

**AKTIVITAS PERTUMBUHAN *Mycobacterium tuberculosis* PADA MEDIA
COCO BLOOD MALACHITE GREEN SEBAGAI ALTERNATIF PENGGANTI
MEDIA LOWENSTEIN JENSEN**

*Growth Activity of Mycobacterium tuberculosis on Coco Blood Malachite Green Media
as an Alternative to Lowenstein Jensen*

Zulfian Armah, Rafika, Rahman, Arwin, Herdiana, Nurul Syafika
Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Makassar

Koresponden: rafikauddinramli@gmail.com, 082345553522

ABSTRACT

Culture is the Gold Standard for diagnostic Tuberculosis. Culture media Mycobacterium tuberculosis relatively expensive and takes a long time to grow, so alternative media are relatively cheaper and have a faster growth time. This study aims to determine the growth time and fertility of Mycobacterium tuberculosis on Coco Blood Malachite Green media and Lowenstein Jensen media. This research is an experimental research with Post-test Only Control Group design. Coco Blood Malachite Green containing old coconut water, blood agar base and blood transfusion leftovers can support growth of Mycobacterium tuberculosis. This research was conducted at the Tuberculosis Laboratory of Balai Besar Laboratorium Kesehatan Makassar. This study used a pure strain of Mycobacterium tuberculosis H37RV with the results showing the growth of Mycobacterium tuberculosis appeared in the second week. The colony growth was found to grow but not fertile on Coco Blood Malachite Green (CMB). Meanwhile, on Lowenstein Jensen, fertile growth was obtained. The data were analyzed using the Mann Whitney Test, the results obtained were different from the growth on Coco Blood Malachite Green media and Lowenstein Jensen in the growth of Mycobacterium tuberculosis with a probability value of sig. (0.025). Based on this, it can be concluded that Lowenstein Jensen is better than Coco Blood Malachite Green in growing Mycobacterium tuberculosis.

Keywords: *Blood agar base, blood transfusion, Cocos nucifera L, Mycobacterium tuberculosis*

ABSTRAK

Kultur merupakan *Gold Standard* untuk menegakkan diagnosis *Tuberculosis*. Media kultur *Mycobacterium tuberculosis* relatif mahal dan membutuhkan waktu yang lama untuk pertumbuhannya, maka diupayakan media alternatif yang relatif lebih murah dan waktu pertumbuhan yang lebih cepat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui waktu tumbuh dan kesuburan pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* pada media *Coco Blood Malachite Green* dan media *Lowenstein Jensen*. Penelitian ini merupakan penelitian yang dilakukan secara eksperimental dengan desain penelitian *Post-test Only Control Group design*. Media *Coco Blood Malachite Green* yang mengandung air kelapa tua, base agar darah dan darah sisa transfusi dapat mendukung pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis*. Penelitian ini dilakukan bulan April 2022 di Laboratorium

Tuberkulosis Balai Besar Laboratorium Kesehatan Makassar. Penelitian ini menggunakan strain murni *Mycobacterium tuberculosis* H37RV dengan hasil penelitian menunjukkan pertumbuhan koloni *Mycobacterium tuberculosis* tampak pada minggu kedua. Didapatkan pertumbuhan koloni tumbuh namun tidak subur pada media *Coco Blood Malachite Green* (CMB). Sedangkan, pada media *Lowenstein Jensen* didapatkan pertumbuhan yang subur. Data dianalisis menggunakan *Mann Whitney Test*, hasil yang didapatkan ada perbedaan dari pertumbuhan pada media *Coco Blood Malachite Green* dan media *Lowenstein Jensen* dalam pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* dengan nilai probabilitas nilai sig. (0,025). Berdasarkan hal tersebut dapat disimpulkan bahwa media *Lowenstein Jensen* lebih baik dibanding media *Coco Blood Malachite Green* dalam menumbuhkan *Mycobacterium tuberculosis*.

Kata kunci : Base agar darah, darah transfusi, *Cocos nucifera* L, *Mycobacterium tuberculosis*

PENDAHULUAN

Mikroorganisme membutuhkan suatu media. untuk pertumbuhannya. Media pertumbuhan bakteri harus memenuhi kebutuhan nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan (Atlas,2004). Selain dari pemenuhan nutrisi, pH yang sesuai, masa inkubasi, suhu, serta kondisi media yang steril juga harus diperhatikan (Nurdin, 2020).

Salah satu media selektif yang digunakan dalam mendiagnosis bakteri secara kultur yaitu *Lowenstein Jensen* untuk menumbuhkan bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Media ini merupakan media sintetis yang mengandung telur dan diperkaya dengan gliserol yang dapat menyuburkan pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* serta asparagin (Daulay *et al.*, 2015).

Dalam mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* metode kultur tetap menjadi *gold standard* (Du *et al.*, 2019). Namun, media *Lowenstein Jensen* yang umum digunakan untuk pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* ini memiliki harga yang relatif mahal dan memiliki masa pertumbuhan yang cukup lama hingga 8 minggu (Nagarajan *et al.*, 2012).

Lama masa pertumbuhan serta harga media yang mahal sehingga

dibutuhkan suatu inovasi seperti membuat media alternatif yang mampu menghasilkan pertumbuhan

Mycobacterium tuberculosis yang baik serta membutuhkan biaya yang lebih murah. Kebanyakan media alternatif diperoleh dari bahan-bahan alam seperti pada penelitian (Nuraeni & Sebayang, 2018) memanfaatkan air kelapa (*Cocos nucifera*). Menurut (Molnar, Virag & Ordog, 2011) menyatakan bahwa air kelapa dan santan, mengandung asam organik, asam nukleat, asam amino, beberapa vitamin, alkohol, dan karbohidrat, hormon tanaman, mineral dan zat lainnya, sehingga dapat digunakan sebagai media kultur. Pada penelitian Nuraeni (2018) menjadikan air kelapa sebagai salah satu komposisi dasar dalam pembuatan media *Coco Blood Malachite Green* (CMB).

Coco Blood Malachite Green (CMB) mengandung media *base agar darah* yang merupakan media umum (*universal media*) memiliki komposisi protein dan karbohidrat serta penambahan darah domba 5% yang dapat digunakan sebagai media alternatif yang hemat biaya dan waktu, dengan pertumbuhan yang lebih baik dibandingkan dengan media agar berbasis telur.

Penelitian yang dilakukan Nuraeni (2018) membuat media modifikasi untuk pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* yaitu *Coco Blood Malachite Green* (CMB) dengan menggunakan *base agar darah* dengan tambahan darah domba 5% yang dimodifikasi dengan air kelapa tua (*Cocos nucifera*) dengan menggunakan konsentrasi yang berbeda yaitu 50%, 75% dan 100%. Hasil yang didapatkan ternyata air kelapa dapat dimanfaatkan sebagai media alternatif karena pada konsentrasi air kelapa 100% *Mycobacterium tuberculosis* dapat tumbuh pada hari ke 14 masa inkubasi. Hal ini sejalan juga dengan pertumbuhan pada media *Lownstein Jensen* yang juga tumbuh pada hari ke 14 (Nuraeni and Sebayang, 2018). Selain itu, penelitian ini menggunakan media *base agar darah* serta penambahan darah domba 5% didapatkan hasil yang sejalan juga dengan penelitian Drancourt dan Raoult (2007) bahwa media agar darah dapat digunakan untuk pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* karena pada pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan *Ziehl-Neelsen* menunjukkan bakteri tahan asam berbentuk batang berwarna merah (Drancourt and Raoult, 2007).

Berdasarkan penelitian sebelumnya, peneliti tertarik untuk melakukan modifikasi komposisi media CMB dengan mengganti penggunaan darah domba menjadi darah sisa transfusi karena menurut penelitian dari (Nurhidayanti, 2019) darah domba dapat digantikan dengan darah sisa transfusi untuk menumbuhkan bakteri *Streptococcus pyogenes* dan hasil yang didapatkan adalah pertumbuhan jumlah koloni pada media agar darah manusia tidaklah jauh beda dengan pertumbuhan bakteri pada agar darah domba. Kemudian, seperti yang kita ketahui

bahwa darah domba di Indonesia tidak mudah kita dapatkan. Pada fenomena yang pernah peneliti lihat terjadi reaksi transfusi pada pasien yang menyebabkan terjadi terjadi pembuangan darah sehingga darah tidak dapat dipergunakan lagi.

Tujuan penelitian untuk membuat media alternatif *Coco Blood Malachite Green* (CMB) sebagai media pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* dengan modifikasi menggunakan darah sisa transfusi.

METODE

Desain, tempat dan waktu

Jenis penelitian yang digunakan ialah eksperimental dengan desain penelitian *Post-test Only Control Group Design*. Desain penelitian ini membandingkan dua kelompok aktivitas pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* yaitu membuat media alternatif *Coco Blood Malachite Green* (CMB) kemudian dibandingkan dengan media kontrol *Lowenstein Jensen*. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Tuberkulosis Balai Besar Laboratorium Kesehatan Makassar pada bulan April 2022.

Sampel

Sampel penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah air kelapa tua dan darah sisa transfusi untuk pembuatan media *Coco Blood Malachite Green* (CMB).

Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *hot plate*, autoklaf, mikroskop, botol *Mc Cartney*, Erlenmeyer steril, gelas ukur steril, corong steril, *beaker glass*, *aluminium foil*, batang pengaduk, pipet steril, pisau steril, inspisator, blender stainless steel, *magnetic stirrer*, ose, neraca digital, bunsen, sendok tanduk, mikropipet, tip biru, spuit filter, BSC II, vortex,

inkubator, tabung anulir, kuvet dan Rapid test MPT64. Adapun bahan yang digunakan media *Lowenstein Jensen*, *Blood agar*, strain murni *Mycobacterium tuberculosis* H37RV, *Mycobacterium fortuitum*, aquadest, malachite green 2%, air kelapa tua, gliserol, darah sisa transfusi, telur bebek, PBS pH 6,8 dan pewarnaan *ziehl neelsen* (*Carbol fuchsin* 1%, asam alkohol 3% dan *methylen blue* 0,1%).

Prosedur Kerja

1. Pembuatan media *Coco Blood Malachite Green* (CMB)

Pada pembuatan media *Coco Blood Malachite Green* (CMB) adalah memasukkan 4 gram *blood agar* dan 1,25 ml glyserol ke dalam erlenmeyer, ditambahkan 20 ml aquadest. Kemudian, dihomogenkan. Setelah itu, ditambahkan 3 ml *malachite green* 2%. Disterilkan selama 15 menit di autoklaf pada suhu pada suhu 121 °C. kemudian, *blood agar* yang telah disterilkan didinginkan hingga suhu 50 °C.

Dilakukan penambahan 100 ml air kelapa tua secara aseptis menggunakan spuit filter dan air kelapa ditampung dalam erlenmeyer steril, kemudian dihomogenkan dengan menggunakan *magnetic stirrer* hingga didapatkan *Coconut Nutrient Agar*. Setelah itu, disiapkan darah sisa transfusi yang didapatkan dari Unit Transfusi Darah sebanyak 7 ml kemudian dihomogenkan. Campuran ini dihomogenkan hingga rata kemudian dimasukkan 6- 8 ml ke dalam botol *Mc Cartney*. Kemudian, didiamkan dalam posisi miring hingga media padat.

2. Pembuatan Media *Lowenstein Jensen* (LJ)

Pembuatan media *Lowenstein Jensen* adalah dibuat suspensi telur bebek yang sudah bersih, kering

dan sudah direndam dalam alkohol 70% selama 15 menit kemudian dipecahkan dan ditampung di wadah *stainless* yang sudah disterilisasi lalu di *mixer* kurang lebih 2 detik atau sampai terlihat homogen tetapi jangan sampai terjadi gelembung kemudian disaring dan diukur sebanyak 1000 ml.

Setelah Suspensi telur jadi, Langkah selanjutnya adalah membuat Media base *Lowenstein-jensen* dengan menimbang sebanyak 3,72 g base *Lowenstein-jensen*. Kemudian, melarutkannya ke dalam 600 ml aquadest dan menambahkan 12 ml *glycerol* dan *malachite green* 2% sebanyak 10 ml. Kemudian, larutan dimasukkan kedalam autoklaf selama 30 menit pada 121°C untuk disterilkan setelah itu, didinginkan diatas *magnetic stirrer*. Setelah dingin suspensi telur sebanyak 1000 ml dan base *Lowenstein jensen* dicampurkan sampai homogen dengan menggunakan *magnetic stirrer* yang ditandai dengan warna hijau *malachite* yang merata kemudian media disaring dengan menggunakan kasa steril, setelah itu dituang ke dalam botol *Mc Cartney* sebanyak 6 – 8 ml . kemudian, botol yang berisi media dimasukkan kedalam inspikator pada suhu 85°C selama 45 menit dengan posisi miring. Setelah selesai, media dikeluarkan dan didinginkan pada suhu ruang .

3. Uji Sterilitas Media

Uji sterilitas media diambil 5%- 10% media yang telah dibuat kemudian diinkubasi pada suhu 35-37 °C selama 2x 24 jam atau semua media yang telah dibuat diinkubasi selama 1 x 24 jam. Apabila tidak terdapat pertumbuhan koloni, media dapat digunakan. Namun, apabila

terdapat pertumbuhan koloni maka seluruh media dibuang dan dilakukan pembuatan media yang baru (BBLK, 2018).

4. Uji Kesuburan Media Padat

Dilakukan inokulasi pada media dengan menggunakan *Mycobacterium rapid grower* yaitu *Mycobacterium fortuitum*, atau spesies lain seperti *Mycobacterium abscessus* dan *Mycobacterium chelonae* dengan menggunakan standar Mc Farland 0,5- 1,0 dan diambil pada pengenceran 10^{-3} . Apabila dalam waktu 5 hari tidak terdapat pertumbuhan *M. fortuitum*, media dikategorikan tidak baik dan tidak layak dipakai. Pada media yang baik akan tampak pertumbuhan yang cukup rapat. (BBLK, 2018).

5. Kultur *Mycobacterium tuberculosis*

Penanaman pada media pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* dilakukan dengan cara diambil sebanyak 100 μ l strain H37RV *Mycobacterium tuberculosis* yang didapatkan dari stok murni. Kemudian, diinokulasi ke media padat media *Coco Blood Malachite Green* dan *Lowenstein Jensen*. Setelah itu, diratakan keseluruhan permukaan media kemudian tutup media dilonggarkan dan dimiringkan 30 derajat. Setelah itu, media disimpan pada suhu 37°C didalam inkubator. Setelah 24 jam diamati permukaan media kemudian tutup erat, diletakkan diposisi vertikal kemudian disimpan di inkubator kembali untuk diinkubasi selama 2 minggu.

6. Pewarnaan Ziehl- Neelsen (*Acid-fast Smear*)

Pewarnaan ZN dengan strain murni atau hasil kultur dari media cair dan media padat *Mycobacterium tuberculosis*

dilakukan dengan membuat sediaan di *object glass* dengan cara membuat pola lingkaran kecil pada *object glass* kemudian diambil hasil kultur pada media cair atau media padat yang sebelumnya telah disuspensikan dengan PBS, kemudian diambil 50 μ l dibuat sediaan sesuai dengan pola yang ada pada *object glass*, selanjutnya difiksasi dengan cara dipanasi diatas *hot plate* hingga sediaan mengering.

Diteteskan larutan *carbol fuchsin* 1% pada seluruh permukaan sediaan yang telah difiksasi. Setelah itu dipanaskan diatas api hingga menguap (tetapi tidak sampai mendidih atau kering), kemudian ditunggu selama 10 menit . Kelebihan cat dibuang dan dialiri dengan air yang mengalir. Setelah itu diteteskan asam alkohol 3% (hydrochloric acid-ethanol) diteteskan sedikit demi sedikit dan dibiarkan selama 30 detik kemudian dibilas dengan air mengalir, apabila masih terlihat merah pada sediaan maka dilakukan dekolorisasi Kembali. Setelah itu, ditetesi larutan methylene blue 0,1% hingga menutupi seluruh permukaan dan ditunggu selama 1 menit kemudian larutan dibuang dan dibilas dengan air mengalir, kemudian dikeringkan, setelah itu dilakukan pengamatan dibawah mikroskop pembesaran objektif 100x hasil pengamatan positif apabila ditemukan basil tahan asam atau BTA *serpentine cord*.

7. Uji Imunokromatografi (MPT-64)

Uji Imunokromatografi MPT64 dilakukan dengan cara memipet suspensi bakteri dari pertumbuhan *Lowenstein Jensen* dan *Coco Blood Malachite Green* sebanyak 100 μ l kedalam well sampel. Kemudian, ditunggu selama 15 menit.

Pengolahan dan analisis data

Untuk pengolahan data melalui penginputan ke dalam program computer dan dibuat tabel serta dinarasikan.

HASIL

Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahap yaitu proses pembuatan media, uji sterilitas media, uji kesuburan media, uji kultur dan identifikasi hasil kultur dengan menggunakan pengamatan mikroskopik dan uji imunokromatografi.

Hasil uji sterilitas media *Coco Blood Malachite Green* dan *Lowenstein Jensen* diketahui tidak terdapat pertumbuhan mikroorganisme pada kedua media tersebut, sehingga dapat dinyatakan media tersebut steril.

Tahapan selanjutnya adalah uji kesuburan media untuk pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* menggunakan biakan *Mycobacterium fortuitum* yang merupakan spesies *Mycobacteri rapid grower* yang diinokulasikan ke media *Coco Blood Malachite Green* dan *Lowenstein Jensen*.

Berdasarkan hasil pengamatan pada tabel 01 didapatkan hasil uji kesuburan pada media *Coco Blood Malachite Green* dan *Lowenstein Jensen* setelah dilakukan inkubasi selama 5 hari diperoleh hasil *Mycobacterium fortuitum* pada media *Coco Blood Malachite Green* mulai dari tabung 1,2 dan 3 tidak tumbuh. Sedangkan, pada media *Lowenstein Jensen* mulai dari tabung 1,2 dan 3, *Mycobacterium fortuitum* tumbuh.

Tahapan selanjutnya setelah uji kesuburan media adalah uji kultur *Mycobacterium tuberculosis* dengan menggunakan strain murni H37RV *Mycobacterium tuberculosis* yang diinokulasi pada *Coco Blood Malachite Green* dan media *Lowenstein Jensen*.

Berdasarkan hasil pengamatan pada Tabel 02 yang merupakan pengamatan secara makroskopik yang diperoleh dari hasil pertumbuhan koloni setelah inkubasi selama 2 minggu. Pada media *Coco Blood Malachite Green* juga tumbuh pada tabung 1, 2 dan 3 namun tidak subur. Kemudian, pada media *Lowenstein Jensen* didapatkan hasil *Mycobacterium tuberculosis* tumbuh subur pada tabung 1, 2 dan 3 .

Pertumbuhan koloni yang didapatkan dari hasil uji kultur di media *Coco Blood Malachite Green* (CMB) dan media *Lowenstein Jensen* (LJ) dilanjutkan dengan uji identifikasi secara mikroskopik dengan menggunakan *Acid-fast smear* pewarnaan *Ziehl- neelsen*. Hasil pengamatan mikroskopik ditemukan basil tahan asam berwarna merah dan BTA *serpentine cord*.

Uji identifikasi selanjutnya adalah imunokromatografi dengan menggunakan MPT-64 didapatkan hasil positif *Mycobacterium tuberculosis*.

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana aktivitas pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* pada media *Coco Blood Malachite Green* (CMB) sebagai media alternatif pengganti media *Lowenstein Jensen*.

Penelitian ini merupakan penelitian terkait media pertumbuhan yang digunakan untuk menumbuhkan *Mycobacterium tuberculosis* dengan menggunakan media *Lowenstein Jensen* sebagai media kontrol dan media *Coco Blood Malachite Green* sebagai media eksperimen. Sebelum digunakan untuk uji kultur *Mycobacterium tuberculosis*, dilakukan uji sterilitas dan uji kesuburan media terlebih dahulu.

Pada tahapan uji sterilitas media dilakukan untuk menghilangkan gangguan yang dapat disebarkan oleh mikroorganisme atau kontaminasi dan meminimalisir penurunan kualitas inokulasi (Dewi, 2017). Hasil uji sterilitas media *Coco Blood Malachite Green* dan *Lowenstein Jensen* tidak didapatkan pertumbuhan koloni. Berarti, kedua media tersebut dinyatakan steril dan dapat digunakan untuk menumbuhkan *Mycobacterium tuberculosis*.

Tahapan selanjutnya setelah uji sterilitas media dilakukan uji kesuburan. Uji kesuburan media dapat dilakukan dengan menggunakan *Mycobacterium fortuitum* atau *Mycobacterium* lain yang termasuk *rapid grower* dengan menggunakan standar Mc Farland 0,5-1,0. Kemudian, diambil pada pengenceran 10^{-3} yang diinokulasikan ke media yang digunakan. Jika dalam waktu 5 hari tidak terdapat pertumbuhan *Mycobacterium fortuitum*, media dikategorikan tidak baik. Adapun ciri media yang baik adalah akan tampak pertumbuhan yang cukup rapat (BBLK, 2018).

Pada tabel 01 merupakan hasil uji kesuburan media yang didapatkan adalah pada media *Coco Blood Malachite Green* tidak terdapat pertumbuhan koloni. Sedangkan pada media *Lowenstein Jensen* terdapat pertumbuhan koloni. Maka dari itu, dapat dinyatakan bahwa media *Lowenstein Jensen* lebih baik dibandingkan dengan media *Coco Blood Malachite Green*.

Pada Tabel 02 Hasil uji kultur *Mycobacterium tuberculosis* dengan menggunakan strain murni H37RV yang diinokulasikan ke media *Coco Blood Malachite Green* dan media *Lowenstein Jensen* diperoleh pertumbuhan koloni setelah inkubasi selama 2 minggu pada suhu 37°C. Hal

ini selaras dengan penelitian yang dilakukan oleh Nuraeni (2018) yaitu diketahui pertumbuhan koloni pada media *Coco Blood Malachite Green* dan *Lowenstein Jensen* pada hari ke 14 setelah inokulasi.

Pertumbuhan koloni yang didapatkan pada media *Coco Blood Malachite Green* yaitu koloni dengan karakteristik berukuran kecil, berbentuk bulat, elevasi cembung, pinggiran halus dan berwarna putih keabu-abuan. Sedangkan, pada media *Lowenstein Jensen* memiliki karakteristik koloni putih kekuning-kuningan, kasar, rapuh, permukaan kering, tepi tidak beraturan (seperti bunga kol) dan tidak berpigmen atau non photochromogen.

Pada pertumbuhan koloni media *Coco Blood Malachite Green* dan *Lowenstein Jensen* terdapat perbedaan dari tingkat kesuburan koloni. Pada media *Coco Blood Malachite Green*, pertumbuhan koloni yang didapatkan sedikit. Sedangkan, pada media *Lowenstein Jensen* memiliki pertumbuhan koloni yang padat.

Berdasarkan waktu pertumbuhan dan tingkat kesuburan *Mycobacterium tuberculosis* pada media *Coco Blood Malachite Green* dan *Lowenstein Jensen* yang dapat dilihat pada tabel 01 terdapat perbedaan dari tingkat kesuburan pertumbuhannya. Perbedaan kesuburan ini dapat disebabkan karena kandungan nutrisi pada media. Perbedaan komposisi tentu saja memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan koloni.

Komposisi media yang terdapat pada media *Coco Blood Malachite Green* terdiri dari air kelapa tua, *Blood agar*, darah sisa transfusi, gliserol yang digunakan sebagai sumber nutrisi untuk menumbuhkan *Mycobacterium tuberculosis*. Kandungan air kelapa tua pada media *Coco Blood Malachite Green* menunjukkan bahwa air kelapa

dapat dimanfaatkan sebagai media kultur. Senyawa kimia yang terkandung dalam air kelapa terdiri dari unsur makro dan unsur mikro. Unsur makro dalam air kelapa adalah hidrat arang (karbohidrat) terdiri dari sukrosa, glukosa, fruktosa dan nitrogen (berupa protein asam amino) terdiri dari beberapa senyawa seperti alanine, serin, arginine, sistin dan alin. Pada air kelapa juga terkandung mineral seperti Fe, K, Ca, Na, S, P, Mg, Cl dan Cu. Selain mengandung karbohidrat dan mineral, air kelapa juga mengandung vitamin-vitamin seperti vitamin B kompleks, vitamin B3, vitamin B5, vitamin B2, vitamin B1, vitamin B7, serta pada kelapa tua memiliki kandungan lemak yang tinggi (Wisnu Cahyadi, 2007). Komposisi nutrisi air kelapa yang lengkap tersebut merupakan alternatif pengganti media sintetik untuk pertumbuhan mikroorganisme.

Penelitian yang dilakukan oleh Munawaroh, Hidayati, dan Utami (2015) yang melakukan pengujian kultur pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* dengan menggunakan media *Coco Blood Malachite Green* dengan kandungan air kelapa muda dan media *Lowenstein Jensen* untuk diagnosa cepat sensitif dan spesifik sputum pasien suspek tuberkulosis, didapatkan hasil media *Coco Blood Malachite Green* yang mengandung air kelapa terbukti dapat menumbuhkan koloni lebih cepat, lebih sensitif namun kurang spesifik (Munawaroh, Hidayati and Utami, 2015).

Komposisi lain yang terkandung dalam media *Coco Blood malachite Green* yaitu *blood agar* yang mengandung tryptone, soy pepton, sodium chloride, lithium chloride, magnesium sulphate dan agar. Pada pembuatan media *Coco Blood Malachite Green* peneliti memodifikasi penggunaan darah sisa transfusi sebagai

pengganti darah domba. Agar darah manusia (sisa transfusi) dibuat dari *whole blood* yang didapatkan dari bank darah yang tidak dapat digunakan lagi, kemudian pada pembuatan media agar darah manusia yang memiliki kandungan nutrisi dan faktor pertumbuhan yang tidak jauh berbeda dengan darah domba. Menurut penelitian Nurhidayanti (2019) yang menggunakan media *Blood Agar Plate* dengan darah sisa transfusi untuk pertumbuhan *Streptococcus pyogenes*, dan hasil yang didapatkan adalah darah sisa transfusi tersebut dapat digunakan sebagai pengganti darah domba dalam menumbuhkan bakteri tersebut (Nurhidayanti, 2019).

Penambahan gliserol pada media *Coco Blood Malachite Green* bertujuan untuk dijadikan sumber karbon dan energi untuk metabolisme dan mempercepat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* (Kennedy AD, 2011). Selain penambahan sumber nutrisi, ditambahkan juga zat penghambat kontaminasi yaitu *Malachite Green 2 %* yang memiliki sifat bakteriositik terhadap bakteri lain, dapat ditambahkan ke dalam media tanpa menghambat pertumbuhan basil tahan asam sehingga membantu mengeliminasi atau menghilangkan organisme terkontaminasi sekaligus meningkatkan pertumbuhan *Mycobacteria* (Basaca Sevilla *et al.*, 2013).

Pada penelitian ini menggunakan media sintetik *Lowenstein Jensen* sebagai media kontrol untuk menumbuhkan *Mycobacterium tuberculosis*. Media ini merupakan media berbasis telur dengan komposisi media terdiri dari asparagine, KH_2PO_4 , *magnesium citrate*, *magnesium sulfate*, *potato flour*, *glycerol* dan *malachite green*.

Berdasarkan hasil pengamatan yang didapatkan pada tabel 02. selanjutnya, dilakukan analisis statistik menggunakan uji *Mann-Whitney* dan diperoleh nilai sig. (0,025) maka keputusan H_a diterima. Berarti, ($P=0,025 < \alpha = 0,05$) ada perbedaan yang signifikan dari pertumbuhan media *Lowenstein Jensen* dan *Coco Blood Malachite Green* dalam menumbuhkan *Mycobacterium tuberculosis*. Dapat disimpulkan bahwa pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* pada media *Lowenstein Jensen* lebih baik daripada media *Coco Blood Malachite Green*. Pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* pada media *Lowenstein Jensen* yang lebih subur, namun adanya pertumbuhan koloni *Mycobacterium tuberculosis* pada media *Coco Blood Malachite Green* menunjukkan media ini memiliki potensi sebagai media alternatif untuk *Mycobacterium tuberculosis*.

Uji identifikasi dilakukan untuk mengkonfirmasi hasil pertumbuhan koloni yang didapatkan dari uji kultur. tahapan ini dilakukan dengan 2 cara yaitu secara pengamatan mikroskopik yaitu *Acid-fast smear* dengan menggunakan pewarnaan *Ziehl Neelsen* untuk melihat adanya *Mycobacterium tuberculosis* dengan ciri basil tahan asam berwarna merah, berbentuk basil lurus ataupun sedikit melengkung, yang memiliki panjang 1- 10 μm biasanya 3- 5 μm dan ukuran lebarnya 0,2- 0,6 μm .. Bakteri berbentuk basil ini bersifat non-motil, tidak berspora dan merupakan organisme *obligate aerobe* (Shleeva *et al.*, 2011).

Uji imunokromatografi juga merupakan uji identifikasi yang bertujuan untuk Uji identifikasi cepat untuk membedakan antara *Mycobacterium tuberculosis complex* dengan *Mycobacterium other than tuberculosis* (NTM) dengan

menggunakan MPT-64 imunokromatografi. Pada Dinding sel bakteri *Mycobacterium tuberculosis complex* (kecuali: beberapa substrain *M. bovis* BCG) mensekresi suatu protein khusus (protein MPB64/ MPT64). Uji imunokromatografi ini sederhana dan cepat berdasarkan reaksi antibody monoclonal terhadap antigen MPB64/ MPT64. Apabila sampel ditambahkan ke perangkat uji, maka antigen MPB64/ MPT64 akan membentuk kompleks antigen- antibody (BBLK, 2018). Hasil uji Imunokromatografi yang didapatkan pada penelitian ini adalah positif. Sehingga, dapat dipastikan bahwa pertumbuhan koloni yang didapatkan pada media *Coco Blood Malachite Green* adalah *Mycobacterium tuberculosis*.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, *Mycobacterium tuberculosis* dapat tumbuh pada media *Coco Blood Malachite Green* namun tidak subur. Sedangkan, pada media *Lowenstein Jensen* tumbuh subur. Pertumbuhan terjadi pada minggu kedua. Sehingga, dapat disimpulkan bahwa media *Lowenstein Jensen* lebih baik dari pada media *Coco Blood Malachite Green* dalam menumbuhkan *Mycobacterium tuberculosis*.

SARAN

Mengingat masih banyaknya kelemahan dan keterbatasan yang peneliti hadapi dalam melakukan penelitian ini, maka dari hasil penelitian ini dapat disarankan sebagai berikut:

1. Perlunya modifikasi komposisi media *Coco Blood Malachite Green* (CMB) dengan menggunakan bahan alternatif sumber protein yang lebih bernutrisi seperti telur pada pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis*.

2. Perlunya dilakukan penelitian terkait apakah jenis kelapa berpengaruh terhadap pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis*.

DAFTAR PUSTAKA

- Atlas, R.M., Atlas, R. . (2004) *Handbook of Microbiological Media*. 3rd edn. CRC Press. Available at: <https://doi.org/10.1201/9781420039726>.
- Basaca-Sevilla, V. *et al.* (2013) 'The coconut water egg malachite green medium (CEM) for the isolation of *Mycobacterium tuberculosis*.', *Journal of the Philippine Islands Medical Association*, 52, pp. 251–262.
- BBLK (2018) *Pedoman Pemeriksaan Kultur Mycobacterium tuberculosis*. Makassar.
- Daulay, M. *et al.* (2015) "'Pengembangan Media Padat untuk Menumbuhkan *Mycobacterium bovis* (Development Of Solid Medium For *Mycobacterium bovis* Cultivation)''", *Jurnal Veteriner*, 16(4), pp. 497–504. doi: 10.19087/jveteriner.2015.16.4.497.
- Dewi (2017) 'Performa ikan lele afrika (*Clarias gariepinus*) hasil seleksi terhadap pertumbuhan, sintasan, konversi pakan, rasio rna/dna, dan nilai bioekonomi, media akuakultur', pp. 12 (1), 11–17.
- Drancourt, M. and Raoult, D. (2007) 'Cost-effectiveness of blood agar for isolation of mycobacteria', *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 1(2). doi: 10.1371/journal.pntd.0000083.
- Du, J. *et al.* (2019) 'Development and validation of external quality assessment panels for mycobacterial culture testing to diagnose tuberculosis in China', *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 38(10), pp. 1961–1968. doi: 10.1007/s10096-019-03634-8.
- Kennedy AD (2011) 'Biochemical Profile of *Mycobacterium tuberculosis* Grown Under Hypoxic Conditions (Snow Globe Model, SG7)'.
Molnar, Z., Virag, E. and Ordog, V. (2011) 'Natural substances in tissue culture media of higher plants', *Acta Biologica Szegediensis*, 55(1), pp. 123–127.
- Munawaroh, A. L., Hidayati, D. Y. N. and Utami, Y. W. (2015) 'Studi Komparasi Media Kultur Cocol Blood Malachite Green (CBM) dengan Lowenstein Jensen (LJ) untuk Diagnosis Cepat, Spesifik, dan Sensitif pada Sputum Pasien Suspek Tuberkulosis', *Majalah Kesehatan FKUB*, 2(2), pp. 79–91.
- Nagarajan, P. *et al.* (2012) 'Recovery of *Mycobacterium tuberculosis* from Löwenstein-Jensen media contaminated with other organisms', *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 16(2), pp. 230–231. doi: 10.5588/ijtld.11.0508.
- Nuraeni, M. and Sebayang, R. (2018) 'Pengaruh Pemberian Air Kelapa (*Cocos nucifera*. L) pada Media Agar Darah terhadap Pertumbuhan Bakteri *Mycobacterium tuberculosis*', *Jurnal Kesehatan*, 9(3). Available at: <http://ejurnal.poltekkes-tjk.ac.id/index.php/JK> (Accessed: 10 January 2022).
- Nurdin, E. and Nurdin, G. M. (2020) 'Perbandingan Variasi Media

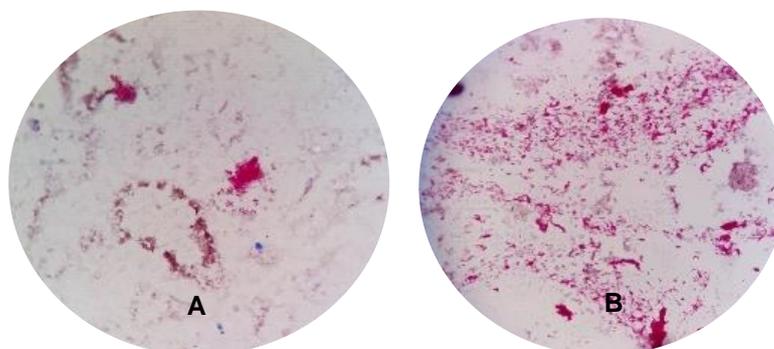
- Alternatif dengan Berbagai Sumber Karbohidrat Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*', *Bionature*, 21(1), pp. 1–5. doi: 10.35580/bionature.v21i1.13920
- Nurhidayanti, N. (2019) 'Pemanfaatan Darah Sisa Transfusi Dalam Pembuatan Media BAP Untuk Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus pyogenes*', *Indobiosains*, 1(2), p. 63. doi: 10.31851/indobiosains.v1i2.3189.
- Shleeva, M. O. *et al.* (2011) 'Dormant ovoid cells of *Mycobacterium tuberculosis* are formed in response to gradual external acidification', *Tuberculosis*, 91(2), pp. 146–154. doi: 10.1016/j.tube.2010.12.006.
- Wisnu Cahyadi (2007) 'Kedelai : khasiat dan teknologi', in. Jakarta: Bumi Aksara.

Tabel 1. Hasil Uji Kesuburan Media *Coco Blood Malachite Green* (CMB) dan *Lowenstein Jensen* (LJ) pada Pertumbuhan *Mycobacterium fortuitum*

Media	Pertumbuhan Koloni
<i>Coco Blood Malachite Green</i>	
Tabung 1	Tidak Tumbuh
Tabung 2	Tidak Tumbuh
Tabung 3	Tidak Tumbuh
<i>Lowenstein Jensen</i>	
Tabung 1	Tumbuh
Tabung 2	Tumbuh
Tabung 3	Tumbuh

Tabel 2. Hasil pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* pada Media *Coco Blood Malachite Green* (CMB) dan *Lowenstein Jensen* (LJ)

Media	Pertumbuhan Koloni	Keterangan
<i>Coco Blood Malachite Green</i>		
Tabung 1	Tumbuh	Tidak Subur
Tabung 2	Tumbuh	Tidak Subur
Tabung 3	Tumbuh	Tidak Subur
<i>Lowenstein Jensen</i>		
Tabung 1	Tumbuh	Subur
Tabung 2	Tumbuh	Subur
Tabung 3	Tumbuh	Subur



Gambar 1 : Pengamatan mikroskopik (A) BTA dari media CMB ; (B) BTA dari media LJ (Sumber: Dokumentasi Primer)