

Selektivitas Medium *Cystine Tellurite Blood Agar* (CTBA) terhadap Beberapa Isolat Bakteri

Selectivity of Cystine Tellurite Blood Agar (CTBA) Medium Against Several Bacteria Isolate

Kambang Sariadji*, Sunarno, Khariri, Nelly Puspendari, Fauzul Muna, Yuni Rukminiati

*Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kementerian Kesehatan, Indonesia

*Email: kambang_sar@yahoo.com

Diterima: 7 November 2014

Direvisi: 5 Januari 2015

Disetujui: 30 Januari 2015

Abstrak

Medium *cystine tellurite blood agar* (CTBA) merupakan medium selektif untuk kultur *Corynebacterium diphtheriae*. Selektivitas medium ini terletak pada tellurite yang dapat menghambat bakteri lainnya. Medium lainnya yang digunakan sebagai medium selektif untuk kultur *Corynebacterium diphtheriae* adalah medium hoyle dan medium tinsdale. Medium yang direkomendasikan oleh WHO untuk kultur *Corynebacterium diphtheriae* adalah CTBA dan medium hoyle. Akan tetapi, informasi tentang selektivitas medium CTBA yang direkomendasikan WHO terhadap bakteri lain masih terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui selektivitas medium CTBA terhadap sejumlah bakteri lainnya. Sebanyak 24 isolat bakteri yang terdiri dari isolat *Corynebacterium spp* dan beberapa bakteri lainnya ditumbuhkan kembali, kemudian dikultur pada medium CTBA, diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C, selanjutnya dilakukan pengamatan ada tidaknya pertumbuhan koloni di medium CTBA. Hasil menunjukkan 7 isolat bakteri *Corynebacterium spp* pada medium CTBA dapat tumbuh dengan baik, dan 5 isolat bakteri lainnya yang menunjukkan pertumbuhan pada medium CTBA diantaranya *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterobacter sakazakii*, *Klebsiella pneumoniae* dan *Candida albicans*. Dua belas isolat sisanya menunjukkan tidak adanya pertumbuhan pada medium CTBA. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa selektivitas medium CTBA terbatas.

Kata Kunci: Selektivitas; *Corynebacterium diphtheriae*; Medium CTBA

Abstract

Cystine tellurite blood agar (CTBA) medium is a selective medium for *Corynebacterium diphtheriae* culture. The presence of tellurite is a selectivity of this medium to inhibit the others bacteria. Others medium were used as a selective medium for the culture of *Corynebacterium diphtheriae* were tinsdale and Hoyle medium, but was recommended by the World Health Organization (WHO) were CTBA and hoyle medium. However, information about the selectivity of medium was recommended by WHO is still limited. The aims of study to determine the selectivity of medium against a number of others species bacteria on CTBA. A number of 24 isolates contains of different species *Corynebacterium spp* and others species were regrown, then all isolates were cultured in CTBA medium, incubated for 24 – 48 haours at 37°C. The growthing of colony in CTBA were observed. The results showed that 7 isolates for *Corynebacterium* species can grow well on medium CTBA, 5 isolates from different species showed growth in CTBA medium including *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterobacter sakazakii*, *Klebsiella pneumoniae* and *Candida albicans*. Meanwhile the rest 12 isolates showed no growthing on CTBA medium. Therefore it can be concluded that the selectivity of the CTBA medium has limited capabilities.

Keywords: Selectivity; *Corynebacterium diphtheriae*; CTBA medium

PENDAHULUAN

Corynebacterium diphtheriae adalah bakteri patogen penyebab penyakit difteri. Penyakit menyebabkan kematian terutama anak-anak yang tidak mempunyai riwayat vaksinasi. Diagnosis klinis dapat ditegakkan dengan gejala klinis berupa tenggorokan terasa sakit, timbul lesi membran diikuti dengan kelenjar limfa yang membesar dan melunak. Pada kasus-kasus yang sedang dan berat ditandai dengan pembengkakan dan udem di leher dengan pembentukan membran pada trakea secara ekstensif dan dapat terjadi obstruksi jalan napas.^{1,2,3}

Pemeriksaan mikroskopik berupa pewarnaan Neisser atau Albert bukan merupakan diagnosis pasti dari difteri, bahkan adanya bentuk dipteroid pada pemeriksaan mikroskopik bukan berarti adanya bakteri penyebab difteri. Ada banyak bakteri dengan bentuk difteroid yang merupakan flora normal. Pemeriksaan laboratorium berupa kultur, isolasi dan identifikasi terhadap *C. diphtheriae* merupakan diagnosis pasti yang ada saat ini dan merupakan standar baku emas. Pemberian pengobatan terhadap penderita difteri juga tidak perlu menunggu hasil pemeriksaan kultur bakteri. Pemeriksaan kultur ini merupakan pemeriksaan penunjang yang dilakukan terhadap suspek dan kontak sebagai bagian dari pemberantasan dan pencegahan terhadap penularan penyakit difteri.^{2,3}

Pemeriksaan kultur *C. diphtheriae* dapat dilakukan dengan menggunakan medium selektif tellurite sebagai medium primer. Medium selektif adalah medium yang mengandung selain nutrisi juga ditambah suatu zat tertentu sehingga media tersebut dapat menekan pertumbuhan mikroorganisme lainnya dan merangsang pertumbuhan mikroorganisme yang diinginkan⁴. Pada medium CTBA bentuk tellurite dalam kalium tellurite pada medium akan direduksi menjadi tellurium dan tidak hanya berfungsi menghambat pertumbuhan bakteri flora normal tenggorokan, tetapi juga dimetabolisme oleh *C.*

diphtheriae menjadi bentuk koloni pertumbuhan berwarna hitam dan dapat membedakan bakteri lainnya yang tumbuh pada medium tersebut. Penggunaan darah dalam medium CTBA ini dapat berupa darah domba, darah kuda atau darah kelinci. Penambahan darah berfungsi meningkatkan pertumbuhan dan *recovery* bakteri *C. diphtheriae*, sementara adanya sistin pada medium CTBA sebagai sumber asam amino yang meningkatkan produksi H₂S.^{5,6,7}

Beberapa medium yang digunakan sebagai medium selektif yang mengandung tellurite adalah medium hoyle, medium tinsdale dan medium *cystine tellurite blood agar* (CTBA). Pada penggunaan medium tinsdale, medium tersebut mempunyai selektivitas yang tinggi sehingga dapat menyebabkan kultur negatif palsu, terutama bila bakteri tersangka jumlahnya sedikit, selain itu stabilitas dan waktu paruh medium ini sangat pendek sehingga medium ini tidak direkomendasikan. Medium yang direkomendasikan oleh WHO untuk kultur *C. diphtheriae* adalah CTBA dan Hoyle medium.^{6,7,8,9,10}

Pertumbuhan selain *C. diphtheriae* pada medium CTBA akan mempersulit identifikasi laboratorium, terlebih yang tumbuh lebih dari tiga koloni bakteri berbeda dengan karakteristik bentuk koloni yang sama. Medium selektif CTBA menurut HiMedia Laboratories mempunyai kemampuan hanya *C. diphtheriae* yang tumbuh, bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* terhambat, sementara *Enterococcus faecalis* dapat terhambat atau tumbuh pada medium tersebut dengan sangat terbatas. Uji kontrol untuk media CTBA juga dilakukan terhadap bakteri *C. diphtheriae*, beberapa *Corynebacterium spp*, *Staphylococcus aureus* dan beberapa *Streptococcus* dengan hasil pertumbuhan koloni berwarna hitam.¹¹ Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui selektivitas medium CTBA sehingga dapat digunakan dalam mengidentifikasi bakteri *Corynebacterium diphtheriae* dengan mudah.

METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan pada bulan Januari 2012. Sebanyak 24 isolat bakteri yang dijadikan sampel uji terdiri dari 7 isolat *Corynebacterium* spp dan 17 isolat bakteri lainnya. Pemilihan isolat ini didasarkan pada beberapa bakteri yang sering ditemukan di tempat yang sama dalam saluran pernapasan dan ketersediaan isolat lainnya yang tersimpan di Laboratorium Bakteriologi Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan.

Alat dan Bahan

Pada penelitian ini digunakan alat-alat seperti, cawan petri, inkubator, ose, biosafety cabinet, dan tabung rekasi. Sementara itu, bahan yang digunakan adalah medium ctba, medium agar darah, alkohol dan bakteri uji.

Rekultur Isolat Tersimpan

Isolat tersimpan ini ditumbuhkan kembali ke masing-masing medium penyubur yang sesuai.^{3,4} Hasil rekultur ini akan digunakan sebagai spesimen untuk menguji kemampuan media CTBA dalam menumbuhkan bakteri tersebut. Adapun isolat yang digunakan adalah: *C. diphtheriae* toksigenik, *C. diphtheriae* non toksigenik, *C. ulcerans*, *C. striatum*, *C. minutissimum*, *C. glutamicum*, *C. pseudodiphthericum*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Legionella pneumophila*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter sakazakii*, *Clostridium tetani*, *Salmonella typhi*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri*, *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, dan *Candida albicans*.

Pembuatan Media

Media yang digunakan adalah media CTBA dengan komposisi pembuatannya

adalah dengan agar base darah (oxid), kalium tellurite dan sistin. untuk persiapan agar base, 36 g media agar darah dilarutkan dengan 900 mL air suling, dipanaskan dan diaduk merata, disterilkan menggunakan otoklafe selama 15 menit pada 121 °C, kemudian dinginkan pada temperatur kamar sampai media mencapai suhu 45-50°C. Kalium tellurite ditimbang sebanyak 0.3 g dan dilarutkan ke dalam 100 mL air suling, kemudian disterilkan menggunakan otoklafe selama 15 menit. Sistin, ditimbang sebanyak 22 mg dan dimasukkan ke dalam tabung, dilarutkan dengan 2 tetes asam klorida 5 %, dikocok dan dibiarkan larut. Pencampuran media dan reagen dilakukan dengan cara media agar base darah yang telah disteril dan didiamkan sampai mencapai suhu 45–50 °C ditambahkan 50 mL darah domba, kemudian ditambahkan sistin yang terlarut dan tambahkan juga 75 mL kalium tellurite, lalu dihomogenkan dengan cara dikocok secara perlahan kemudian dituang ke dalam cawan petri sebanyak 15–20 mL.^{9,10,12}

Inokulasi ke Medium CTBA

Masing-masing isolat yang telah ditumbuhkan kembali dan diinokulasikan ke medium CTBA. Satu isolat bakteri diinokulasi ke medium CTBA dan dilakukan duplo. kemudian diinkubasi selama 24–48 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya dilakukan pengamatan ada tidaknya pertumbuhan koloni di medium CTBA berupa koloni bulat kering yang berwarna hitam atau keabuan. Jika tidak ada pertumbuhan, artinya bakteri tersebut terhambat pada medium CTBA.^{6,12}

HASIL DAN PEMBAHASAN

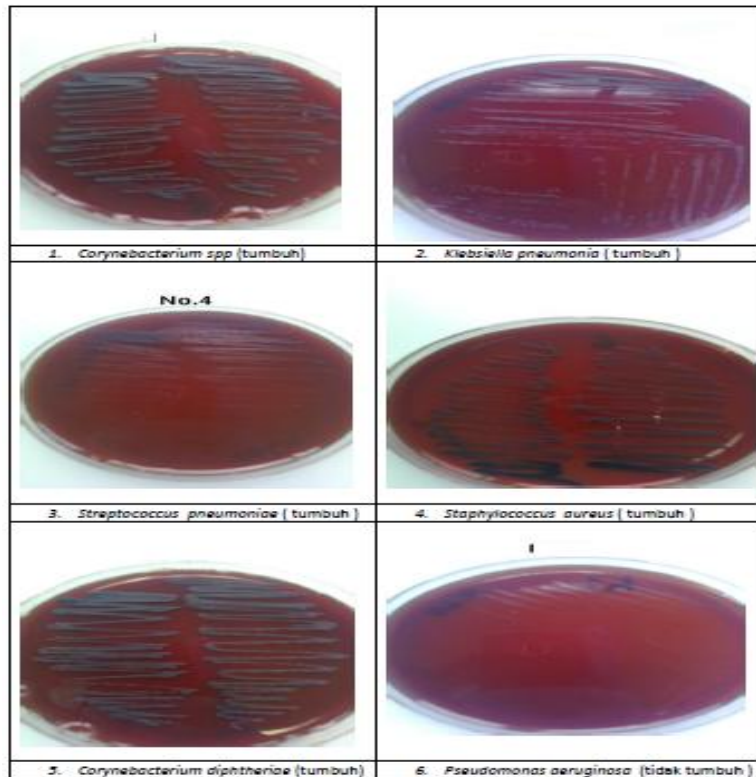
Hasil pertumbuhan koloni dari 24 isolat mikroorganisme pada medium CTBA menunjukkan 7 isolat bakteri dari genus *Corynebacterium* dapat tumbuh dengan baik pada medium CTBA, diantaranya *C. diphtheriae* toksigenik, *C. diphtheriae* non toksigenik, *C. ulcerans*,

C. striatum, *C. minutissimum*, *C. glutamicum*, dan *C. pseudodiphthericum*. Pertumbuhan lainnya adalah 5 isolat dari genus dan spesies yang berbeda, antara lain bakteri *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterobacter sakazaki*, *Klebsiella pneumoniae* dan *Candida albicans*. Sementara itu, 12 isolat sisanya tidak adanya pertumbuhan atau pertumbuhannya terhambat pada medium CTBA. Hasil secara lengkap ditampilkan pada tabel 1. Tidak hanya bakteri genus *Corynebacterium* yang ada dalam Tabel 1 dapat tumbuh pada medium CTBA, tetapi juga jenis bakteri lainnya yang bersifat flora normal juga dapat tumbuh dalam medium CTBA. Pertumbuhan bakteri dapat dilihat pada gambar 1.

Tumbuhnya bakteri *Corynebacterium* ini karena kemampuan dari bakteri tersebut untuk mereduksi tellurite menjadi tellurium yang menyebabkan koloni pada medium CTBA berwarna hitam atau keabuan.^{6,7,9,12} Campuran tellurite dalam konsentrasi 0,3%-0,8 % yang pada medium CTBA berfungsi untuk menghambat bakteri lainnya. Akan tetapi, tellurite juga dapat bersifat toksis bila konsentrasinya terlalu tinggi sehingga perlu diperhatikan penambahan tellurite pada pembuatan medium untuk menghindari kemungkinan jumlah bakteri *C. diphtheriae* yang dikultur dalam jumlah sedikit yang berpengaruh terhadap hasil menjadi hasil negatif palsu.¹²

Tabel 1. Pertumbuhan koloni dari 24 bakteri mikroorganisme pada medium CTBA

| No | Nama isolat bakteri | Pertumbuhan |
|----|--------------------------------------|-------------|
| 1 | <i>C. diphtheriae</i> toksigenik | Tumbuh |
| 2 | <i>C. diphtheriae</i> non toksigenik | Tumbuh |
| 3 | <i>C. ulcerans</i> | Tumbuh |
| 4 | <i>C. striatum</i> | Tumbuh |
| 5 | <i>C. minutissimum</i> | Tumbuh |
| 6 | <i>C. glutamicum</i> | Tumbuh |
| 7 | <i>C. pseudodiphthericum</i> | Tumbuh |
| 8 | <i>Neisseria meningitidis</i> | Terhambat |
| 9 | <i>Streptococcus pneumoniae</i> | Tumbuh |
| 10 | <i>Staphylococcus aureus</i> | Tumbuh |
| 11 | <i>Staphylococcus epidermidis</i> | Terhambat |
| 12 | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | Tumbuh |
| 13 | <i>Legionella pneumophila</i> | Terhambat |
| 14 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Terhambat |
| 15 | <i>Enterobacter sakazakii</i> | Tumbuh |
| 16 | <i>Clostridium tetani</i> | Terhambat |
| 17 | <i>Salmonella typhi</i> | Terhambat |
| 18 | <i>Salmonella typhimurium</i> | Terhambat |
| 19 | <i>Shigella flexneri</i> | Terhambat |
| 20 | <i>Aeromonas hydrophilia</i> | Terhambat |
| 21 | <i>Vibrio cholerae</i> | Terhambat |
| 22 | <i>Escherichia coli</i> | Terhambat |
| 23 | <i>Candida albicans</i> | Tumbuh |
| 24 | <i>Mycobacterium tuberculosis</i> | Terhambat |



Gambar 1. Hasil pertumbuhan beberapa bakteri yang tumbuh dan mempunyai warna koloni yang hampir sama: hitam atau keabuan (gambar 1.1 – 1.5) serta yang tidak tumbuh (gambar 1.6) pada medium CTBA

Perlu pendamping medium penyubur selain medium selektif CTBA ketika melakukan kultur dengan sampel primer seperti medium agar darah.^{5,6,12}

Adanya beberapa bakteri seperti *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterobacter sakazakii*, *Klebsiella pneumoniae* dan *Candida albicans* yang tumbuh pada medium CTBA menunjukkan kemampuan dalam memetabolisme tellurite yang tersedia. Konsentrasi tellurite dalam medium CTBA tidak berdampak pada terhambatnya pertumbuhan bakteri tersebut. Adanya darah dalam medium CTBA sebagai penyubur kemungkinan juga berperan memicu *recovery* pertumbuhan bakteri.

Pada medium selektif Tinsdale yang digunakan produk komersial Sigma disebutkan tidak hanya *Corynebacterium* yang tumbuh tapi juga spesies *Neisseria*, *Klebsiella*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* dan *Haemophilus* juga tumbuh, sementara itu medium tellurite agar (Hoyle) produk

BDTM menyebutkan tidak hanya *Corynebacterium* yang tumbuh, tapi juga *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh terbatas sampai dengan sama sekali tidak tumbuh. Pada medium selektif CTBA *Neisseria meningitidis* pertumbuhannya terhambat dan hanya bakteri *Staphylococcus epidermidis* yang terhambat.^{13,14}

Selektivitas medium CTBA untuk pertumbuhan bakteri *C. diphtheriae* tidaklah mutlak, masih ada sejumlah bakteri yang mempunyai kemampuan tumbuh pada medium selektif walaupun pertumbuhannya terbatas. Kemampuan teknis laboratorium yang baik dalam memilah, memilih dan membedakan karakteristik koloni yang tumbuh pada medium CTBA merupakan kunci keberhasilan dalam diagnosis laboratorium. Tidak hanya itu pengujian lainnya setelah tumbuh pada medium CTBA juga ikut menentukan keberhasilan diagnosis laboratorium seperti pewarnaan Albert atau Neisser serta uji biokimia.

KESIMPULAN

Medium CTBA mempunyai kemampuan selektivitas terbatas tidak hanya bakteri *Corynebacterium* yang tumbuh tapi juga beberapa bakteri lainnya masih dapat tumbuh seperti *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterobacter sakazakii*, *Klebsiella pneumoniae* dan *Candida albicans*. Kemampuan teknis laboratorium yang baik dalam memilih dan membedakan karakteristik koloni yang tumbuh pada medium CTBA merupakan kunci keberhasilan dalam diagnosis laboratorium.

SARAN

Dalam melakukan kultur *C. diphtheriae* khususnya pada sampel primer, penggunaan medium CTBA perlu didampingi dengan medium penyubur lainnya seperti medium agar darah. Kemampuan membedakan koloni dari beberapa bakteri yang tumbuh pada medium CTBA perlu ditingkatkan untuk keberhasilan diagnosis laboratorium.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada tim Laboratorium Bakteriologi Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan.

DAFTAR RUJUKAN

1. Chin J, editor. Manual pemberantasan penyakit menular [editor penerjemah Kandun IN]. Edisi 17. Jakarta: Departemen Kesehatan RI; 2000..
2. Acang N. Difteri. Dalam: Ilmu penyakit dalam. Edisi 3. Jakarta: Balai Penerbit FKUI; 1996.
3. Staf Pengajar Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Buku ajar mikrobiologi kedokteran. Tangerang: Binarupa Aksara; 1993.
4. Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Dasar, Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, 2008. Available from : <http://www.scribd.com/doc/16574529/Petunjuk-Praktikum-Mikrobiologi-Dasar>
5. Morello AJ, Mizer HE, Granato PA, Laboratory manual and workbook in microbiology: applications to patients care. New York: The McGraw-Hill Companies., 2003. Available from: http://-site.iugaza.edu.ps/-mwhindi/files/-Laboratory_Manual_And_Workbook_In_Microbiology.pdf
6. Efstratiou A, George RC. Laboratory guidelines for the diagnosis of infections caused by *Corynebacterium diphtheriae* and *C. ulcerans*. Commun Dis Public Health. 1999;2(4):250-7.
7. Efstratiou A, Engler KH, Mazurova IK, Glushkevich T, Vuopio-Varkila J, Popovic T. Current approaches to the laboratory diagnosis of diphtheria. The Journal of Infectious Diseases. 2000; 181(Suppl 1):S138-45.
8. De Zoysa A, Efstratiou A. *Corynebacterium spp.* In: Gillespie SH, Hawkey PM, editors. Principles and practice of clinical bacteriology. 2nd edition. West Sussex: John Wiley&Son, Ltd.; 2006.
9. Juliati. Materi diktat *Corynebacterium diphtheriae*. Surabaya: BLK; 1999.
10. Burkovski LA, editor *Corynebacterium diphtheriae* and related toxigenic species: genomics, pathogenicity, and application. Dordrecht: Springer; 2014.
11. HiMedia Laboratories, Cystine Tellurite Agar Base M881, Technical Data. Available from : <http://himedialabs.com/TD/M881.pdf>
12. Putranto RH, Sariadji K, Sunarno, Roselinda. *Corynebacterium diphtheriae*: diagnosis laboratorium bakteriologi. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia; 2014.
13. Sigma. 89747 Tinsdale Agar Base. Fluka Analytical. Available from: <https://www.-sigmaaldrich.com..pdf>
14. BDTM.Tellurite Agar (Hoyle). Juni 2003. Availablefrom:<http://www.bd.com/europe/regulatory.pdf>.