

VARIASI WAKTU SIMPAN DARAH DONOR KEDALUWARSA PADA MEDIA AGAR DARAH TERHADAP DIAMETER ZONA HEMOLISIS *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Variation of storage time expired donor blood on blood agar media to the diameter of Staphylococcus aureus hemolysis zone

Cheni Dwi Antika Putri¹, Handayani^{2*}, Karneli³, Fandianta⁴, Dian Adhe Bianggo Naue⁵
^{1,2,3,4,5} Poltekkes Kemenkes Prodi TLM Palembang
(*E-mail korespondensi: handayani@poltekkespalembang.ac.id)

ABSTRAK

Latar Belakang Darah domba merupakan *gold standard* pada pembuatan media agar darah, namun darah domba yang telah diproses defibrinasi dijual secara komersial dengan harga yang sangat mahal. Darah manusia mengandung zat yang mirip dengan darah domba dan dapat digunakan sebagai alternatif bahan dari pembuatan media agar darah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi waktu simpan darah donor yang kedaluwarsa pada pembuatan media agar darah terhadap diameter zona hemolisis bakteri *Staphylococcus aureus*. **Metode** penelitian yang digunakan adalah jenis kuasi eksperimental dengan objek penelitian berupa diameter zona hemolisis bakteri *Staphylococcus aureus*. **Hasil penelitian** didapatkan rata-rata diameter zona hemolisis *Staphylococcus aureus* pada media agar darah donor kedaluwarsa 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu adalah 10,67 mm; 10,50 mm; 10,00 mm; dan 10,00 mm. Berdasarkan hasil uji ANOVA didapatkan *p-value* 0,941 ($P > 0,05$). **Kesimpulan** dari penelitian ini yaitu tidak ada pengaruh pada media agar darah donor kedaluwarsa 1-4 minggu terhadap besar diameter zona hemolisis *Staphylococcus aureus*.

Kata kunci: *Staphylococcus aureus*, Darah Donor, Zona Hemolisis

ABSTRACT

Background Sheep blood is the *gold standard* for preparing blood agar media, but defibrinated sheep blood is commercially sold at a very high price. Human blood contains substances similar to those in sheep blood and can be used as an alternative material for the preparation of blood agar media. **Objective** This study aims to determine the effect of variation in expired donor blood storage time on the preparation of blood agar media on the diameter of the hemolysis zone of *Staphylococcus aureus* bacteria. **Method** This type of research is quasi-experimental with the research object being the diameter of the hemolysis zone of *Staphylococcus aureus* bacteria. **Research** results obtained the average diameter of the *Staphylococcus aureus* hemolysis zone on donor blood agar media expired 1 week, 2 weeks, 3 weeks and 4 weeks is 10.67 mm; 10.50 mm; 10.00 mm; and 10.00 mm. Based on the ANOVA test results, the *p-value* is 0.941 ($P > 0.05$). **Conclusion** of this study there is no effect on 1-4 weeks expired donor blood agar media on the diameter of *Staphylococcus aureus* hemolysis zone.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, Blood Donor, Hemolysis Zone

PENDAHULUAN

Staphylococcus aureus merupakan salah satu bakteri patogen yang paling terkenal menyebabkan berbagai macam infeksi kulit yang sulit dihitung jumlahnya dan terhitung ratusan ribu hingga jutaan infeksi yang lebih serius serta menyebar luas secara global setiap tahunnya (Dipta, 2020). Infeksi *Staphylococcus aureus* ditandai dengan tingkat kematian yang tinggi meskipun telah diberikan perawatan yang tepat (dari 20% hingga 50%, tergantung pada keparahan infeksi), seringnya kekambuhan (5-10%), dan gangguan yang berlangsung lama pada lebih dari sepertiga dari para penyintas (Kwiecinski & Horswill, 2020). Infeksi *Staphylococcus aureus* di Indonesia memiliki persentase kejadian resisten terhadap methisilin sebesar 83,3%, dibandingkan dengan 88% di Afrika Selatan dan 82% di Turki. Meningkatnya kejadian resisten *Staphylococcus aureus* terhadap methisilin menimbulkan kekhawatiran karena mempengaruhi angka kematian akibat infeksi (Dipta, 2020).

Untuk mengidentifikasi infeksi yang ditimbulkan dari *Staphylococcus aureus*, seperti bakteremia, pneumonia, dan endokarditis, sampel darah atau cairan jaringan harus diuji dengan menumbuhkan sampel nanah atau biopsi kulit yang terinfeksi di laboratorium mikrobiologi. Media agar darah adalah media pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang kaya akan nutrisi karena dibuat dengan penambahan darah. Media agar darah terbuat dari media agar darah base dengan 5-10% penambahan darah (Nurhidayanti & Ratna Sari, 2022).

Darah domba merupakan *gold standar* pada pembuatan media agar darah yang digunakan untuk mengisolasi bakteri yang dapat menghancurkan darah. Namun, darah domba yang telah diproses defibrinasi untuk dijual secara komersial sangat mahal. Darah manusia mengandung zat yang mirip dengan darah domba seperti protein, lemak, dan karbohidrat yang berasal dari hasil penyerapan pencernaan makanan (Turista & Puspitasari, 2019). Komponen darah manusia dan domba hampir sama, kecuali ukuran

eritrositnya yang berbeda (Wiandaru, 2021). Darah donor yang sudah kedaluwarsa dengan kandungan didalamnya masih dapat memperlihatkan warna yang sama dengan warna darah segar, tetapi secara *hematologic* sudah tidak boleh dilakukan tranfusi kepada pasien. Media agar darah donor manusia yang sudah kedaluwarsa dengan konsentrasi 4% dan 5% dapat berfungsi sebagai pengganti media agar darah domba yang memiliki konsentrasi 4% dalam mendukung pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (Dewi & Febrianti, 2019).

Persentase dan tingkat efektivitas pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang dihasilkan pada media agar darah donor kedaluwarsa adalah 97,03% atau dapat dikatakan efektif jika dibandingkan dengan media agar darah domba (Dewi, 2020). Menurut penelitian Dipta (2020), zona hemolisis yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* menunjukkan perbedaan diameter antara zona hemolisis yang dihasilkan pada media agar darah dengan darah domba dan media agar darah dengan darah donor kedaluwarsa.

Namun, dari penelitian terkait dengan penggunaan darah donor yang sudah kedaluwarsa belum adanya rentang waktu kedaluwarsa dari darah donor yang masih dapat digunakan pada pembuatan media agar darah. Melalui penelitian ini akan dilakukan eksplorasi variasi waktu kedaluwarsa yang masih dapat diterima dalam pengukuran zona hemolisis bakteri *Staphylococcus aureus* dengan variasi waktu donor kedaluwarsa 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu, dan 4 minggu.

METODE

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian kuasi eksperimental. Penelitian dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Palembang Jurusan Teknologi Laboratorium Medis dan berlangsung dari Maret – April 2024.

Objek penelitian yang diteliti adalah diameter zona hemolisis bakteri *Staphylococcus aureus* pada media agar darah dengan menggunakan variasi waktu

kedaluwarsa 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu, dan 4 minggu dari darah donor. Adapun kelompok perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini berdasarkan rumus Federer akan dilakukan replikasi atau pengulangan sebanyak 6 kali. Pengambilan sampel berupa darah donor kedaluwarsa dengan mempertimbangkan kriteria inklusi berupa darah donor yang disimpan dengan waktu kedaluwarsa tertentu serta kriteria eksklusi darah donor yang memiliki riwayat penyakit menular.

Isolat bakteri diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C dan disuspensikan dalam NaCl fisiologis dengan standar Mc Farland 0,5. Darah manusia yang sudah kedaluwarsa berupa *Packed Red Cell* disiapkan. Setelah itu dilakukan penimbangan *Blood Agar Base* (Oxoid) sebanyak 8 gram. Selanjutnya ditambahkan aquadest hingga 200 ml, dan di sterilkan dengan autoklaf selama 15 menit dengan menggunakan suhu 121°C. Setelah keluar dari autoklaf, biarkan darah mencapai suhu 45°-50°C atau hangat kemudian ditambahkan dengan darah donor kedaluwarsa sebanyak 10% kemudian dituang pada masing-masing cawan petri ($\pm 20-25$ ml). Pembuatan media agar darah kedaluwarsa dilakukan sebanyak empat kali yaitu 1 minggu setelah kedaluwarsa, kemudian darah tersebut disimpan Kembali ke dalam kulkas hingga darah melewati kedaluwarsa 2 minggu, begitu juga untuk pembuatan agar darah kedaluwarsa 3 dan 4 minggu.

Inokulasi bakteri dilakukan dengan menggunakan ose dan metode *streak plate* untuk mendapatkan pertumbuhan koloni bakteri yang terpisah. Setelah diinokulasi kemudian dilakukan inkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Kemudian ukur zona hemolisis yang terbentuk pada media agar darah dengan koloni bakteri yang terpisah. Area jernih di sekitar pertumbuhan koloni adalah diameter zona hemolisis yang diukur. Pengukuran dilakukan dari satu sisi ke sisi

lain melalui titik pusat koloni bakteri yang terpisah. Pengukuran dilakukan minimal sebanyak 3 kali.

Pada penelitian ini analisis univariat digunakan untuk menggambarkan penghitungan rata-rata, median, dan standar deviasi, rentang interkuartil, serta nilai minimum dan maksimum dari diameter zona hemolisis untuk setiap variasi waktu simpan darah donor kedaluwarsa.

Analisis statistik yang akan digunakan untuk mengetahui pengaruh dari masing-masing variasi waktu darah donor kedaluwarsa 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu, dan 4 minggu adalah uji *One-Way ANOVA* (*analysis of variance*) menggunakan aplikasi SPSS.

HASIL

Variasi waktu pembuatan media dengan waktu simpan darah donor kedaluwarsa 1 minggu rata-rata diameter zona hemolisis sebesar 10,67 mm dan median sebesar 10,00 mm dengan standar deviasi 2,33 dan diameter minimum 8 mm serta diameter maksimum 14 mm. Variasi waktu pembuatan media dengan waktu simpan darah donor kedaluwarsa 2 minggu diameter rata-rata diameter zona hemolisis sebesar 10,50 mm dan median sebesar 11,50 mm dengan standar deviasi 2,42 dan diameter minimum 7 mm serta diameter maksimum 13 mm. Variasi waktu pembuatan media dengan waktu simpan darah donor kedaluwarsa 3 minggu diameter rata-rata diameter zona hemolisis sebesar 10,00 mm dan median sebesar 9,50 mm dengan standar deviasi 2,60 dan diameter minimum 7 mm serta diameter maksimum 14 mm. Serta variasi waktu pembuatan media dengan waktu simpan darah donor kedaluwarsa 4 minggu diameter rata-rata diameter zona hemolisis sebesar 10,00 mm dan median sebesar 10,00 mm dengan standar deviasi 1,89 dan diameter minimum 8 mm serta diameter maksimum 13 mm.

Tabel 1. Diameter Zona Hemolisis

Variasi Waktu Simpan Darah Donor Kedaluwarsa	Diameter Zona Hemolisis		
	N	Mean	Std. Deviasi
1 Minggu	6	10,67	2,33
2 Minggu	6	10,50	2,42
3 Minggu	6	10,00	2,60
4 Minggu	6	10,00	1,89

Tabel 2. Uji Statistik Variasi Waktu Simpan Darah Donor

Variasi Waktu Simpan Darah Donor Kedaluwarsa	Diameter Zona Hemolisis			
	N	Mean	Std. Deviasi	P-Value
1,2,3,4 Minggu	24	10,29	2,31	0,941

Berdasarkan hasil analisis data uji statistik ANOVA didapatkan nilai *p-value* atau signifikansi sebesar 0,941 lebih besar dari nilai α (0,05) maka H_0 diterima atau H_0 gagal tolak. Hipotesis H_0 menunjukkan bahwa tidak adanya pengaruh dari empat variasi waktu kedaluwarsa terhadap diameter zona hemolisis bakteri *Staphylococcus aureus*. Dalam hal ini menegaskan bahwa variasi waktu darah donor yang kedaluwarsa pada pembuatan media agar darah tidak berpengaruh terhadap diameter zona hemolisis bakteri *Staphylococcus aureus*.

PEMBAHASAN

Pembentukan zona hemolisis yang dihasilkan dengan menggunakan media pada variasi waktu simpan darah donor kedaluwarsa 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu, dan 4 minggu pada waktu inkubasi 24 jam masih belum terlihat jelas atau belum sempurna. Namun, setelah perpanjangan waktu inkubasi selama 48 jam zona hemolisis baru terlihat jelas dan terbentuk secara sempurna. Hasil dari zona hemolisis yang didapatkan dari media dengan keempat variasi waktu adalah jenis β -hemolisa yang mana ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Krihariyani et al., 2016; Turista & Puspitasari,

2019, bahwa zona hemolisis yang terbentuk pada media agar darah yang ditumbuhi oleh *Staphylococcus aureus* adalah β -hemolisa. Zona hemolisis ini dapat terbentuk oleh karena adanya toksin yang berupa hemolisin yang dihasilkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, pada analisis data statistik didapatkan rata-rata hasil pengukuran diameter zona hemolisis bakteri *Staphylococcus aureus* antar variasi waktu simpan darah donor kedaluwarsa 10,67 mm; 10,50 mm; 10,00 mm; dan 10,00 mm. Jika dibandingkan dengan diameter zona hemolisis bakteri *Staphylococcus aureus* pada media *gold standar* adalah 11,5 mm maka selisih yang didapat antara media darah donor kedaluwarsa dan media *gold standar* sebesar 0,83 mm. Hal ini tidak jauh berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Dipta (2020), yang menyatakan bahwa media darah donor kedaluwarsa dapat digunakan sebagai pengganti media agar darah domba dengan hasil penelitian selisih diameter zona hemolisis *Staphylococcus aureus* antara kedua media agar adalah 0,84 mm.



Gambar 1. Zona Hemolisis

Penelitian ini juga sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Mudatsir (2012), yang menyatakan bahwa besar zona hemolisis *Streptococcus pyogenes* pada media agar darah kedaluwarsa dengan variasi waktu 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu, dan 4 minggu yang memiliki selisih yang tidak terlalu jauh dengan variasi waktu yang lain sehingga dapat dikatakan bahwa media masih menunjukkan kemampuan yang baik dan hampir sama bagi *Streptococcus pyogenes* dalam menghemolisis darah.

KESIMPULAN

Tidak ada pengaruh pada media agar darah menggunakan darah donor kedaluwarsa 1-4 minggu terhadap besarnya diameter zona hemolisis *Staphylococcus aureus*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah mendukung penelitian ini. Terima kasih kepada Poltekkes Kemenkes Palembang atas fasilitas dan dukungan yang diberikan semoga bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan di bidang bakteriologi.

DAFTAR PUSTAKA

Dewi, I. 2020. Efektivitas Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Media Agar

Darah Manusia Kedaluwarsa Dibanding Agar Darah Domba. Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.

<http://eprints.poltekkesjogja.ac.id/2868/>

Dewi Novita, R. I., dan Febrianti, I. 2019. Pemanfaatan Penggunaan Darah Donor Yang Telah Kedaluwarsa Untuk Pembuatan Agar Darah Pada Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Pengelolaan Laboratorium Pendidikan* 1 (2).

Dipta, B. 2020. Perbedaan Hasil Uji Hemolisis Bakteri *Staphylococcus aureus* yang Diinokulasi pada Media Agar Darah Manusia Donor Kedaluwarsa dengan Darah Domba. Poltekkes Kemenkes Yogyakarta. <http://eprints.poltekkesjogja.ac.id/2914/>

Krihariyani, D., Diah Woelansari, E., dan Kurniawan, E. 2016. Pola Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Pada Media Agar Darah Manusia Golongan O, Ab, Dan Darah Domba Sebagai Kontrol. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kesehatan*. 3 (2): 191-200.

Kwiecinski, J. M., dan Horswill, A. R. 2020. *Staphylococcus aureus* bloodstream infections: pathogenesis and regulatory mechanisms. *Current Opinion in Microbiology*, 53, 51–60. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2020.02.005>

Mudatsir. 2012. Penggunaan Darah Kadarluarsa Sebagai Media Isolasi dan Identifikasi *Streptococcus faecalis*. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi*. 2 (1). <https://jurnal.usk.ac.id/JBE/article/view/1041>

Nurhidayanti, dan Ratna Sari, R. 2022. Perbedaan Karakteristik Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Media Agar Darah Domba dan Media Agar Darah Perbedaan Karakteristik Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Media Agar Darah Domba dan Media Agar Darah Manusia. *Jurnal Analis Kesehatan*. 11(1).

- Turista, D. D. R., & Puspitasari, E. (2019). The Growth of *Staphylococcus aureus* in the blood agar plate media of sheep blood and human blood groups A, B, AB, and O. *Jurnal Teknologi Laboratorium*, 8(1), 1–7. <https://doi.org/10.29238/teknolabjournal.v8i1.155>
- Wiandaru, F. (2021). Pemanfaatan Darah PMI Kedaluwarsa untuk Pembuatan Media Agar Darah dada Identifikasi *Streptococcus mutans*. Poltekkes Kemenkes Yogyakarta. <http://eprints.poltekkesjogja.ac.id/6008/>