

BAB II

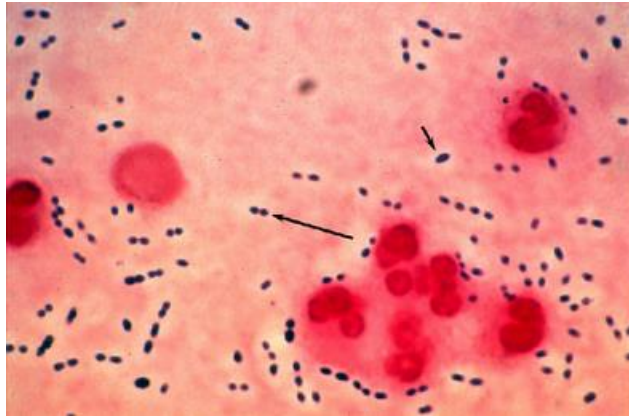
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Streptococcus pneumoniae*

2.1.1 Bakteriologi

Streptococcus pneumoniae (pneumococcus) merupakan bakteri yang berbentuk bulat, termasuk dalam bakteri gram positif, dan memiliki sifat fakultatif pada anaerob. *S.pneumoniae* merupakan flora normal di organ respirasi bagian atas pada 5 - 40% populasi manusia dan dapat menyebabkan pnemonia, sinusitis, otitis, bronkitis, bakteriemia, meningitis, peritonitis, serta infeksi lainnya.¹³ Bakteri ini sering ditemukan berpasangan, meskipun terdapat bakteri yang ditemukan tunggal maupun berkelompok.^{1,14} Bagian ujung belakang tiap pasangan sel secara khas berbentuk tombak (runcing tumpul), tidak membentuk spora dan tidak bergerak. Bakteri ini tersusun dalam bentuk rantai, mempunyai simpai polisakarida yang mempermudah penentuan tipe dengan antiserum spesifik. Panjang rantai sangat bervariasi dan sebagian besar ditentukan oleh faktor lingkungan. Rantai panjang akan muncul bila ditanam dalam perbenihan yang hanya sedikit mengandung magnesium.¹³

Bakteri ini banyak dijumpai dalam bentuk kapsul dan permukaannya terdiri atas kompleks polisakarida yang bersifat patogen bagi organisme.^{1,14} Kapsul menghambat fagositosis dengan cara mencegah terjadinya opsonisasi bakteri oleh komplemen C3b.^{1,15} *S. pneumoniae* tidak mempunyai protein M dan dinding selnya terdiri dari komponen asam teichoic dan peptidoglikan.¹⁵



Gambar 1. *Streptococcus pneumoniae* ¹³

Klasifikasi bakteri *Streptococcus pneumoniae* ¹³

Kingdom : Bacteria

Phylum : Firmicutes

Class : Diplococcic

Ordo : Lactobacillales

Family: Streptococceae

Genus : Streptococcus

Spesies : *Streptococcus pneumoniae*

Infeksi dari bakteri pneumoniae disebabkan oleh *strain* S dari *S.pneumoniae*. *Strain* S dari *Streptococcus pneumoniae* memproduksi kapsul tipis yang melingkupi setiap selnya. Kapsul tersebut terdiri dari polisakarida yang berfungsi melindungi bakteri dari respon imun dari hostnya dan hal tersebut menyebabkan bakteri dapat menyebabkan penyakit. Koloni dari *strain* S terlihat halus karena terdapat kapsul pada permukaannya. Terdapat pula *strain* R yang tidak mensintesis polisakarida karena tidak memiliki kapsul sehingga permukaannya terlihat kasar. *Strain* R tidak menyebabkan penyakit. ¹⁶

2.1.2 Patogenitas

Pada dewasa, tipe 1 - 8 *S.pneumoniae* berpotensi menyebabkan kasus pneumonia *pneumococcus* dan lebih dari sebagian infeksi bersifat fatal. Pada anak, tipe 6, 14, 19, 23 merupakan tipe yang paling sering menimbulkan penyakit.¹³ Kapsul yang dimiliki oleh *S.pneumoniae* melindunginya dari fagositosis dan merupakan faktor yang penting bagi virulensi *pneumococcus*. Varian yang tidak memiliki kapsul tidak dapat menyebabkan infeksi. Faktor virulensi lain yang potensial adalah pneumolysin dengan efek pada membran dan IgA₁ protease.¹⁷

Patogenisitas pneumokokus telah dikaitkan dengan berbagai struktur, yang sebagian besar terletak di permukaannya. Tinggi morbiditas dan mortalitas yang disebabkan oleh mikroorganisme ini namun masih kurang dipahami dan daftar faktor virulensi masih kurang sempurna.¹⁸

Tabel 1. Faktor Virulensi *S. pneumoniae*¹⁸

Virulence factor	Proposed mechanism of virulence ^a	Reference(s)
Capsule	Lack of activation of alternative complement pathway	49, 54, 135
	Resistance to phagocytosis	35, 92, 135
	Deposition of opsonically inactive complement components	8, 72
	No or low immunogenicity of some serotypes	153
Cell wall or CWPS	Inflammatory effects	
	Activation of the alternative complement pathway, resulting in anaphylatoxin production	160, 161
	Enhancement of vascular permeability, mast cell degranulation, PMN activation	78
	IL-1 production increased, cytopathic for endothelium	52, 123
	Mediator of attachment to endothelial cells	52
Pneumolysin	Cytolytic at high concentrations	24
	Cytotoxic at lower concentrations	24
	Inhibition of ciliary movement and disruption of epithelium	45, 126
	Inhibition of bactericidal activity of PMN	112
	Inhibition of lymphocyte proliferation	48
	Inhibition of Ab synthesis	48
	Complement activation	111
IL-1 β and TNF- α production by monocytes increased	73	
PspA	Binding of Fc fragment of Ab	111
	Inhibition of complement activation?	104a
Complement factor H-binding component	Inhibition of complement activation	53, 104
	Inhibition of phagocytosis	53, 104
Autolysin	Release of pneumolysin and cell wall products	89
Neuraminidase ^b	Exposure of "receptors" for pneumococci?	74
Peptide permeases	Enhancement of adhesion	38
Hydrogen peroxide	Lung injury?	43
IgA1 protease	Counteracts mucosal defense mechanisms?	83

^a The mechanisms marked "?" have been suggested but not demonstrated. Most of the mechanisms listed are observed only in vitro. Their significance for pneumococcal virulence remains unknown. IL, interleukin; TNF, tumor necrosis factor. For further explanation see text.

^b This mechanism of virulence has been demonstrated only for viral neuraminidase, not for pneumococcal neuraminidase.

2.1.3 Kultur *S. pneumoniae*

Saat dikultur dengan menggunakan agar darah, *S. pneumoniae* bersifat alfa hemolitik, diameter koloni biasanya berkisar antara 0,5 - 1,25 mm. Pada saat dikultur, bakteri ini biasanya mukoid, dan berwarna keperakan.¹⁵ Bakteri tanpa kapsul akan menghasilkan koloni dengan permukaan yang kasar.¹⁷

Pertumbuhan dari *Streptococcus* memiliki kecenderungan kurang subur pada perbenihan padat atau dalam kaldu, kecuali pada media diperkaya dengan darah atau cairan jaringan. Kuman yang bersifat patogen bagi manusia banyak memerlukan faktor-faktor pertumbuhan. Pertumbuhan dan hemolisis dibantu oleh pengeraman dalam CO₂ 10%. *Streptococcus* patogen tumbuh paling baik pada suhu 37°C. Kebutuhan makanan bervariasi untuk setiap spesies.¹⁹ Energi utama yang digunakan untuk pertumbuhan berasal dari fermentasi glukosa, tetapi dengan fermentasi tersebut, akan menghasilkan produksi dari asam laktat yang dapat membatasi pertumbuhan. Namun hal tersebut dapat diatasi dengan netralisasi menggunakan alkali yang pada interval tertentu dapat menghasilkan pertumbuhan yang besar.^{13,20}

Pada media agar darah sesudah pengeraman selama 18 jam akan membentuk koloni yang bulat, kecil, berdiameter 0,5 - 1 mm, dan dikelilingi zona kehijau-hijauan sama dengan zona yang dibentuk oleh *Streptococcus viridians*. Kuman ini memiliki sifat penting sebagai pembeda dari *Streptococcus viridians* yaitu akan mengalami lisis dalam larutan empedu 10% atau natrium desoksikholat 2% dalam waktu 5 - 10 menit.^{20,21}

Kuman *S.pneumoniae* ini berbeda dari kuman kokus lainnya. Kuman ini

memiliki sifat sensitif terhadap optochin. Koloni yang diduga *S.pneumoniae*, ditanam pada media agar darah, kemudian ditempelkan disk optochin akan tampak zona yang tidak didapati adanya pertumbuhan kuman sekeliling disk optochin.²⁰⁻²²

Pada kondisi anaerob, koloni semakin besar dan lebih mukoid. *S.pneumoniae* dalam pertumbuhannya membutuhkan katalase yang dapat diperoleh dari agar darah untuk menetralkan hidrogen peroksida yang diproduksi oleh bakteri tersebut.¹⁵

2.2 Agar Darah Domba

Agar darah domba (ADD) merupakan media selektif untuk menumbuhkan organisme seperti *S. pneumoniae*, *S. aureus*, dan *S. pyogenes*.²³ ADD juga menjadi gold standart media pertumbuhan bakteri.^{6,7}

Kemampuan media ADD dalam menumbuhkan kuman didukung oleh morfologi dan komposisi dari sel darah merah domba. Diameter sel darah merah darah domba lebih kecil dan memiliki membran sel lebih tipis yang dibandingkan dengan sel darah merah manusia sehingga proses hemolisis akan berlangsung lebih mudah pada darah domba. Darah domba pada tes CAMP (Christie Atkins Munch-Petersen) menunjukkan kandungan *sphingomyelin* yang terdapat di membran sel lebih banyak yaitu sekitar 51% sedangkan darah manusia hanya mengandung 26% *sphingomyelin*. Hidrolisis *sphingomyelin* pada membran sel akan mensensitisasi proses terjadinya hemolitik pada tes CAMP.⁹

Faktor lain yang juga berpengaruh terhadap aktifitas lisis dari sel darah merah domba adalah modulasi permukaan dari aktivasi jalur klasik komplemen yaitu pembentukan C2 dan C3 konvertase. Pada penelitian yang dilakukan EJ Brown ditemukan bahwa EAC14 (*End- Around Carry 14*) yang digunakan C2, sedikitnya 20 kali lebih cepat pada sel darah merah domba dibanding sel darah merah manusia dan marmut pada perlakuan yang sama dalam jumlah molekul C1 dan C4.²⁴

Darah yang digunakan untuk membuat ADD berasal dari darah domba yang diambil dari pungsi vena jugularis, kemudian darah domba disimpan pada suhu 4°C dan dapat digunakan antara kurun waktu 2 sampai 7 hari.⁸ Untuk mencegah terjadi koagulasi sel darah merah dilakukan metode defibrinasi sehingga dapat menghilangkan faktor-faktor pembekuan yang masih tersisa dalam sel darah merah. Proses defibrinasi dilakukan dengan memutar manual secara berulang-ulang darah domba dalam tabung berleher panjang (*glass parell*) sampai fibrin tidak menempel lagi pada sel darah merah.²³

2.3 Agar Darah Manusia

Agar Darah Manusia (ADM) sudah banyak digunakan di negara-negara berkembang, termasuk Indonesia karena mudah dalam persiapan serta lebih ekonomis dibandingkan dengan penggunaan agar darah domba.^{7-9,23} FM Russell menyebutkan dalam laporan penelitian yang dilakukannya, tujuh negara di Asia Pasifik telah secara rutin menggunakan ADM sebagai media kultur bakteri

karena negara dengan iklim tropis seperti Asia Pasifik cukup sulit dalam pengelolaan peternakan domba.²³

Namun beberapa studi membuktikan bahwa ADM kurang dapat menumbuhkan bakteri seperti *S. pyogenes* secara maksimal dibandingkan dengan ADD karena perbedaan ukuran sel darah merah domba dengan sel darah merah manusia dimana sel darah merah domba mempunyai diameter yang lebih kecil dan membran sel yang lebih tipis sehingga mudah mengalami lisis.^{7,9}

Penggunaan darah kadaluarsa dari *whole blood* dapat merubah bentuk dan kandungan zat yang ada dalam sel darah merah. Penyimpanan sel darah merah manusia dalam waktu yang lama dapat mengubah bentuk sel darah merah yang pada awalnya berbentuk sferis menjadi bentuk ekinosit. Penyimpanan darah dalam jangka waktu lama juga menyebabkan adanya peningkatan asam laktat, penurunan pH, penurunan 2-3 diphosphoglisarat (2-3 DPG), peningkatan konsumsi glukosa, peningkatan kadar potasium ekstrasel yang mengakibatkan rusaknya pompa Na-K, dan penurunan ATP yang dapat menurunkan kemampuan eritrosit sehingga eritrosit akan mudah lisis.^{7,9}

Sel darah merah manusia juga diketahui mengandung reseptor antigen, antibodi, agen anti infeksi, dan serum globulin sehingga dapat menghambat bakteri dapat tumbuh dengan maksimal dalam media ADM.^{7,23}

2.4 Supplemented Todd Hewitt Broth (STHB)

2.4.1 Todd Hewitt Broth

Todd hewitt broth (THB) merupakan formulasi media kultur bebas serum yang tinggi akan kandungan protein dan glukosa yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri *Streptococcus* yang bersifat *fastidious*.²⁵ Media THB pada awalnya dikembangkan oleh E.W. Todd dan L.F. Hewitt untuk memproduksi antigen hemolisin dari *Streptococcus*^{26,27} Elliot dalam penelitiannya menemukan bahwa pertumbuhan pada media THB akan menambah pertumbuhan dan dapat mempertahankan protein M yang digunakan untuk mengelompokkan bakteri *Streptococcus* beta hemolitikus.^{25,28} Todd hewitt broth yang awalnya dibuat untuk memproduksi hemolisin dari *Streptococcus* kemudian di modifikasi oleh Updyke dan Nickle sebagai media kultur *Streptococcus* beta hemolitikus untuk tes serologi. Updyke dan Nickle juga memaparkan bahwa media todd hewitt broth merupakan media yang terbaik dibandingkan media pertumbuhan *Streptococcus* grup A lainnya karena adanya teknik *precipitin* yaitu teknik yang memungkinkan antibodi menghasilkan endapan ketika bereaksi dengan antigen.^{25,29} Cherry dan Moody melaporkan bahwa memperkaya swab nasofaringan dalam media THB lebih baik dibanding dengan penanaman langsung pada media agar untuk mendeteksi streptokokus grup A baik dengan metode presipitin maupun dengan antibodi fluoresen. Jones *et al.* juga merekomendasikan penggunaan media ini sebagai media pemer kaya dari swab nasofaring sebelum tes antibodi fluoresen.²⁵

Media THB kaya akan nutrisi yang mengandung pepton, dekstrosa, dan garam.²⁵ Pepton dan infusi jantung memberikan nitrogen dan asam amino esensial

untuk menumbuhkan *Streptococcus* beta hemolitikus dan mencegah pembentukan proteinase, protein M, tipe spesifik dihambat oleh proteinase. Dekstrose sebagai sumber energi yang menstimulasi produksi hemolisin *Streptococcus*. Disodium fosfat dan sodium karbonat berfungsi sebagai buffer yang melawan zat asam yang dihasilkan dari fermentasi dekstroza sehingga dapat melindungi hemolisin diinaktivasi oleh asam.³⁰ Disodium fosfat dan Natrium bikarbonat sebagai buffer penghambat asam juga mencegah pemecahan antigen hemolisin streptococcal. Dinatrium fosfat juga ditemukan memiliki efek yang menstimulasi pertumbuhan pneumokokus.²⁹

2.4.2 Serum Kelinci

Serum merupakan cairan bening yang terpisah dengan darah yang didapat dengan cara membiarkan darah dalam tabung reaksi (tanpa anti koagulan) membeku dan kemudian disentrifugasi dengan kecepatan tinggi untuk mengendapkan semua sel-selnya. Serum tampak jernih dan mengandung zat antibodi. Antibodi ini berfungsi untuk membinasakan protein asing yang masuk ke dalam tubuh. Protein asing yang masuk ke dalam tubuh disebut antigen. Serum hiperimun adalah imunisasi (penyuntikan) dengan sengaja terhadap hewan dengan suatu antigen yang spesifik dalam rangka untuk mendapatkan suplai antibodi. Antibodi ini didapatkan dengan dengan jalan mengumpulkan sampel darah hewan yang diimunisasi, yang kemudian dapat berguna sebagai serum hiperimun.³¹

Serum kelinci sebagai media diperkaya dari STHB diketahui dapat digunakan sebagai media pertumbuhan bakteri *S. pneumoniae*.¹¹ Total volume darah kelinci

dapat dihitung sekitar 7,5 % dari bobot tubuh. Pengambilan darah pada kelinci pada umumnya dilakukan adalah 10% dari total volume darah dalam selang waktu 2 - 4 minggu atau 1% dalam interval 24 jam. Pengambilan darah dapat dilakukan di beberapa lokasi, yaitu arteri sentral telinga, bagian lateral vena saphena, vena jugularis, vena cava inferior, dan jantung.³²

Tabel 2. Analisis serum kelinci³³

Parameter	Nilai	Satuan
Albumin	25-40	g/l
Bilirubin – total	3.4 – 8.5	µmol/l
Gamma GT	0 – 7	IU/l
Globulin	25 - 40	g/l
Albumin/globulin rasion	0.7 – 1.89	
Protein – total	50 - 75	g/l
Acid phosphatase (AP)	0.3 – 2.7	IU/l
Alanine aminotransferase (ALT)	55 - 260	IU/l
Alkaline phosphatase (ALP)	10 - 96	IU/l
Amylase	200 - 500	IU/l
Aspartate aminotransferase (AST)	10 - 98	IU/l
Creatinine phosphokinase (CK)	140 – 372	IU/l
Lactate dehydrogenase	132 - 252	IU/l
Bicarbonate	16 - 32	mmol/l
Calcium – ionized	1.71	mmol/l
Calcium – total	3.0 – 5.0	mmol/l
Chloride	92 - 120	mmol/l
Iron	33 - 40	µmol/l
Lead	2 - 27	mmol/l
Magnesium	0.8 – 1.2	mmol/l
Phosphate – inorganic	1.0 – 2.5	mg/dl

Tabel 3. Analisis serum kelinci ³³ (lanjutan)

Phosphorus	4 - 6	mmol/l
Potassium	4.0 – 6.5	mg/dl
Sodium	130 – 155	mmol/l
b-OH butyrate	< 1	mmol/l
BUN	13 - 30	mg/dl
Bile acids	3 - 15	µmol/l
Bilirubin	< 20	µmol/l
Cholesterol	0.1 – 2.00	mmol/l
Cortisol (resting)	1.0 – 2.04	µg/dl
Cortisol after stimulation with ACTH	12.0 – 27.8	µg/dl
Creatinine	53 – 124	µmol/l
Glucose	75 – 140	mg/dl
Phospholipids	40 - 140	mg/dl
Serum lipids	150 - 400	mg/dl
T ₄	82.37 – 106.82	nmol/l
Triglycerides	1.4 – 1.76	mmol/l
Urea	9.1 – 25.5	mmol/l
Uric acid	1 – 4.3	mg/dl
Vitamin A	30 – 80	µg/l
Vitamin E	> 1	µg/ml

2.4.3 Ekstrak Yeast 0,5 %

Yeast merupakan organisme eukariotik yang penting dalam kingdom Fungi. *Yeast* sejak dahulu sudah dimanfaatkan pada berbagai macam hal termasuk fermentasi, bioremediasi, dan beberapa percobaan di bidang biologi. *Nutrient cell* yang terdapat dalam *yeast* dimanfaatkan dalam berbagai tujuan. *Nutrient cell* inilah yang dikenal sebagai ekstrak *yeast*.³⁴

Ekstrak *yeast* dapat dibuat dengan dua cara, yaitu menghidrolisis ekstrak *yeast* yang disebut *yeast pepton* dan dengan cara autolisis. *Yeast pepton* dibuat

dengan mencerna protein menggunakan enzim atau asam. Sedangkan dengan cara autolisis dibuat dengan memfermentasikan yeast dengan konsentrasi berbeda sehingga dinding sel rusak. Ekstrak *yeast* yang dihasilkan berasal dari bagian yang larut air. Perbedaan dari kedua cara pembuatan adalah pada waktu tahap autolisis dari proses pembuatannya dengan cara autolisis lebih pendek yang mengakibatkan hidrolisis parsial konstituen *yeast* sehingga dinding sel tidak dapat dihapus dan menghasilkan produk yang hanya sebagian larut dalam air.

Ekstrak *yeast* digunakan sebagai stimulator pertumbuhan bakteri. Ekstrak yeast mengandung vitamin, nitrogen, asam amino, dan karbon yang dibutuhkan untuk kultur mikrobiologi dan kultur sel.³⁵

Tabel 3. Analisis Ekstrak Yeast³⁶

Asam Amino mg/100g berat kering		Karbohidrat mg/100g berat kering		Vitamin mg/100g berat kering	
Arginin	1,99	Karbohidrat	23,2	B1	2,23
Histidin	2,63	Glukosa	13,33	B2	1,33
Isoleusin	2,31			B6	1,25
Leusin	3,09			B12	0,15
Lisin	2,95			Tiamin	2,71
Metionin	0,72			Riboflavin	4,96
Fenilalanin	2,01			Inositol	0,26
Treonin	2,09			Biotin	0,09
Triptofan	0,45			Asam nikotinat	39,88
Valin	2,19			Asam pantotenat	19,56
Asam glutamat	2,00			Asam p-amino benzoat	9,23
Serine	1,59			Asam folat	4,36
Asam aspartat	1,33			Piridoksin	2,90
Sistin	0,23				
Prolin	1,53				
Tirosin	1,49				

2.5 Sifat Pertumbuhan Bakteri *S. pneumoniae* pada Agar Darah

2.5.1 Kuantitas koloni

Kuantitas koloni *S.pneumoniae* pada agar darah dapat dinilai dengan menggunakan metode T-Streak. Metode ini dilakukan dengan cara membagi media agar darah menjadi 4 bagian dan menggoreskan spesimen *S.pneumoniae* pada 4 zona tersebut. Pada metode ini, goresan di sisi pertama (zona 1) diharapkan koloni tumbuh padat dan berhimpitan, sedangkan pada goresan sisi kedua (zona 2), koloni mulai tampak jarang dan begitu pula selanjutnya, sehingga didapatkan koloni yang tampak tumbuh terpisah dengan koloni lain. Jika pada zona ketiga dan keempat masih ditemukan koloni tumbuh padat berhimpitan hal ini menunjukkan bahwa terdapat banyak jumlah bakteri dalam spesimen yang ditanam pada agar darah. Jumlah koloni dari berbagai strain *S. pneumoniae* menunjukkan hasil yang hampir sama baik pada media agar darah manusia maupun domba.²³

2.5.2 Diameter Koloni

Diameter koloni kuman berbagai strain tampak lebih kecil dan aktifitas hemolisis alfa tidak nampak jelas pada koloni yang tumbuh di media agar darah manusia. Dari penelitian FM Russel diketahui pada media agar darah domba yang didefibrinasi, *S. pneumonia* strain ATCC 49619 akan terlihat morfologi koloni abu-abu kering, berdiameter 1 mm, dan hemolisis alfa yang jelas 1 mm. Sedangkan pada media agar darah manusia, strain tersebut tampak abu-abu mengkilat, diameter jarum, dan tidak nampak hemolisis alfa.²³

2.5.3 Aktivitas Hemolisis

Pneumococcus mudah dilisis oleh zat aktif permukaan, misalnya garam-garam empedu. Zat aktif permukaan mungkin menghilangkan atau menonaktifkan penghambat autolisis dinding sel.¹³ Dari penelitian FM Russell disebutkan bahwa sifat hemolisis alfa dari *S. pneumoniae* dapat dilihat dengan baik pada media agar darah domba dan kuda. Keduanya menunjukkan hemolisis alfa yang tampak jelas, dengan zona hemolisis 1 mm untuk media agar darah kuda serta media agar darah domba terdefibrinasi, dan 1 - 5 mm untuk media agar darah domba sitras. Akan tetapi, zona alfa hemolisis tidak nampak pada *S. pneumoniae* yang ditumbuhkan di media agar darah manusia.²³

2.5.4 Karakteristik Tampilan Kuman

Kuman yang diisolasi di lempengan agar dapat dinilai dalam hal: ³⁷

- a. Ukuran : jarum (*pinpoint*), kecil, sedang, atau besar.
- b. Pigmentasi : warna dari koloni
- c. Bentuk : bentuk koloni dibagi menjadi beberapa, yaitu
 - 1) Sirkuler : tepi rata yang melingkar.
 - 2) Ireguler : tepi yang bertakik, tidak teratur
 - 3) Rizoid : pertumbuhan yang menyebar seperti akar.
- d. Tepi : Tampilan dari tepi luar koloni di bagi menjadi beberapa tampilan yaitu,
 - 1) Entire : berbatas jelas, tajam, dan rata.
 - 2) Lobata : tepi bertakik jelas dan tajam.

- 3) Undulata : tepi bertakik bergelombang dangkal.
- 4) Serata : tepi tampak seperti gigi.
- 5) Filamentosa : tepi menyebar seperti benang.
- e. Elevasi : pertumbuhan koloni yang timbul pada agar dibagi menjadi,
 - 1) Datar : tidak terlihat peninggian.
 - 2) Timbul : sedikit meninggi.
 - 3) Konveks : peninggian berbentuk kubah.
 - 4) Umbonata : sedikit meninggi dengan bentuk konveks di tengah.

S. pneumoniae akan membentuk koloni bundar dan kecil, awalnya berbentuk kubah lalu berkembang membentuk pusat plateu dengan tepi yang mengalami peninggian.¹³ Koloni *S. pneumoniae* pada agar darah dikenal dengan sebutan *draughtsman colony*. Berdasarkan kandungan protein M, *Streptococcus* dibagi menjadi koloni Matt dan Glossy. Koloni Matt terbentuk jika terdapat kandungan protein M dan biasanya jenis ini merupakan bakteri virulen. Sedangkan *S. pneumoniae* yang tidak mengandung protein M koloni berbentuk Glossy. Variasi pertumbuhannya adalah isolat *S.pneumoniae* yang menghasilkan sejumlah besar kapsul akan tampak sebagai koloni mukoid besar.^{15,37-39}



Gambar 2. Koloni *S.pneumoniae*⁴⁵

2.6 Swab Nasofaring

Dalam pemeriksaan mikroorganisme yang terdapat pada saluran pernapasan atas manusia, nasofaring dan orofaring direkomendasikan sebagai tempat pengambilan sampel yang tepat untuk mendeteksi *S. pneumoniae*. Pada anak, pengambilan sampel sebaiknya melalui nasofaring saja sedangkan pada orang dewasa sebaiknya melalui nasofaring dan orofaring. Pengambilan sampel melalui mulut juga dinilai lebih efektif dibanding melalui hidung.

Keberhasilan dari kultur *S. pneumoniae* tidak lepas dari beberapa faktor yang mempengaruhi, diantaranya adalah keberadaan bakteri lain yang berkolonisasi bersama *S. pneumoniae*, karakteristik serotipe, dan pola distribusinya di suatu daerah.

2.6.1 Keberadaan Bakteri Lain Yang Berkolonisasi

Dalam suatu penelitian yang dilakukan di negara maju, yaitu Brazil, Amerika Selatan. Dalam penelitian tersebut didapatkan bahwa karier *Klebsiella pneumoniae* hanya 1,4 % pada anak dan karier bakteri Basil Gram negatif sebesar 9%. Sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Farida, *et al* didapatkan bahwa

jumlah bakteri lain yang melakukan kolonisasi bersama *S.pneumoniae* yang berasal dari swab nasofaring balita dan dewasa di Indonesia cukup tinggi. Karier *K.pneumoniae* pada dewasa lebih tinggi yaitu 15 % dibandingkan pada anak sebesar 7%. Sedangkan karier Bakteri Basil Gram negatif pada dewasa sebesar 19% dan pada anak 20%.⁴⁰

Tingginya angka bakteri lain yang melakukan kolonisasi bersama *S.pneumoniae* tentu dapat mengacaukan hasil kultur *S.pneumoniae*.

Dari perbandingan hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa jumlah bakteri Gram negatif yang melakukan kolonisasi di negara maju lebih sedikit dibandingkan di negara berkembang seperti Indonesia. Tingginya angka karier *K.pneumoniae* dan Basil Gram negatif pada individu sehat di Semarang, Indonesia disebabkan oleh higienitas yang buruk, terutama terkait higiene minuman dan makanan. *K.pneumoniae* dan Basil Gram negatif merupakan flora normal yang menempati usus manusia, sehingga dapat mengkontaminasi air terutama di negara dengan sanitasi yang buruk.⁴⁰

Tabel 4 Distribusi dari kolonisasi nasofaring pada anak dan dewasa di Semarang⁴⁰

Carriage type ^a	No. (%) of subjects with this carriage type		
	Children (n = 243)	Adults (n = 253)	All subjects (n = 496)
Noncarrier	107 (44)	157 (62)	264 (53)
Total carriers			
<i>K. pneumoniae</i>	16 (7)	38 (15)	54 (11)
Other GNB	49 (20)	47 (19)	96 (19)
<i>S. pneumoniae</i>	105 (43)	28 (11)	133 (27)

2.6.2 Karakteristik Serotipe

Jenis serotipe dari *S. pneumoniae* pada agar darah menghasilkan gambaran koloni yang berbeda. Berdasarkan tampilannya diklasifikasikan menjadi mukoid dan non mukoid. Berdasarkan besar koloni, dibedakan menjadi kecil, sedang, dan besar.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Allegrucci, *et al.* gambaran variasi koloni yang tampak pada agar darah karena perbedaan serotipe *S.pneumoniae*.¹⁴ Strain *S. pneumoniae* dan variasi morfologi koloni disajikan dalam tabel berikut,

Tabel 5. Karakteristik koloni beberapa serotipe *S.pneumoniae*¹⁴

Serotipe	Tampilan koloni pada agar darah	Diameter koloni (mm)
3	Mukoid besar	4-5
9	Mukoid kecil	1-1,5
14	Mukoid kecil	1-1,5
11	Mukoid kecil	1-1,5
23	Mukoid kecil	1-1,5
6	Mukoid kecil	1-1,5
18	Mukoid kecil	1-1,5
19	Mukoid kecil	1-1,5

2.6.3 Pola distribusi

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk melihat pola distribusi serotipe dari bakteri *S.pneumoniae* di Indonesia. Hadinegoro *et al* melakukan penelitian mengenai karier *S.pneumoniae* pada balita di Lombok, Indonesia. Subjek penelitian tersebut sejumlah 1200 balita sehat berumur 2 bulan sampai 5 tahun. Serotipe

S.pneumoniae yang paling banyak ditemukan diantaranya 6A/B(sejumlah 22% strain *S.pneumoniae*),19F(11%), 23F(10%), 15B/C (8%), 19A (4%) dan 14 (4%).⁴¹

Tabel 6 Serotipe *S.pneumoniae* yang ditemukan dari nasofaring balita di daerah Lombok, Indonesia.⁴¹

No	Serotipe	Jumlah (%) yang diisolasi
1.	6A/B	120 (22)
2.	19F	64 (11)
3.	23 F	58 (10)
4.	15B/C	45 (8)
5.	19A	24(4)
6.	14	20(4)
7.	11A	19(3)
8.	10A	13(2)
9.	35B	10(2)
10.	18	9(2)
11.	Tipe lain	60(11)
	- 34	7
	- 22F	7
	- 35F	7
	- 15A	6
	- 3	5
	- 20	4
	- 31	4
	- 4	3
	- 17F	3
	- 7F	3
	- 1	2
	- 12F	2
	- 33F	1
	- 7C	1
	- 9V	1
12.	Tidak diketahui	115 (21)

Farida *et al* juga melakukan penelitian mengenai karier *S.pneumoniae* di Semarang, Indonesia. Dalam penelitian tersebut prevalensi karier *S.pneumoniae* pada balita (6 - 60 bulan) dan dewasa (45 - 75 tahun) yaitu 43% dan 11%. Serotipe yang paling banyak ditemukan adalah 6A/B dan 15B/C.⁴⁰

Tabel 7 Serotipe *S.pneumoniae* yang ditemukan dari nasofaring balita di daerah Semarang, Indonesia.⁴⁰

No	Serotipe	Jumlah (%) yang diisolasi	
		Anak	Dewasa
1.	6A/B	21(19)	12(39)
2.	15 B/C	11(10)	4(13)
3.	11A	11(10)	1(3)
4.	23F	10(9)	1(3)
5.	19F	9(8)	0(0)
6.	23A	5(5)	0(0)
7.	15A	2(2)	3(10)
8.	Tipe lain	22(20)	2(6)
9.	Tidak diketahui	20(18)	8(26)

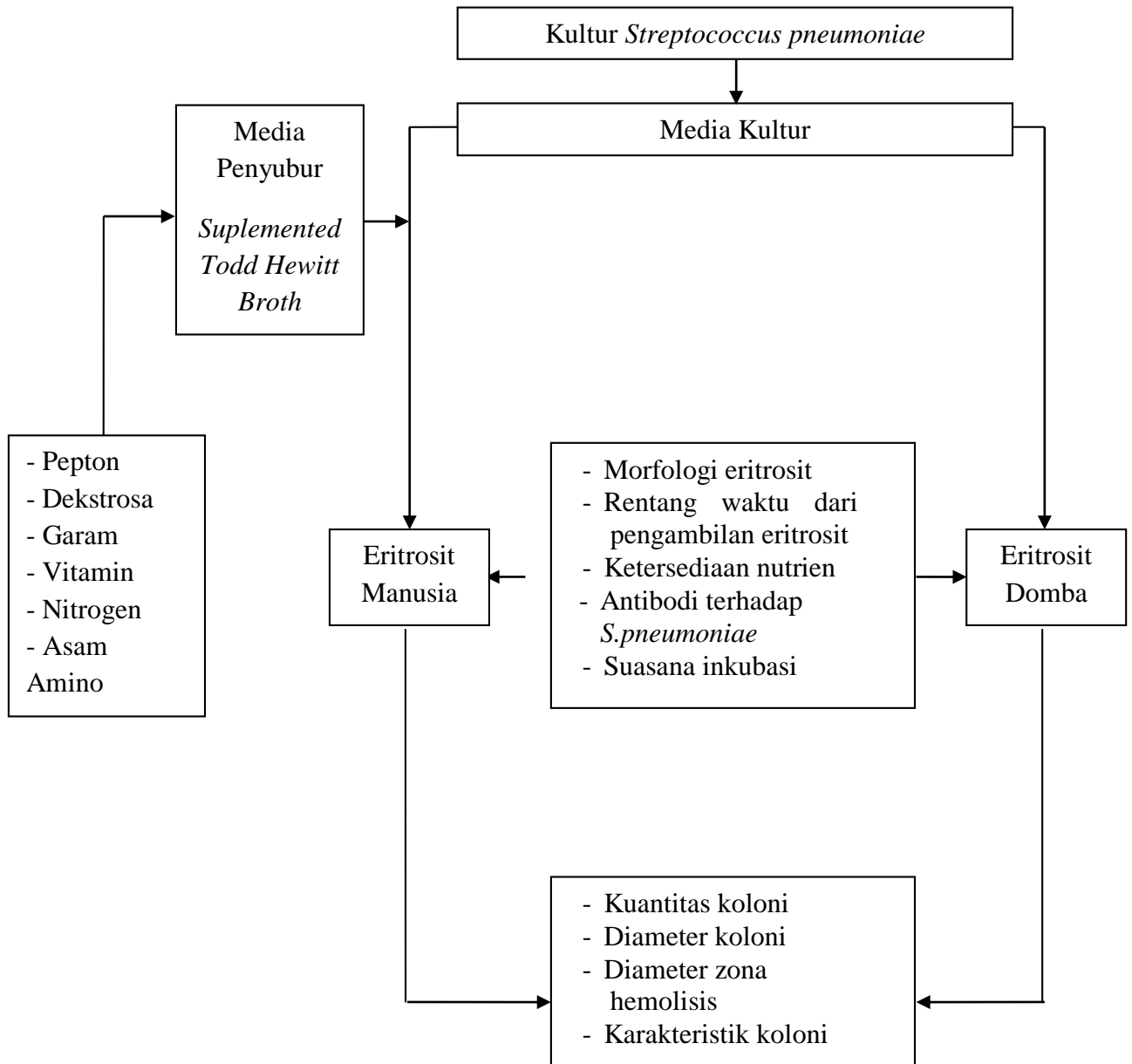
Karakteristik serotipe yang ditemukan dari penelitian dari Farida *et al* dan Hadinegoro *et al* hampir sama.

2.7 Pengaruh Preinkubasi dalam STHB (*Suplemented Todd Hewit Broth*)

Pada penelitian yang dilakukan oleh Carvalho, *et al.* menemukan bahwa dengan preinkubasi dalam STHB yang diperkaya dengan serum kelinci dan ekstrak yeast 0,5% dapat meningkatkan jumlah strain *S. pneumoniae* yang berhasil diidentifikasi serta meningkatkan deteksi dari berbagai serotipe *S.pneumoniae* baik dengan menggunakan metode molekular maupun dengan metode kultur.

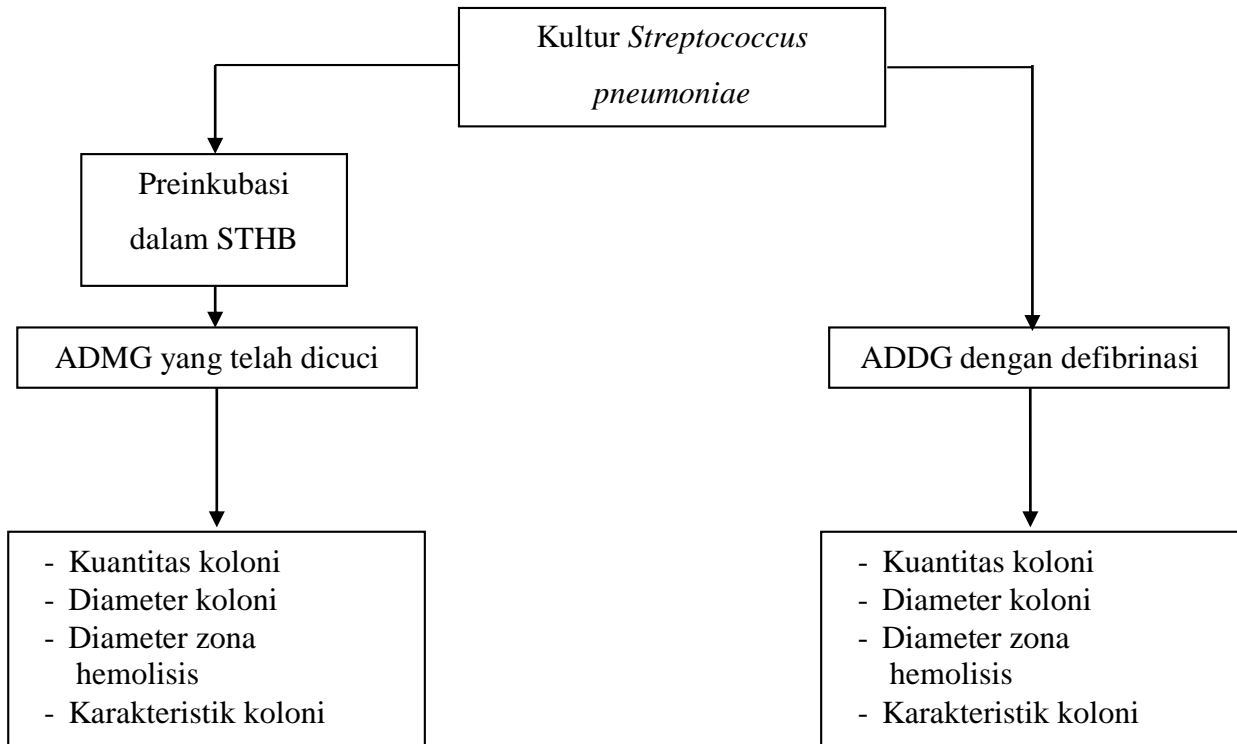
Kekurangan dari preinkubasi dalam STHB adalah dapat menyebabkan *S. pneumoniae* tumbuh berlebihan dan tidak semua serotipe *S. pneumoniae* tumbuh dalam jumlah yang sama. Karena hal tersebut, penggunaan STHB sebaiknya tidak lebih dari 6 jam sebagai pencegahan terjadinya kompetisi berlebih yang dapat menyebabkan hambatan dalam pertumbuhan strain minoritas.¹¹

2.8 Kerangka Teori



Gambar 3. Kerangka Teori

2.9 Kerangka Konsep



Gambar 4. Kerangka Konsep

2.10 Hipotesis

Pertumbuhan *S.pneumoniae* yang ditanam pada ADMG dan preinkubasi dalam STHB lebih baik daripada yang ditanam pada ADDG tanpa preinkubasi STHB yang diukur dari kuantitas koloni yang lebih banyak, diameter koloni lebih besar, diameter zona hemolisis lebih besar. Dan karakteristik tampilan koloni lebih mudah dibedakan.