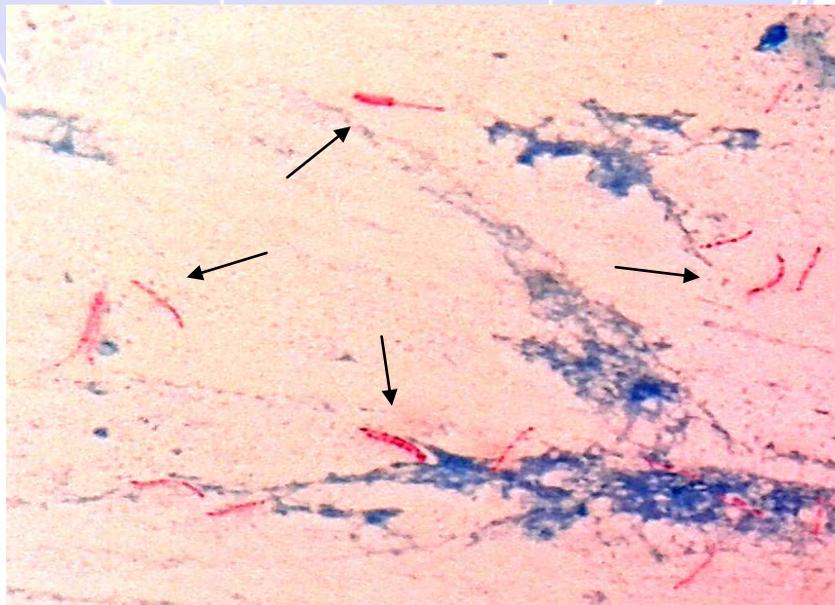


II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Mycobacterium tuberculosis*

Mycobacterium tuberculosis berbentuk batang lurus atau sedikit melengkung, tidak berspora dan tidak berkapsul. Bakteri ini berukuran lebar 0,3 – 0,6 mm dan panjang 1 – 4 mm. Dinding *Mycobacterium tuberculosis* sangat kompleks, terdiri dari lapisan lemak cukup tinggi (60%). Penyusun utama dinding sel *Mycobacterium tuberculosis* adalah asam mikolat merupakan asam lemak berantai panjang yang dihubungkan dengan arabinogalaktan oleh ikatan glikolipid dan peptidoglikan oleh jembatan fosfodiester. Unsur lain yang terdapat pada dinding sel bakteri tersebut adalah polisakarida. Struktur dinding sel yang kompleks tersebut menyebabkan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* bersifat tahan asam, yaitu apabila sekali diwarnai akan tahan terhadap upaya penghilangan zat warna tersebut dengan larutan asam-alkohol (Perhimpunan Dokter Paru Indonesia, 2006).



Gambar 1. Bakteri *Mycobacterium tuberculosis*
Sumber : Dokumentasi pribadi

Mycobacterium tuberculosis mempunyai sifat khusus yaitu tahan terhadap asam pada pewarnaan Zielh-Nelssen, oleh karena itu disebut pula Basil Tahan Asam (BTA). Bakteri ini cepat mati dengan sinar matahari langsung, tetapi dapat hidup beberapa jam ditempat yang gelap dan lembab. Dalam jaringan tubuh bakteri ini dapat bertahan lama selama beberapa tahun (Ichwan, 2009).

Mycobacterium tuberculosis merupakan bakteri aerob obligat dan parasit intraseluler fakultatif dan memiliki waktu generasi yang lambat antara 15-20 jam. *Mycobacterium tuberculosis* tidak bisa diklasifikasikan sebagai bakteri gram positif atau gram negatif karena tidak memiliki karakteristik kimia yang baik, meskipun bakteri ini mengandung peptidoglikan dalam dinding sel mereka. Jika pewarnaan gram dilakukan pada *Mycobacterium tuberculosis* maka akan terlihat warna yang sangat lemah pada gram positif atau tidak terlihat sama sekali (Todar, 2012).

Sebagian besar *Mycobacterium tuberculosis* menyerang paru tetapi dapat juga menyerang organ tubuh yang lain. Sumber penularan dari bakteri ini adalah melalui inhalasi dari manusia ke manusia secara kontak langsung lewat udara melalui percikan sputum yang mengandung partikel *Mycobacterium tuberculosis* (Widyaningsih, 2008).

2.2 Klasifikasi *Mycobacterium tuberculosis*

Pembagian kelompok *Mycobacterium* menurut sub divisio:

Divisio : *Mycobacteria*

Class : *Actinomycetes*

Ordo : *Actinomycetales*

Family : *Mycobacteriaceae*

Genus : *Mycobacterium*

Spesies : *Mycobacterium tuberculosis* (Girsang, 2012).

Mycobacteria berbentuk basil, merupakan bakteri aerobik yang tidak membentuk spora. Meskipun mereka tidak terwarnai dengan baik, segera setelah diwarnai mereka mempertahankan dekolonisasi oleh asam atau alkohol, oleh karena itu bakteri ini dinamakan basil tahan asam. Bakteri ini biasanya tumbuh lambat dan tidak tumbuh pada pembenihan biasa, tetapi memerlukan pembenihan yang diperkaya dengan albumin telur misalnya dengan kultur dengan media Lowenstein Jensen. *Mycobacterium tuberculosis* menyebabkan tuberkulosis dan merupakan patogen pada manusia. *Mycobacterium avium-intraselluler* dan *Mycobacterium atipikal* lain sering menginfeksi pasien AIDS, bersifat patogen oportunistik pada orang immunokompromis dan kadang-kadang menyebabkan penyakit pada pasien dengan sistem immun normal (Gupte, 1990).

2.3 Jenis – Jenis *Mycobacteria*

Mycobacteria merupakan mikroba tahan asam, bakteri ini lebih mirip dengan bakteri *Nocardia*. Tingkat ketahanan bakteri ini terhadap asam alkohol sangat bervariasi, tergantung spesiesnya. Beberapa jenis dari *Mycobacteria* ini ada yang tidak patogen dan sering ditemukan pada manusia dan lingkungan tempat

tinggal. Beberapa jenis *Mycobacteria* yang sering ditemukan pada manusia dan lingkungan tempat tinggal antara lain *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium leprae*, *Mycobacterium fortuitum-chelonaecomplex* (Girsang, 2012).

Dari sudut pandang kecepatan tumbuh dan jenis pigmen, *Mycobacterium* dapat dibagi atas:

1. *Photochromogen* dengan koloni berpigmen kuning.

Bakteri golongan ini koloninya akan berwarna jika inkubasi dilakukan dengan pencahayaan. Bakteri *Mycobacterium* yang termasuk golongan ini adalah *M. kansasii*, *M. marinum*, *M. simiae*, *M. asiticum*.

2. *Non Photochromogen*

Bakteri golongan ini koloninya tidak berpigmen. Bakteri *Mycobacterium* yang termasuk golongan ini adalah *M. tuberculosis*, *M. gastrii*, *M. malmoense*, *M. haemophilum*, *M. xenopi*.

3. *Scotochromogen* dengan koloni berpigmen kuning atau orange.

Bakteri golongan ini koloninya akan berwarna jika inkubasi dilakukan dalam keadaan gelap. Bakteri *Mycobacterium* yang termasuk golongan ini adalah *M. szulgai*, *M. flavesens*, *M. gordonae*, *M. scrofulaceum*.

4. *Rapid grower*

Bakteri golongan ini merupakan *Mycobacterium* yang pertumbuhannya cepat. Bakteri *Mycobacterium* yang termasuk golongan ini adalah *M. fortuitum – chelonaecomplex*.

Bakteri yang tidak termasuk golongan *rapid grower* mempunyai waktu pembelahan puluhan jam. Oleh karena itu koloni yang diisolasi dari spesimen biasanya mulai tampak setelah 2 minggu. Sementara bakteri yang termasuk golongan *rapid grower* biasanya akan tampak dalam waktu 1 minggu (Sjahrurachman, 2008).

2.4 Biakan dan Identifikasi *Mycobacterium tuberculosis*

Dasar pemeriksaan kultur bakteri adalah adanya pertumbuhan bakteri yang ditanam dalam media pembenihan. Penggunaan media padat berbahan telur Lowenstein-Jensen merupakan metode pemeriksaan yang direkomendasikan oleh badan kesehatan dunia (Srioetami, 2013).

Diagnosis pasti penyakit tuberkulosis ditegakkan bila ditemukan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* didalam spesimen yang berasal dari organ yang terinfeksi. Sputum penderita tuberkulosis paru aktif mengandung mikobakterium yang relatif banyak, karena sputum berasal dari aktifitas di paru-paru. Biakan *Mycobacterium tuberculosis* merupakan metode pemeriksaan bakteriologi yang lebih sensitif daripada pemeriksaan metode mikroskopis TB (Indahwaty, 2007).

Diagnosis TB paru juga dapat ditegakkan berdasarkan gejala klinis, foto toraks, sputum mikroskopis dan biakan sebagai standar baku emas diagnosis. Hasil sediaan apus BTA negatif dari sputum tidak cukup untuk menyatakan seseorang pasien tersebut tidak terinfeksi TB, oleh karena itu diagnosis TB harus di konfirmasi dengan biakan *Mycobacterium tuberculosis*. Biakan lebih sensitif dibandingkan sediaan apus mikroskopis yaitu 80-85% dibandingkan 30-60% karena biakan dapat mendeteksi hingga 50 bakteri per ml sputum, memiliki nilai spesifisitas cukup tinggi yaitu 98% dan dapat mendeteksi hingga 80% kasus.

Kendala yang sering ditemukan pada biakan *M.tuberculosis* adalah waktu yang lama karena memang aktivitas metabolik *M.tuberculosis* yang rendah (Setiarsih, 2012).

Pemeriksaan sputum secara mikroskopis merupakan pemeriksaan yang efisien, mudah dan murah. Pemeriksaan standar baku emas untuk mendiagnosis tuberkulosis adalah melalui kultur, tetapi membutuhkan waktu yang lama. Sifat *Mycobacterium tuberculosis* yang lambat pada waktu pembelahan sekitar 20 jam, sehingga pada kultur pertumbuhan baru tampak setelah 4-8 minggu. Untuk dapat tumbuh di media kultur diperlukan 100-1000 kuman / ml sputum (Widyaningsih, 2008).

Indikasi utama dalam melakukan pemeriksaan kultur *Mycobacterium tuberculosis* adalah tiga kali BTA negatif sedangkan yang bersangkutan dicurigai TB karena mempunyai gejala saluran pernafasan, penderita TB pada anak, spesimen yang berasal dari extra paru dari seseorang penderita TB. Semua yang berkaitan dengan pasien TB-HIV (Sjahrurachman, 2008).

Identifikasi *Mycobacterium* dimulai dengan menilai waktu pertumbuhan, warna pigmen, morfologi koloni dan hasil pewarnaan BTA. Identifikasi yang lebih rinci dilakukan dengan berbagai uji biokimia yaitu antara lain uji niasin, uji reduksi nitrat, dan uji katalase. Langkah awal untuk identifikasi *Mycobacterium* adalah:

1. Seleksi koloni
 - a. Amati jumlah dan jenis koloni. Deskripsikan apakah kasar, halus cumbung, halus menyebar, halus dengan tepi berkeriput, kasar transparan, kasar keruh dan sebagainya.

- b. Amati pigmen pasca inkubasi ditempat gelap
 - c. Jika terdapat lebih dari satu jenis koloni, dilakukan subkultur untuk tiap jenis koloni.
2. Pewarnaan BTA dengan *Ziehl-Neelsen*
 3. Kecepatan tumbuh. *Rapid grower* akan tumbuh dalam 7 hari atau kurang, sedangkan *slow grower* akan tumbuh setelah itu. Namun hal tersebut tidak selalu jelas batasnya *M. chelonae* atau *M. thermoresistible* pada suhu 35 - 37°C akan tampak sebagai *slow grower*.
 4. Pencahayaan. *Mycobacterium* yang termasuk fotokromogen akan menghasilkan pigmen jika dipaparkan cahaya. Namun pigmen hanya optimal jika koloni kuman terpisah, jika pertumbuhannya sangat padat pigmen tidak akan muncul (Sjahrurachman, 2008).



Gambar 2. Media Lowenstein-Jensen positif *Mycobacterium tuberculosis*
Sumber : Dokumentasi pribadi

Tabel 1. Skala pembacaan jumlah koloni pada media LJ (Kementerian Kesehatan RI 2012).

PEMBACAAN (koloni)	PENCATATAN
>500	4+
200 – 500	3+
100 – 200	2+
20 – 100	1+
1 – 19	Tulis jumlah koloni
Tidak ada pertumbuhan	Negatif

2.5 Media kultur *Mycobacterium tuberculosis*

Biakan *Mycobacterium tuberculosis* merupakan pemeriksaan bakteriologi yang lebih sensitif daripada pemeriksaan mikroskopis Zielh-Nelsen. Jenis media biakan secara umum terdiri dari dua macam yaitu medium padat dan medium cair. Medium padat terdiri dari dua jenis yaitu medium padat berbasis telur dan medium padat berbasis agar. Medium padat berbasis telur merupakan pilihan utama untuk biakan yang berasal dari spesimen sputum. Terdapat dua jenis medium berbasis telur yaitu media Lowenstein-Jensen (LJ) dan media Ogawa. Media LJ digunakan secara luas di dunia, sedangkan media Ogawa hanya digunakan di Jepang dan di Indonesia (Indahwaty, 2007). Media ini mengandung inhibitor untuk menjaga kontaminasi yang disebabkan oleh bakteri lain. Waktu yang dibutuhkan untuk mendapatkan koloni adalah 4-8 minggu (Todar, 2012).



Gambar 3. Media Lowenstein-Jensen
Sumber : Dokumentasi pribadi

Medium cair terdiri dari beberapa jenis yaitu Middlebrook 7H9 (medium cair konvensional), *broth base culture system* (Bactec 460TB, Septi-Check AFB, dan MGIT) dan yang terbaru menggunakan sistem kolorimetrik adalah MB/Bact240. Medium cair memiliki kemampuan mendeteksi pertumbuhan *Mycobacterium* lebih cepat, terutama pada kasus TB ekstraparu, sehingga penggunaan medium ini sangat membantu para klinisi dalam menentukan diagnosis penyakit lebih dini (Indahwaty, 2007).

2.6 Natrium Hidroksida (NaOH)

Natrium hidroksida anhidrat berbentuk kristal berwarna putih. NaOH bersifat sangat korosif terhadap kulit. Istilah yang sering digunakan dalam industri yaitu soda kaustik. Soda kaustik apabila dilarutkan dalam air akan menimbulkan reaksi eksotermis (Riama, 2012).

Natrium hidroksida murni berbentuk putih padat dan tersedia dalam bentuk pelet, serpihan, butiran, dan larutan jenuh 50%. Natrium hidroksida

bersifat lembab cair dan secara spontan menyerap karbon dioksida dari udara bebas. Natrium hidroksida juga sangat larut dalam air dan akan melepas kalor ketika dilarutkan dalam air. Natrium hidroksida merupakan jenis basa logam kaustik dan terbentuk dari oksida basa natrium hidroksida yang dilarutkan dalam air. Natrium hidroksida membentuk larutan alkalin yang kuat ketika dilarutkan dalam air. Natrium hidroksida digunakan didalam berbagai bidang industri. Kebanyakan digunakan sebagai basa dalam proses industri bubur kayu, kertas, tekstil, sabun, dan deterjen. Selain itu natrium hidroksida juga merupakan basa yang paling umum digunakan dalam laboratorium kimia (Prasetya, 2012).

Dalam bidang kesehatan NaOH juga digunakan dalam proses dekontaminasi biakan *Mycobacterium tuberculosis*. Sputum pasien dengan infeksi tuberkulosis sering mengandung partikel padat dari materi yang berasal dari paru dan jika ada maka materi ini harus diseleksi untuk biakan. Walaupun demikian, karena sputum tuberkulosis dibatukkan melalui tenggorokan dan mulut, pencemaran oleh flora normal faring tidak dapat dihindarkan. Bakteri pencemar harus dibinasakan agar tidak terjadi pertumbuhan berlebihan pada biakan di media Lowenstein-Jensen. Oleh karena itu, dianjurkan untuk melakukan prosedur dekontaminasi pada semua bahan yang diambil dari tempat yang mengandung flora normal. NaOH akan mencairkan sputum yang kadang-kadang mukoid sambil menghancurkan organisme pencemar. Walaupun demikian, NaOH juga bersifat toksik terhadap mikobakteria. Oleh karena itu, basil tuberkulosis tidak boleh terpapar NaOH lebih dari 15 menit karena akan membunuh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* itu sendiri (Vandepitte, 2010).