



**PERTUMBUHAN *Streptococcus pneumoniae* PADA AGAR DARAH
MANUSIA DAN AGAR DARAH DOMBA**

THE GROWTH OF *Streptococcus pneumoniae* ON HUMAN BLOOD AGAR
AND SHEEP BLOOD AGAR

ARTIKEL ILMIAH

**Disusun untuk memenuhi sebagian persyaratan
guna mencapai derajat sarjana strata-1 kedokteran umum**

**Amali Abdat
G2A006013**

**PROGRAM PENDIDIKAN SARJANA KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
TAHUN 2010**

PERTUMBUHAN *Streptococcus pneumoniae* PADA AGAR DARAH MANUSIA DAN AGAR DARAH DOMBA

Amali Abdat¹, Helmia Farida²

ABSTRAK

Latar belakang: Agar darah domba (ADD) adalah media standar untuk pemeriksaan mikrobiologi. Dibeberapa Negara, pengadaan ADD cukup sulit, sehingga diperlukan alternatif antara lain agar darah manusia (ADM). Penelitian ini bertujuan untuk menguji kelayakan ADM sebagai media pengganti ADD dan untuk membandingkan pertumbuhan *S. pneumoniae* pada ADD dan ADM.

Metode: Penelitian ini menggunakan desain *True experimental post test only* terhadap enam strain *S. pneumoniae*. Sampel dibagi menjadi empat kelompok, yaitu kelompok 1 dan 2 dimana strain murni *S. pneumoniae* (dinilai jumlah koloni, diameter koloni dan diameter hemolisis sebagai variabel tergantung¹) dan kelompok 3 dan 4 *dispike* dengan sputum (dinilai diameter koloni, diameter hemolisis dan karakteristik khas koloni sebagai variabel tergantung²) dan semuanya ditanam pada ADD dan ADM (variabel bebas). Data yang diperoleh dideskripsikan dalam bentuk grafik, dianalisis dengan uji alternatif non-parametrik Kolmogorov-Smirnov dengan *SPSS for windows 15*.

Hasil: Uji Kolmogorov-Smirnov variabel tergantung¹ adalah jumlah koloni 24 jam nilai $p=1,000$ dan 48 jam nilai $p=1,000$, diameter koloni 24 jam nilai $p=1,000$ dan 48 jam nilai $p=1,000$ dan diameter hemolisis 24 jam nilai $p=0,441$ dan 48 jam nilai $p=1,000$. Uji Kolmogorov-Smirnov variabel tergantung² adalah diameter koloni 24 jam nilai $p=1,000$ dan 48 jam nilai $p=0,441$, diameter hemolisis 24 jam nilai $p=0,893$ dan 48 jam nilai $p=1,000$ dan karakteristik khas koloni 24 jam nilai $p=1,000$ dan 48 jam nilai $p=1,000$.

Simpulan: Tidak ada perbedaan bermakna pertumbuhan *S. pneumoniae* yang ditanam pada ADD dan ADM baik dengan maupun tanpa proses *spike* sputum pada pengamatan 24 dan 48 jam.

Kata kunci: *S. pneumoniae*, ADD, ADM

¹ Mahasiswa program pendidikan S-1 kedokteran umum FK Undip

² Staf pengajar Bagian Mikrobiologi FK Undip, Jl. Dr. Sutomo No. 18 Semarang

THE GROWTH OF *Streptococcus pneumoniae* ON HUMAN BLOOD AGAR AND SHEEP BLOOD AGAR

Amali Abdat¹, Helmia Farida²

ABSTRACT

Background: Defibrinated sheep blood agar (DSBA) is standard media for microbiology laboratory test as some countries have difficulty providing it. Therefore, alternative media, such as human blood agar (HuBA), is needed. This study aimed to analyze whether HuBA can be used as alternative media and to compare the growth of *S. pneumoniae* on DSBA and HuBA.

Methods: This study used True experimental design post test only against six strains of *S. pneumoniae*. Samples were divided into four groups, group 1 and 2 where the pure strains of *S. pneumoniae* (assessed colony counts, colony size and diameter of hemolysis as dependent variable 1) and groups 3 and 4 which was spiked with sputum (assessed colony size, diameter of hemolysis and typical colony characteristics as a dependent variable 2) and all of them was isolated on DSBA and HuBA (independent variable). Data was described in graphics and analyzed by Kolmogorov-Smirnov test in SPSS 15 for windows.

Results: Analysis of dependent variable 1 are colony counts p (24 hours) = 1.000 and p (48 hours) = 1.000, colony size p (24 hours) = 1.000 and p (48 hours) = 1.000 and the diameter of hemolysis p (24 hours) = 0.441 and p (48 hours) = 1.000. Analysis of dependent variable 2 are colony size p (24 hours) = 1.000 and p (48 hours) = 0.441, diameter of hemolysis p (24 hours) = 0.893 and p (48 hours) = 1.000 and typical colony characteristics p (24 hours) = 1.000 and p (48 hours) = 1.000.

Conclusion: The growth of *S. pneumoniae* on DSBA and HuBA both with and without spike with sputum at 24 and 48 hours of observation are not significantly different.

Keywords: *S. pneumoniae*, DSBA, HuBA

PENDAHULUAN

Agar darah domba(ADD) dan agar darah kuda (ADK) adalah media standar sebagai media pertumbuhan untuk mengidentifikasi jenis bakteri dan sebagai media untuk tes sensitivitas antibiotik dari berbagai bakteri patogen. Dengan menggunakan darah domba atau kuda, para ahli mikrobiologi dapat menginterpretasikan bakteri yang tumbuh dengan lebih tepat. Penggunaan darah domba wol (*Wool Sheep*) di negara berkembang seperti Indonesia susah untuk diwujudkan karena domba wol tidak dapat beradaptasi dengan iklim tropis seperti iklim dinegara Indonesia.

Oleh karena itu, di negara berkembang seperti Indonesia penggunaan agar darah manusia (ADM) untuk pemeriksaan mikrobiologi rutin dilakukan. Hal ini dikarenakan biaya yang harus dikeluarkan menjadi lebih murah dan iklim di Indonesia memang kurang mendukung untuk memelihara domba dan kuda sebagai penyuplai darah untuk dipakai menjadi salah satu bahan pembuat agar darah .

ADM tidak direkomendasikan karena dapat membahayakan dalam penanganannya, khususnya bagi para pekerja laboratorium, karena dapat menjadi media untuk transmisi penyakit yang menular melalui darah seperti HIV dan hepatitis.

Selain itu, banyak bakteri patogen yang gagal tumbuh sempurna atau terdapat perbedaan morfologi dan pola hemolitik bakteri jika dibiakkan di media agar darah manusia sehingga dapat mengelabui dalam pengenalan koloni¹.

Bakteri *Streptococcus pneumoniae* merupakan bakteri komensal dari saluran nafas bagian atas manusia sekitar 5-40% dan dapat menyebabkan pneumonia, sinusitis, otitis, bronkitis, bakteremia, meningitis dan proses infeksi lainnya². Berdasarkan Survey Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) dan Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2007 mencatat bahwa pneumonia merupakan salah satu penyebab kematian balita terbanyak³. Hal ini tidak berbanding lurus dengan angka kultur *S.pneumoniae* di laboratorium mikrobiologi RSUP Dr. Kariadi yang hanya 7,65 % dibanding dengan enterobactericae yang persentasenya lebih besar yaitu 50,61%⁴.

Angka kultur bakteri *S.pneumoniae* yang kecil mungkin disebabkan karena angka infeksi yang rendah, penggunaan antibiotik yang tidak tepat sebelum pengambilan sampel atau kemampuan media yang digunakan laboratorium untuk menumbuhkan bakteri tersebut yang masih terbatas. Oleh karena itu perlu evaluasi apakah salah satu sebab rendahnya angka *S.pneumoniae* pada sputum pasien di RSUP Dr. Kariadi adalah karena ADM yang rutin digunakan tidak mampu menumbuhkan bakteri tersebut.

METODE

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro mulai bulan Mei-Juni 2010. Penelitian ini adalah penelitian *True experimental post test only* yang menggunakan *S. pneumoniae* sebagai sampel penelitian. Populasi penelitian ini adalah stok *S.pneumoniae* ATCC 49619 dan *S.pneumoniae* dari apusan nasofaring anak sehat yang disimpan dalam media Gliserol pada temperatur -80°C. Penentuan besar sampel ditentukan berdasarkan rumus Federer dan didapatkan replikasi minimal yang dibutuhkan untuk tiap perlakuan adalah 6, dimana masing-masing replikasi dilakukan secara duplo. Sampel dibagi menjadi empat kelompok perlakuan yaitu penanaman strain murni *S.pneumoniae* pada ADM, penanaman strain murni *S.pneumoniae* pada ADD, penanaman strain *S.pneumoniae* yang di'spike" ke dalam sputum penderita pneumonia bukan karena pneumokokus pada ADM, penanaman strain *S.pneumoniae* yang di'spike" ke dalam sputum penderita pneumonia bukan karena pneumokokus pada ADD.

Isolat *S. pneumoniae* dicek kemurniannya menggunakan tes Optochin dan setelah didapatkan koloni murni diperbanyak dan diinkubasi pada 35°C dan CO₂ 5% selama 24 jam. Setelah 24 jam, kuman dipanen dan dibuat suspensi dengan konsentrasi 0,5 Mac Farland. Suspensi kuman kemudian diencerkan 100 kali. Kemudian dilakukan penanaman 5 µl suspensi kuman yang telah diencerkan dengan cara melakukan *streak* secara merata pada seluruh permukaan plate agar darah yang diuji. Untuk melakukan *spike* isolat ke sputum, suspensi kuman 0,5 Mac Farland dicampur dengan sputum pasien pneumonia yang bukan disebabkan

karena *S.pneumoniae*, dengan perbandingan 2 : 1. Campuran tersebut dikocok homogen dengan menggunakan virtex. Sebanyak 5 µl campuran suspensi kuman – sputum di atas ditanam pada plate agar darah dengan metode *streak 4 zone*. Semua plate diinkubasi pada 35°C dan CO2 5% . Pertumbuhan koloni *S.pneumoniae* diamati setelah inkubasi selama 24 jam dan 48 jam.

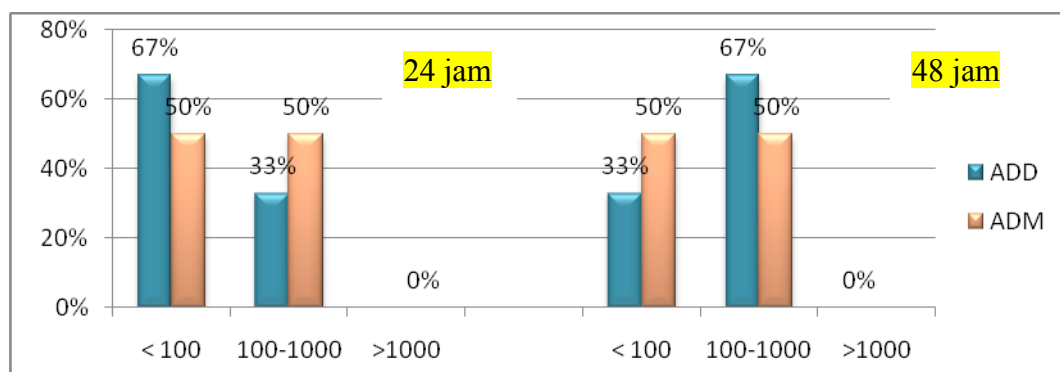
Hasil pengamatan pada semua variabel tergantung dianalisis dengan menggunakan Kolmogorov-Smirnov. Nilai derajat kemaknaan adalah apabila $p \leq 0,05$ dengan 95% interval kepercayaan. Analisis data menggunakan program SPSS (*Statistical Program for Social Science*) for Windows 15.

HASIL

Pertumbuhan *S. pneumoniae* pada ADD dan ADM

Pada penelitian ini pertumbuhan *S. pneumoniae* yang ditanam di ADD dan ADM dinilai berdasarkan jumlah koloni yang tumbuh dari suspensi *S. pneumoniae* 0,5 Mac Farland, diameter koloni dan diameter hemolisisnya.

Persentase jumlah koloni yang tumbuh pada kedua jenis agar darah dapat dilihat pada gambar 2 :



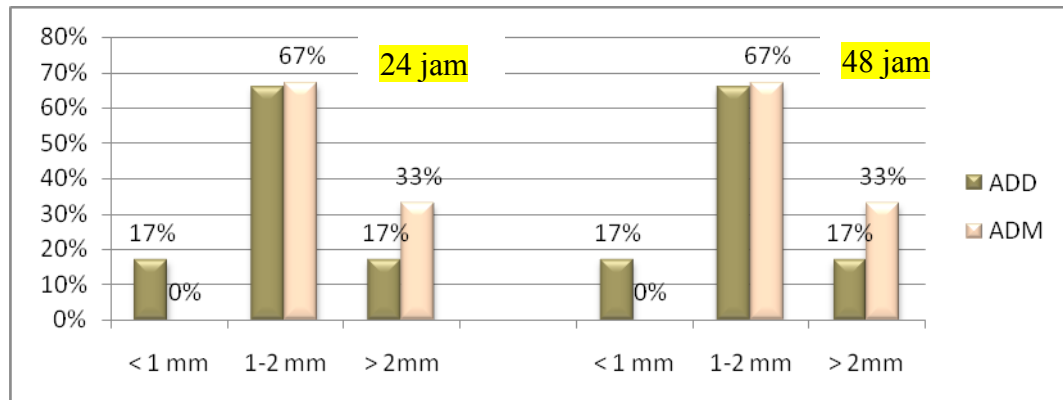
Nilai p 24 jam = 1,000 dan 48 jam = 1,000 (Uji Kolmogorov-Smirnov)

Gambar 1. Grafik persentase jumlah koloni *S. pneumoniae* pada 24 dan 48 jam inkubasi

Dari grafik tersebut, dapat disimpulkan bahwa pada ADM tidak terjadi perubahan rentang jumlah koloni antara inkubasi 24 jam dengan 48 jam. Sedangkan pada ADD, pada pengamatan 24 jam terdapat 33% sampel dengan jumlah koloni antara 100-1000 koloni dan meningkat menjadi 67% sampel setelah

48 jam. Jadi sebagian koloni dari strain tumbuh dalam 24 jam dan sebagian tumbuh dalam 48 jam. Perbedaan ini secara statistik tidak bermakna (nilai p 24 jam = 1,000) dan (nilai p 48 jam = 1,000).

Persentase diameter koloni pada kedua jenis agar darah dapat dilihat pada gambar 3 :

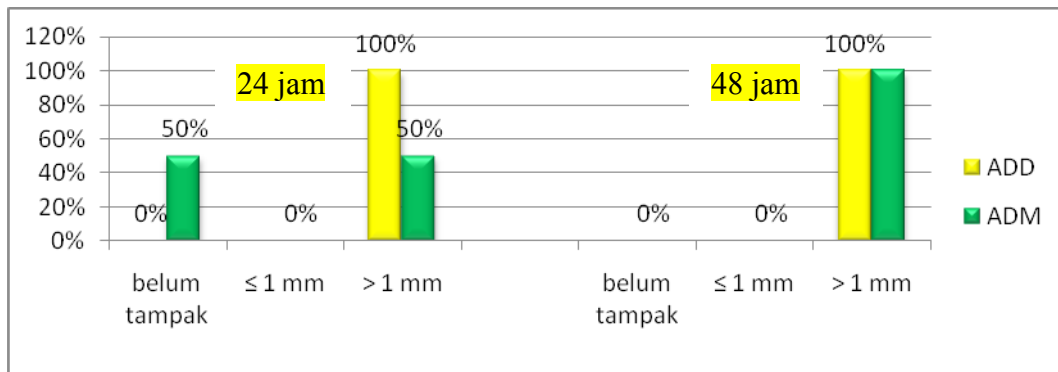


Nilai p 24 jam = 1,000 dan 48 jam = 1,000 (Uji Kolmogorov-Smirnov)

Gambar 2. Grafik persentase diameter koloni *S. pneumoniae* pada pengamatan 24 dan 48 jam inkubasi.

Dari grafik tersebut dapat disimpulkan bahwa diameter koloni pada ADM cenderung lebih besar daripada ADD. Pada pengamatan 24 jam maupun 48 jam, seluruh sampel (100%) pada ADM memiliki diameter koloni > 1 mm, sedangkan pada ADD hanya 83% sampel yang diameter koloninya > 1 mm. Tetapi secara statistik perbedaan tersebut tidak bermakna (nilai p diameter koloni 24 dan 48 jam = 1,000).

Perbandingan persentase diameter hemolisis dari kedua jenis agar dapat dilihat pada grafik berikut :



Nilai p 24 jam = 0,441 dan 48 jam = 1,000 (Uji Kolmogorov-Smirnov)

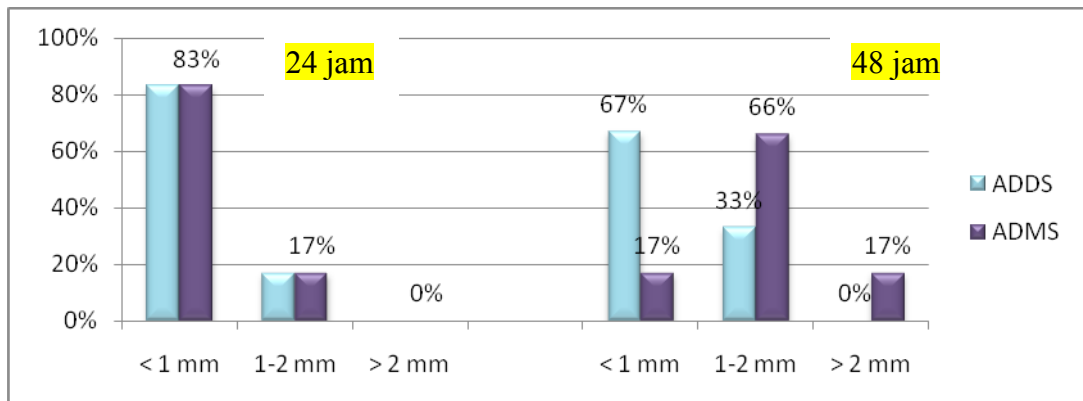
Gambar 3. Grafik persentase diameter hemolisis koloni *S. pneumoniae* pada 24 dan 48 jam inkubasi

Pengamatan setelah diinkubasi 24 jam menunjukkan bahwa semua sampel (100%) yang ditanam pada ADD sudah memiliki diameter hemolisis > 1 mm, sedangkan pada ADM hanya 50% sampel yang memiliki diameter hemolisis > 1 mm. Pada pengamatan setelah inkubasi 48 jam seluruh sampel (100%) pada kedua jenis agar menunjukkan hasil yang sama, diameter hemolisis koloni pada keduanya > 1 mm. Perbedaan diameter hemolisis antara ADD dan ADM pada 24 jam (nilai $p= 0,441$) dan 48 jam inkubasi (nilai $p= 1,000$) ini secara statistik tidak bermakna.

Pertumbuhan *S. pneumoniae* yang diSpike Bersama Sputum pada ADDS dan ADMS

Pada penelitian ini *S. pneumoniae* dispike bersama sputum yang berasal dari pasien pneumonia dan pada kultur di Laboratorium Mikrobiologi tidak mengandung *S. pneumoniae*. Bakteri lain yang tumbuh pada sputum tersebut adalah batang Gram (-) dan *Staphylococcus*. Pertumbuhan *S. pneumoniae* yang dispike bersama sputum dan ditanam di agar darah domba sputum (ADDS) dan agar darah manusia sputum (ADMS) dinilai berdasarkan diameter koloni, diameter hemolisis dan karakteristik khas kuman *S.pneumoniae* sehingga dapat dibedakan dengan koloni lain yang tumbuh yaitu koloni bulat, datar/ tipis dengan umbilikasi akibat autolisis ditengah koloni.

Persentase diameter koloni yang tumbuh dikedua jenis agar darah adalah sebagai berikut :

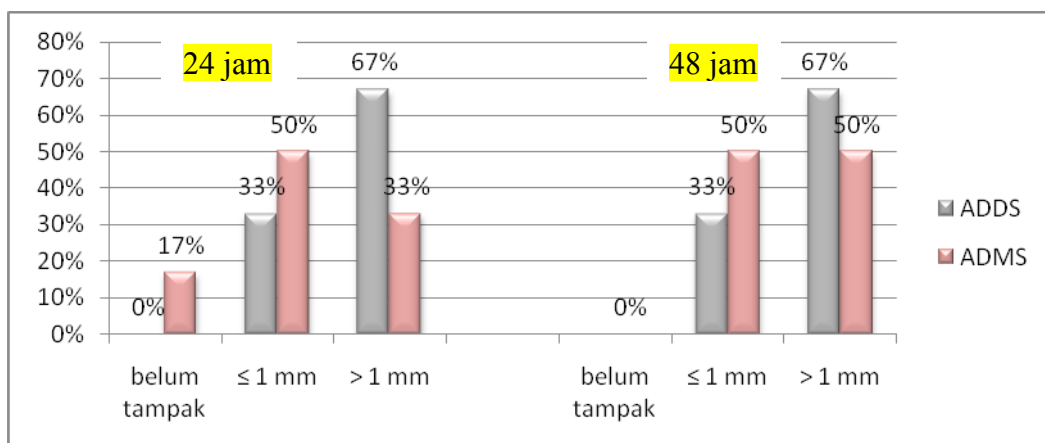


Nilai p 24 jam = 1,000 dan 48 jam = 0,441 (Uji Kolmogorov-Smirnov)

Gambar 4. Grafik persentase diameter koloni *S. pneumoniae* yang *dispiked* dengan sputum pada pengamatan 24 dan 48 jam inkubasi.

Pada pengamatan 24 jam, sebagian sampel (83%) menunjukkan koloni dengan diameter < 1 mm pada ADDS maupun ADMS. Pada pengamatan 48 jam, 83% sampel pada ADMS memiliki koloni > 1 mm sedang pada ADDS hanya 33% sampel. Akan tetapi secara statistik perubahan diameter koloni pada pengamatan 24 jam (nilai $p = 1,000$) dan 48 jam (nilai $p = 0,441$) tersebut tidak bermakna. Berdasarkan data tersebut tampak ada kecenderungan bahwa koloni *S. pneumoniae* yang *dispiked* berukuran lebih kecil daripada koloni dari suspensi murni.

Perbandingan persentase diameter hemolisis dari kedua jenis agar dapat dilihat pada grafik berikut :

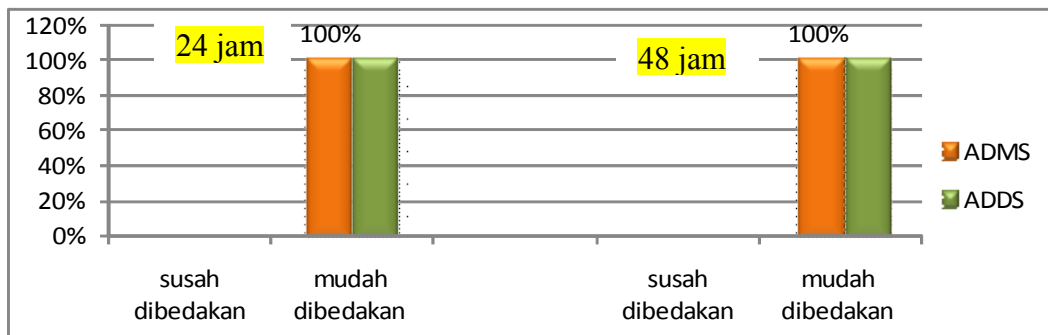


Nilai p 24 jam = 0,893 dan 48 jam = 1,000 (Uji Kolmogorov-Smirnov)

Gambar 5. Grafik persentase diameter hemolisis pada 24 dan 48 jam inkubasi

Dari grafik tersebut dapat dilihat bahwa kecepatan lisis ADDS lebih cepat dibanding ADMS. Hal ini tampak pada pengamatan 24 jam pada ADDS semua sampel sudah menunjukkan hemolisis sedang pada ADMS terdapat 83% sampel yang sudah menunjukkan hemolisis. Tetapi secara statistik perubahan diameter hemolisis tersebut antara ADDS dan ADMS pada pengamatan 24 jam (nilai $p = 0,893$) dan pada 48 jam (nilai $p = 1,000$) tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna.

Persentase kemampuan ADDS dan ADMS untuk menumbuhkan *S. pneumoniae* dengan karakteristik khas yang dapat dibedakan dengan koloni lain yang tumbuh bersama pada pengamatan 24 dan 48 jam inkubasi tampak pada gambar berikut :



Nilai p 24 jam = 1,000 dan 48 jam = 1,000 (Uji Kolmogorov-Smirnov)

Gambar 6. Grafik persentase karakteristik khas koloni *S. pneumoniae*

Dari data tersebut, diketahui bahwa secara statistik baik pada 24 jam (nilai $p = 1,000$) dan 48 jam (nilai $p = 1,000$) tidak ada perbedaan antara ADDS dan ADMS dalam hal kemampuan membedakan antara koloni *S. pneumoniae* dengan koloni lain yang tumbuh di kedua agar darah tersebut.

PEMBAHASAN

Darah domba dan darah kuda merupakan bahan baku standar untuk membuat agar darah di negara Amerika Utara dan Eropa.¹ Di negara berkembang seperti Indonesia, hal itu masih sulit untuk diwujudkan karena permasalahan

logistik dan biaya sehingga banyak laboratorium yang menggunakan darah manusia yang bisa diperoleh secara gratis.

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan pertumbuhan *S. pneumoniae* pada ADD dan ADM. Pada penelitian ini ADD yang digunakan terbuat dari darah domba yang dicegah koagulasinya secara defibrinasi menggunakan *Glassparell* dan memiliki konsentrasi Hb \pm 12 mg%. Sedangkan ADM dibuat menggunakan darah *packed-red-cell* yang didapat dari Bank Darah Laboratorium Sentral RSUP Dr. Kariadi Semarang.

Kuman *S. pneumoniae* yang ditanam pada ADD dan ADM diamati pertumbuhannya setelah 24 dan 48 jam inkubasi. Hasilnya menunjukkan jumlah koloni diantara kedua jenis agar darah tersebut hampir sama. Pada penelitian Russell juga menunjukkan hasil yang demikian yaitu jumlah koloni berbagai strain *S. pneumoniae* adalah serupa disemua agar darah yang diuji.⁵ Ini berarti ADM tidak bersifat menghambat pertumbuhan *S. pneumoniae* yang tumbuh di agar darah tersebut.

Penelitian yang dilakukan oleh Stanley S. Tai *et al* menyebutkan *S. pneumoniae* yang menghasilkan pneumolisin mampu memecah eritrosit sehingga melepaskan protein yang mengandung heme. Baik hemin maupun hemoglobin yang terdapat pada eritrosit mampu menyokong penuh pertumbuhan kultur *S. pneumoniae* pada lingkungan rendah kandungan besinya sementara laktoferrin dan transferrin tidak mampu melakukannya.⁶ Seperti diketahui, *packed-red-cell* (ADM) mengandung lebih banyak jumlah eritrosit⁷ dibanding *whole-blood* (ADD). Sehingga disimpulkan bahwa lingkungan tinggi kadar hemoglobin dan hemin, yaitu pada ADM, baik untuk pertumbuhan dan multiplikasi *S. pneumoniae*.

Dari gambar 3 dapat dilihat bahwa diameter koloni pada ADM cenderung lebih besar daripada ADD. Hal ini berdasar pada pengamatan 24 jam pada ADM terdapat 100% sampel memiliki diameter koloni $>$ 1 mm. Sedang pada ADD hanya 83% sampel yang diameter koloninya $>$ 1 mm. Pada pengamatan 48 jam pada ADD masih terdapat 17% sampel yang diameter koloninya $<$ 1 mm. Sedangkan pada penelitian Russell menyatakan bahwa dari beberapa strain

S. pneumoniae yang ditanam di ADM menunjukkan diameter koloni < 1 mm (bentuk jarum).⁵

Perbedaan hasil antara penelitian ini dengan penelitian F.M Russell kemungkinan karena perbedaan kadar eritrosit kedua jenis darah. ADM pada penelitian Russel berasal dari *Whole blood* sedang pada penelitian ini berasal dari *packed-red-cell*. Pada literatur disebutkan bahwa eritrosit secara permanen dihadapkan oleh level oksigen yang dapat merusak dirinya sendiri. Tetapi dengan hasil dari aktivitas metaboliknya, eritrosit mampu memperbaiki kerusakan tersebut. Hal itu dikarenakan eritrosit dilengkapi berbagai sistem yang berperan sebagai antioksidan. Sistem pertahanan itu antara lain katalase (CAT). Enzim katalase memiliki dua fungsi yaitu memecah Hidrogen peroksida yang terbentuk sebagai hasil metabolisme aerob menjadi air dan oksigen (fungsi katalitik) dan mengoksidasi H₂O₂ dengan tambahan donor H menjadi alkohol alifatik, terbentuk asam, azida dan fenol (fungsi peroksidatik).⁸ Disebutkan juga bahwa tidak ada hubungan antara masa hidup eritrosit dengan CAT sebagai antioksidan diberbagai eritrosit mamalia termasuk domba dan manusia. (Maral *et al.* 1977, Kurata *et al.* 1993).⁹

Penelitian yang dilakukan oleh Gili Regev-Yochay *et al* mengemukakan bahwa metabolisme aerob dari *S .penumoniae* akan memproduksi H₂O₂ oleh enzim *pyruvate oxidase* (SpxB). Pada penenelitian tersebut juga disebutkan terdapat hubungan signifikan antara kelangsungan hidup dari *S .penumoniae* yang memanjang pada fase stasioner dikarenakan tiga faktor salah satunya dengan menambahkan katalase pada media secara kimia.¹⁰ Dengan demikian salah satu faktor yang menyebabkan diameter koloni ADM lebih lebar daripada ADD kemungkinan dikarenakan jumlah eritrosit yang banyak pada ADM memungkinkan ketersediaan katalase yang banyak pula sehingga autolisis dihambat dan menghasilkan koloni yang lebih besar dan lebih tebal.

Diameter hemolisis yang diamati pada 24 jam menunjukkan semua sampel (100%) pada ADD sudah memiliki diameter hemolisis > 1 mm. Pada ADM hanya 50% sampel yang memiliki diameter hemolisis > 1 mm. Sedangkan pada 48 jam inkubasi kedua jenis agar memiliki hasil yang sama yaitu 100%

sampel menunjukkan diameter hemolisis > 1 mm. Hal ini berbeda dari penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh F. M Russel bahwa koloni berbagai strain *S. pneumoniae* yang tumbuh di ADM menunjukkan hemolisis alfa yang tidak jelas.⁵

Dari gambar 4 dapat dilihat setelah 48 jam semua koloni pada ADM menunjukkan hemolisis seperti pada ADD. Lisisnya eritrosit manusia yang lebih lambat daripada eritrosit domba mungkin dikarenakan perbedaan morfologi dan komposisi membran eritrosit. Secara substansial, sel darah manusia lebih lebar dibanding sel darah merah domba yang didapat dari sampel darah domba segar. Hal ini berpengaruh pada kemampuan hemolisin *S. pneumoniae* untuk melisis sel darah merah.¹

Kemungkinan yang lain yaitu dikarenakan umur eritrosit darah yang berasal dari *packed-red-cell* yang sudah kadaluarsa menyebabkan penurunan fragilitas pada membran. Penelitian yang dilakukan oleh Michael Föller *et al* menyatakan bahwa kematian terprogram dari eritrosit matur ditandai dengan penurunan volume sel, kebocoran membran sel dan kerusakan sel membran secara asimetri karena paparan permukaan sel oleh fosfatidylserine.¹¹ Penelitian lain menyatakan terjadi penurunan aktifitas glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) dan membrane-bound b5R (b5Rm) pada membran eritrosit matur. Penurunan keduanya menyebabkan penurunan respon antioksidan sehingga eritrosit menjadi lebih mudah rusak.¹² Kedua hal tersebut kemungkinan menyebabkan eritrosit yang telah matur lebih mudah dilisis oleh hemolisin dibanding eritrosit muda sehingga hemolisis tetap terjadi walaupun lebih lambat dan aktifitas hemolisis pada ADM membutuhkan waktu yang lebih lama.

Dari nilai *significancy* ketiga variabel tersebut yaitu jumlah koloni, diameter koloni dan diameter hemolisis menunjukkan nilai $p > 0,05$. Sehingga dapat disimpulkan tidak ada perbedaan bermakna pertumbuhan *S. pneumoniae* pada pengamatan 24 dan 48 jam inkubasi antara ADD dan ADM meskipun dengan catatan jika hendak mendapatkan data hemolisis yang akurat sebaiknya pada inkubasi 48 jam.

Diameter koloni *S. pneumoniae* yang *dispiked* dengan sputum pada ADM menunjukkan diameter yang lebih besar dari yang tumbuh di ADD seperti halnya ketika *S. pneumoniae* ditanam tanpa sputum. Tetapi jika ukuran koloni *S. pneumoniae* yang *dispiked* dengan sputum dibandingkan dengan koloni dari suspensi murni, ternyata ukuran koloni yang *dispiked* dengan sputum cenderung lebih kecil.

Hal ini kemungkinan disebabkan oleh terdapat sel-sel yang memiliki kemampuan fagositosis seperti neutrofil, makrofag, eosinofil, limfosit dan lain-lain di dalam sputum.¹³ Pada penelitian yang dilakukan oleh Sonia A. Gomez *et al* pada sputum pasien tuberculosis ditemukan *Human secretory leukocyte protease inhibitor* (SLPI) yang menunjukkan aktivitas sebagai antimycobacterial. SLPI juga menunjukkan aktifitas bakterisidal untuk *Streptococcus* grup alfa.¹⁴

Faktor pertumbuhan seperti besi, kalsium, oksigen, karbon dan lain-lain yang dibutuhkan untuk tumbuhnya *S. Pneumoniae*¹⁵ jumlahnya menjadi lebih sedikit karena harus berkompetisi dengan koloni bakteri yang ada pada sputum.

Diameter hemolisis pada *S. pneumoniae* yang *dispiked* dengan sputum menunjukkan hasil yang serupa dengan tanpa *spike*. Hal ini tampak dari kecepatan lisis ADDS lebih cepat dibanding ADMS.

Aktifitas hemolisis *S. pneumoniae* yang tumbuh pada ADDS menunjukkan lebih cepat dibanding dengan yang tumbuh di ADMS mungkin seperti yang telah disebutkan bahwa perbedaan morfologi dan komposisi membran eritrosit keduanya. Secara substansial, sel darah manusia lebih lebar dibanding sel darah merah domba yang didapat dari sampel darah domba segar. Hal ini berpengaruh pada kemampuan hemolisin *S. pneumoniae* untuk melisis sel darah merah.¹ Pada eritrosit tua juga disebutkan terjadi penurunan volume sel, kebocoran membran sel dan kerusakan membrane sel secara asimetri karena paparan permukaan sel oleh phosphatidylserine.¹⁰ Terjadi pula penurunan aktifitas glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) dan membrane-bound b5R (b5Rm) pada membran eritrosit matur. Penurunan keduanya menyebabkan penurunan respon antioksidan sehingga eritrosit menjadi lebih mudah rusak.¹¹ Kedua hal tersebut kemungkinan menyebabkan eritrosit yang telah matur lebih mudah dilisis

oleh hemolisin dibanding eritrosit muda sehingga hemolisis tetap terjadi walaupun lebih lambat dan aktifitas hemolisis pada ADMS membutuhkan waktu yang lebih lama.

Pada ADDS dan ADMS koloni *S. pneumoniae* secara morfologi tetap menunjukkan karakteristik khas yaitu koloni tipis melebar dengan umbilikasi ditengah koloni ($p=1,000$). Sehingga pada kultur sputum yang umumnya tumbuh koloni bakteri lain, keberadaan koloni *S. pneumoniae* tetap mudah dikenali.

Tetapi, mengingat koloni Streptococcus α yang lain umumnya tidak memiliki karakteristik koloni yang berbeda (kecil, tebal/ tidak tipis melebar, tihandak ada umbilikasi), koloni Streptococcus α tetap dapat dibedakan khususnya bagi tekhnisi yang berpengalaman.

SIMPULAN DAN SARAN

Tidak terdapat perbedaan bermakna pertumbuhan *S. pneumoniae* antara ADD dengan ADM yang diamati dalam hal jumlah koloni, diameter koloni, diameter hemolisis dan karakteristik khas pada pengamatan inkubasi 24 dan 48 jam.

Dalam keadaan sulit menyediakan ADD, ADM dapat digunakan sebagai media alternatif dengan catatan hemolisis yang terjadi mungkin baru tampak setelah 48 jam. Pada penelitian selanjutnya perlu dilakukan pengontrolan kadar hemoglobin dan umur eritrosit pada kedua jenis agar darah, perlu ditambahkan kuman Streptococcus α pada proses *spike* dan membandingkan keoptimalan pertumbuhan *S. pneumoniae* pada media agar darah dan agar coklat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Dr. MM. DEAH Hapsari, Sp. A(K) selaku ketua penguji, Dr. Purnomo Hadi, M. Si selaku penguji dan Dr. Helmia Farida, M. Kes, Sp.A selaku dosen pembimbing serta kepada semua pihak yang telah membantu penelitian dan penyusunan laporan akhir penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ellen Yeh, Benjamin A. Pinsky, Niaz Banaei, Ellen Jo Baron. Hair Sheep Blood, Citrated or Defibrinated, Fulfills All Requirements of Blood Agar for Diagnostic Microbiology Laboratory Tests. *Medical Journal*.2009; 4(7): e6141.
2. Brooks GF, Buttell JS, Stephen A. Morse. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Salemba Medika; 2005.
3. Ikatan Dokter Anak Indonesia. Ikatan Dokter Anak Indonesia (IDAI) pada World Pneumonia Day (Hari Pneumonia Dunia) 2009 [homepage on the Internet]. c2009 [cited 2010 Januari 19]. Available from: <http://www.idai.or.id/Kegiatanidai.asp>
4. Rekap Hasil Pemeriksaan Kultur di RSUP Dr. Kariadi Semarang Bulan Januari-Juni 2009
5. F. M. Russell, S. S. N. Biribo, G. Selvaraj, F. Oppedisano, S. Warren, A. Seduadua, *et al.* As a Bacterial Culture Medium, Citrated Sheep Blood Agar Is a Practical Alternative to Citrated Human Blood Agar in Laboratories of Developing Countries. *J Clin Microbiol*. 2006;44(9): 3346–3351.
6. Stanley S. Tam, Chi-Jen Lee, Ruth E Winter. Hemin Utilization Is Related to Virulence of *Streptococcus pneumoniae*. *American Society for Micobiology*. 1993; p. 5401-5405 Vol. 61, No. 12.
7. Harold S. Kaplan, Donna L. Skerrett. Types of Transfusions. The MERCK online Medical Library [homepage on the internet]. c2007[cited 2010 August 29]. Available from: <http://www.merck.com/mmhe/sec14/ch171/ch171c.html>
8. Abdul Salam A. Al-Abrash, Faizeh A. Al-Quobaili, Ghada N. Al-Akhras. Catalase Evaluation in Different Human Disease Associated with Oxidative Stress. *Saudi Medical Journal* 2000; Vol. 21 (9): 826-830.
9. H. Rauchova, M. Vokurkova, J. Koudelova. Developmental of erythrocyte Catalase Activity in Rats Exposed to Acute Hypoxia. *Physiol. Res*. 2005; 54: 527-32.
10. Gili Regev-Yochay, Krzysztof Trzcinski, Claudette M. Thompson, Marc Lipsitch, Richard Malley. SpxB Is a Suicide Gene of *Streptococcus pneumoniae* and Confers a Selective Advantage in an In Vivo Competitive Colonization Model. *J Bacteriol*. 2007 September; 189(18): 6532–6539.

11. Michael Föller, Ravi S. Kasinathan, Saisudha Koka, Stephan M. Huber, Beat Schuler, Johannes Vogel *et al.* Enhanced susceptibility to suicidal death of erythrocytes from transgenic mice overexpressing erythropoietin. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2007; 293: R1127-34.
12. Melina Lujan Brajovich, Angel Rucci , Irma L. Acosta, Carlos Cotorruelo, Silvia Garcia Borrás, Liliana Racca,*et al.* Effects of Aging on Antioxidant Response and Phagocytosis in Senescent Erythrocytes. [Immunological Investigations](#). August 2009; [38\(6\)](#): 551–9.
13. O Holz, K Richter, RA Jorres, P Speckin, M Mücke, H Magussen. Changes in Sputum Composition between Two Induction Performed on Consecutive Days. *Thorax.* 1998;53:83-86.
14. Sonia A. Gomez, Claudia L. Argüelles, Diego Guerrieri, Nancy L. Tateosian, Nicolás O. Amiano, Rut Slimovich *et al.* Secretory Leukocyte Protease Inhibitor, A Secreted Pattern Recognition Receptor for Mycobacteria. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.* 2009; 179: 247-53.
15. Todar K. *Streptococcus pneumoniae*. *Todar's Online Textbook of Bacteriology* 2004 [homepage on the Internet].c2008 [cited 2010 August 24] 304. Available from: <http://www.textbookofbacteriology.net/>