood Agar + Darah Donor 7%)

<i>S.aureus</i> ATCC 29231	ATCC 1	ATCCC 2	ATCC 3	ATCC 4	ATCC 5
Warna koloni	Putihabu-abu	Putihabu-abu	Putihabu-abu	Putihabu-abu	Putihabu-abu
Diameter koloni	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm
Lebar zona hemolisa	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm
Tumbuh sd zona	4	4	4	4	4

Tabel 10. Spesimen klinis *S.aureus* (Media Blood Agar + Darah Donor 7%)

<i>S.aureus</i> specimen klinis	Klinis 1	Klinis 2	Klinis 3	Klinis 4	Klinis 5
Warna koloni	Putih abu-abu	Putih abu-abu	Putih abu-abu	Putih abu-abu	Putih abu-abu
Diameter koloni	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm
Lebar zona hemolisa	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm
Tumbuhsd zona	4	4	4	4	4

Tabel 11. Kontrol *S.aureus* ATCC 29231 (Media Blood Agar + Darah Donor 8%)

<i>S.aureus</i> ATCC 29231	ATCC 1	ATCCC 2	ATCC 3	ATCC 4	ATCC 5
Warna koloni	Putih abu-abu	Putih abu-abu	Putih abu-abu	Putih abu-abu	Putih abu-abu
Diameter koloni	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm
Lebar zona hemolisa	0,5 mm	0,5 mm	1 mm	0,5 mm	0,5 mm
Tumbuh sd zona	4	4	4	4	4

Tabel 12. Spesimen klinis *S.aureus* (Media Blood Agar + Darah Donor 8%)

<i>S.aureus</i> specimen klinis	Klinis 1	Klinis 2	Klinis 3	Klinis 4	Klinis 5
Warna koloni	Putih abu-abu	Putih abu-abu	Putih abu-abu	Putih abu-abu	Putih abu-abu
Diameter koloni	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm
Lebar zona hemolisa	0,5 mm	1 mm	0,5 mm	1 mm	0,5 mm
Tumbuh sd zona	4	4	4	4	4

Dari pengamatan zona hemolisa di prosentase 7% terlihat mulai ada penyempitan zona hemolisa menjadi 1 mm dari kontrol 1,5mm. Dan untuk prosentase darah 8% zona hemolisa menjadi 0,5 mm. Hal ini terjadi disebabkan karena kepadatan darah yang digunakan menyebabkan warna media menjadi merah kehitaman dan zona hemolisa menjadi semakin tidak nampak.

KESIMPULAN

Media agar darah donor dengan konsentrasi 4% dan 5% dapat menggantikan media agar darah domba dengan konsentrasi 4% pada pertumbuhan *S.aureus*. Sedangkan agar darah donor dengan konsentrasi 6%, 7% dan 8% tidak dapat sebagai pengganti agar darah domba 4%

SARAN

Adanya penelitian lanjutan untuk bakteri lainnya yang dapat ditumbuhkan di media agar darah yang manusia yang telah kadaluarsa untuk kebutuhan praktikum di Fakultas Kedokteran Undip. Dan adanya penelitian lanjutan untuk penggunaan darah hewan lain yang mudah didapatkan seperti darah kambing atau darah sapi.

DAFTAR PUSTAKA/REFERENCES

- Anonymous 1982. *The Oxoid Manual of Culture Media, Ingredients and other Laboratory Services*. 5th ed. UK. Oxoid Limited
- Bising W and Amstberg G 1993. *Colour Atlas for the Diagnosis of Bacterial Pathogen in animals*. Paul Parey Scientific Publisher. Hamburg.
- Brooks GF, S. Butel and SA Morse 2002. *Jawetz, Melnick & Adelberg's Mikrobiologi Kedokteran (Medical Microbiology)*. Ed. 1. Penerjemah dan Editor Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Penerbit Salemba Medika.
- Carter GR 1986. *Essentials of Veterinary Bacteriology and Mycology*. 3rd Ed. Lea and Febiger, Philadelphia, USA.
- Chadwick PR and B.A. Oppenheim 1995. *Neomycin Blood Agar As A selective Medium for Vancomycin Resistant Enterococcus faecium*. *J. of Clin. Pathol.* 48(11): 1068-1070.
- Cheesbrough M 1991. *Medical Laboratory Manual for Tropical Countries*, volume II: Microbiology. Cambridge. ELBS.
- Cottral GE 1978. *Manual of Standardized Methods for Veterinary Microbiology*. Cornell University Press. London.
- Fallon D, K.J. Nye, B. Gee, S. Messer, R.E. Waren, and N. Andrew. 2000. *A Comparison of Columbia Blood Agar With Or Without Oxolinic Acid/Metronidazole for The Isolation of -haemolytic Streptococcus from throat Swabs*. *J. med. Microbiol.* (49): 941-942.
- Hof H and R. Dörries 2002. *Medizinische Mikrobiologie. 2., Korrigierte Auflage*. Georg Thieme Verlag Stuttgart.
- Jarp J 1990. *Staphylococcus from Mastitis in Ruminants: Virulence Properties and Classification of species*. *Dissertation Abstracts International, C, Worldwide.* (51): 2, 209 C.
- Mims CA 1982. *The Pathogenesis of Infectious disease*. 2nd Ed. Acad. Press. London. New York. San Francisco. Sao Paulo. Sydney. Tokyo. Toronto. Pp.56-81..
- Wistreich GA 1997. *Microbiology Laboratory: Fundamentals and Applications*. New Jersey. Prentice Hall