



MEDIA PERTUMBUHAN KUMAN

Y. Kusumo Adi Arji Atmanto¹, Lisdiana Amin Asri², Nursin Abd. Kadir^{2,3}

¹Program Pendidikan Dokter Spesialis Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Makassar

²Departemen Ilmu Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Makassar

³Instalasi Laboratorium Patologi Klinik RSUD Labuang Baji, Makassar

Corresponding Author: Y. Kusumo Adi Arji Atmanto, Program Pendidikan Dokter Spesialis Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

E-Mail: adi.pk.unhas@gmail.com

Received 06 Agustus, 2022; Accepted 12 Agustus, 2022; Online Published 30 Oktober, 2022

Abstrak

Media kultur/ media pertumbuhan kuman/ mikroorganisme adalah suatu bahan yang terdiri atas campuran nutrisi yang digunakan oleh suatu mikroorganisme untuk tumbuh dan berkembang biak. Media kultur digunakan sebagai *gold standard* penegakan diagnosa pasti suatu penyakit infeksi, juga dapat dipergunakan untuk isolasi, pengujian sifat fisiologis, dan perhitungan jumlah mikroorganisme. Mikroorganisme memanfaatkan nutrisi pada media berupa molekul-molekul kecil yang dirakit untuk menyusun komponen sel nya. Media kultur bervariasi dalam bentuk dan komposisi, tergantung pada jenis spesies yang dikembangkan. Dari media kultur tersebut, maka dapat diidentifikasi mikroorganisme. Identifikasi mikroorganisme dari media kultur dapat diperiksa dengan mikroskop cahaya dengan terlebih dahulu dilakukan pembuatan pulasan bakteri tanpa pewarnaan atau dengan pewarnaan. Media kultur yang baik, yaitu media kultur yang mudah disiapkan, murah, mudah dibuat, dan mudah diaplikasikan.

Keywords: *Media pertumbuhan kuman; gold standard; identifikasi mikroorganisme*

PENDAHULUAN

Semua bentuk kehidupan, mulai dari mikroba/ mikroorganisme dalam siklus hidupnya membutuhkan lingkungan/ media yang sesuai untuk tumbuh dan berkembang optimal. Di laboratorium mikrobiologi/ bakteriologi, untuk menumbuhkan dan mempelajari sifat-sifat suatu bakteri diperlukan suatu substansi yang sudah diatur komposisi nutrisinya, yang disebut media. Media kultur/ media pertumbuhan kuman/ mikroorganisme adalah suatu bahan yang terdiri atas campuran nutrisi yang digunakan oleh suatu mikroorganisme untuk tumbuh dan berkembang biak. Komposisi nutrisi yang digunakan oleh organisme untuk bertumbuh disebut medium kultur dan upaya untuk menumbuhkan organisme disebut sebagai kultur. Media kultur digunakan sebagai *gold standard* penegakan diagnosa pasti suatu penyakit infeksi. Keterlambatan dalam penegakan diagnosa penyakit infeksi dapat mengakibatkan peningkatan insiden kesakitan, bahkan insiden kematian. Media kultur selain dapat dipergunakan sebagai *gold standar* penegakan diagnosa pasti, juga dapat dipergunakan untuk isolasi, pengujian sifat fisiologis, dan perhitungan jumlah mikroorganisme.¹⁻⁴

Mikroorganisme memanfaatkan nutrisi pada media berupa molekul-molekul kecil yang dirakit untuk menyusun komponen sel nya. Mikroorganisme yang berbeda membutuhkan material nutrisi yang berbeda pula. Oleh karena itu, media kultur bervariasi dalam bentuk dan komposisi, tergantung pada jenis spesies yang dikembangkan. Dari media kultur tersebut, maka dapat diidentifikasi mikroorganisme. Identifikasi mikroorganisme dari media kultur dapat diperiksa dengan mikroskop cahaya dengan terlebih dahulu dilakukan pembuatan pulasan bakteri tanpa pewarnaan atau dengan pewarnaan.²⁻⁴

Media kultur yang baik, yaitu media kultur yang mudah disiapkan, murah, mudah dibuat, dan mudah diaplikasikan. Media kultur tersedia dalam bentuk padat hingga cair.⁴

Berdasarkan latar belakang di atas, oleh karena itu dalam makalah ini akan dibahas mengenai media pertumbuhan kuman yang lebih lazim disebut sebagai media kultur mikroorganisme mulai dari definisi, kegunaan, karakteristik, tipe dan klasifikasi media kultur mikroorganisme.

DEFINISI MEDIA KULTUR MIKROORGANISME

Kultur adalah sebuah teknik in vitro untuk menumbuhkan mikroorganisme atau sel dalam media nutrient yang cocok yang disebut media kultur pada laboratorium. Media kultur mikroorganisme adalah suatu bahan yang terdiri atas campuran nutrisi yang digunakan oleh suatu mikroorganisme untuk tumbuh dan berkembang biak. Mikroorganisme memanfaatkan nutrisi pada media berupa molekul-molekul kecil yang dirakit untuk menyusun komponennya.²⁻⁴

Dengan media kultur, dapat dilakukan isolasi mikroorganisme menjadi kultur murni dan juga dapat dibuat komposisi media kultur sesuai kebutuhan bakteri. Oleh karena bakteri yang berbeda memerlukan kebutuhan akan nutrisi yang berbeda sehingga dikembangkan berbagai macam media pertumbuhan untuk digunakan dalam diagnosa mikrobiologi.^{2,3-6}

KEGUNAAN MEDIA KULTUR MIKROORGANISME

Tujuan utama dari membuat media kultur mikroorganisme adalah untuk menyediakan keseimbangan campuran nutrient yang dibutuhkan untuk pertumbuhan mikroorganisme yang baik. Media kultur menyediakan lingkungan buatan yang mensimulasi kondisi alami yang penting untuk pertumbuhan. Media kultur digunakan sebagai gold standar penegakan diagnosa penyakit infeksi, juga dapat dipergunakan untuk isolasi, pengujian sifat fisiologis, dan perhitungan jumlah mikroorganisme.²⁻⁴

KARAKTERISTIK DAN PERSYARATAN MEDIA KULTUR

Karakteristik media kultur yang ideal yaitu dapat menumbuhkan mikroorganisme untuk inokulasi kecil, bahkan untuk sel tunggal. Karakteristik lainnya yaitu dapat menumbuhkan mikroorganisme dengan cepat, media kultur mudah disiapkan, murah, mudah dibuat, dan dapat memperagakan karakteristik yang kita minati.⁴

Media kultur harus mengandung bahan yang dibutuhkan organisme dalam proporsi tertentu. Yang mendasar yaitu harus ada sumber energi, berbagai makro dan mikronutrien, vitamin, dan lain-lain, juga harus memiliki pH yang cocok. Terlebih lagi harus steril, maka organisme yang di-kembang-biak-kan dapat membentuk kultur murni.⁴

Persyaratan media kultur yaitu :^{1,4}

1. Mengandung sumber energi.
Untuk keperluan pertumbuhan bakteri pada media diperlukan energi, yang diperoleh dari oksidasi senyawa organik yang terkandung dalam media tersebut seperti karbohidrat dan protein.
2. Mengandung sumber karbon (C)
Sumber C bisa diperoleh dari senyawa organik protein dan karbohidrat. Protein diperoleh misalnya

dari ekstrak daging atau pepton, sedangkan karbohidrat misalnya glukosa, laktosa, dan sukrosa.

3. Mengandung sumber nitrogen (N)
Sumber N untuk kebutuhan nutrisi ada 2 yaitu : N berasal dari nitrogen anorganik dan N dari nitrogen organik. Kebutuhan N dari nitrogen anorganik biasanya dipakai amoniumnitrat (NH_4NO_3) atau ammonium sulfat (NH_4) 2SO_4 , sedangkan N dari nitrogen organik diperoleh dari protein/ pepton atau asam-asam amino.
4. Mengandung Garam.
5. Memiliki pH yang sesuai.
Derajat keasaman/ pH umumnya netral, tetapi ada juga yang alkali.
6. Memiliki oksidasi yang cukup.
7. Memiliki temperatur sesuai.
8. Memiliki tekanan osmose sesuai (harus isotonik)
9. Mengandung faktor pertumbuhan.

BAHAN-BAHAN MEDIA KULTUR

1. Bahan Dasar :³
 - a. Air (H_2O)
Media kultur harus mengandung air untuk menjaga kelembaban dan untuk pertukaran zat/ metabolisme, serta sebagai pelarut.
 - b. Agar (dari rumput laut) yang berfungsi untuk pematat media. Agar sulit didegradasi oleh mikroorganisme pada umumnya dan mencair pada suhu 45°C .
 - c. Gelatin, juga memiliki fungsi yang sama seperti agar. Gelatin adalah polimer asam amino yang diproduksi dari kolagen. Kekurangannya adalah lebih banyak jenis mikroba yang mampu menguraikannya dibanding agar.
 - d. Silica gel, yaitu bahan yang mengandung natrium silikat. Fungsinya juga sebagai pematat media. Silica gel khusus digunakan untuk memadamkan media bagi mikroorganisme autotrof obligat.
2. Nutrisi atau zat makanan :^{1,3}
Media harus mengandung unsur-unsur yang diperlukan untuk metabolisme sel yaitu berupa unsur makro seperti C, H, O, N, P; unsur mikro seperti Fe, Mg dan unsur *trace element*.
 - a. Sumber karbon dan energi yang dapat diperoleh berupa senyawa organik atau anorganik sesuai dengan sifat mikroba. Jasad heterotrof memerlukan sumber karbon organik antara lain dari karbohidrat, lemak, protein dan asam organik.
 - b. Sumber nitrogen mencakup asam amino, protein atau senyawa bernitrogen lain. Sejumlah mikroba dapat menggunakan sumber N anorganik seperti urea.
 - c. Vitamin-vitamin.
Vitamin diperlukan untuk mengaktifkan enzim. Banyak spesies kuman yang dapat mensintesa sendiri vitamin yang dibutuhkannya. Beberapa vitamin yang biasa/sering digunakan adalah

vitamin B, vitamin B6, vitamin C, dan vitamin B kompleks.

3. Bahan tambahan.³

Bahan-bahan tambahan yaitu bahan yang ditambahkan ke medium dengan tujuan tertentu, misalnya phenol red (indikator asam basa) ditambahkan untuk indikator perubahan pH akibat produksi asam organik hasil metabolisme. Antibiotik ditambahkan untuk menghambat pertumbuhan mikroba *non-target*/kontaminan.

4. Bahan yang sering digunakan dalam pembuatan media :^{1,3,4}

a. Air

Air penting untuk keberadaan sel hidup. Air sebagai sumber hydrogen dan oksigen. Air mutlak diperlukan selain sebagai pelarut bahan media, umumnya bakteri senang/lebih subur tumbuhnya dengan kandungan air, dan biasanya digunakan air suling (aquadest)

b. Pepton

Didapat dari daging, Fibrin kasein atau tepung kedelai. Berfungsi sebagai sumber nitrogen, sumber karbon, dan buffer.

c. Ekstrak daging.

Mengandung produk degradasi protein, karbohidrat, garam anorganik, enzim, faktor perangsang dan faktor pertumbuhan yang diperkaya dalam vitamin B kompleks. Berfungsi sebagai sumber faktor pertumbuhan, garam anorganik, dan lain-lain.

d. Ekstrak ragi.

Mengandung protein, asam amino, factor-faktor pertumbuhan (vitamin B), karbohidrat dan garam anorganik seperti potassium dan fosfat. Berfungsi sebagai sumber faktor-faktor pertumbuhan.

e. Elektrolit (Sodium Klorida atau elektrolit lain)

Berfungsi sebagai pengatur tekanan osmotik.

f. Agar-agar.

Untuk media bentuk padat/ semi padat ditambahkan agar-agar sebagai pematat. Agar-agar sulit didegradasi oleh mikroorganisme pada umumnya dan mencair pada suhu 45°C.

g. Senyawa yang dapat difermentasi (gula, alkohol, dan lain-lain)

Berfungsi sebagai sumber energi. Reaksi fermentasi membantu dalam identifikasi dan klasifikasi organisme.

h. Buffer (Karbonat dan fosfat)

Berfungsi untuk menjaga perubahan pH media.

KLASIFIKASI MEDIA KULTUR

Media kultur dapat di-klasifikasi-kan berdasarkan bentuk, susunan/ komposisi kimia, dan fungsinya.

1. Berdasarkan Bentuk.^{2,3,7}

Bentuk media kultur ada 3 macam yang dapat dibedakan dari ada atau tidaknya bahan tambahan

berupa bahan pematat seperti agar-agar atau gelatin. Bentuk media tersebut yaitu:

a. Media Padat/ Solid

Media yang mengandung agar 15% sehingga setelah dingin media menjadi padat, contoh nya yaitu media nutrient agar. Media padat umumnya dipergunakan untuk bakteri, ragi, jamur dan kadang-kadang juga mikroalga. Media padat dapat dibedakan menjadi tiga jenis menurut bentuk dan wadahnya yaitu:

1) Media tegak.

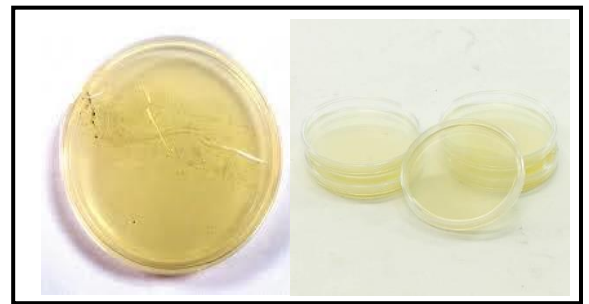
Media tegak menggunakan tabung reaksi yang ditegakkan sebagai wadahnya.

2) Media miring.

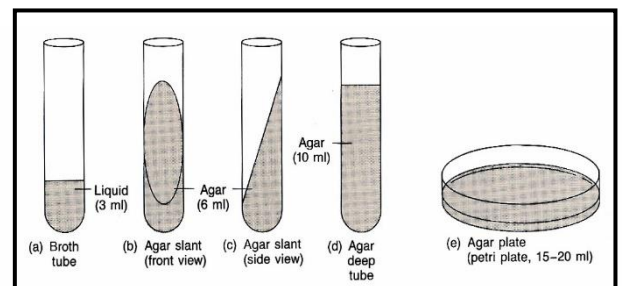
Media miring menggunakan tabung reaksi yang dimiringkan.

3) Media lempeng.

Media lempeng menggunakan *petridish* (*plate*) sebagai wadahnya.



Gambar 1. Media Padat (*Nutrient Agar*)



Gambar 2. Media tegak, media miring, dan media lempeng

b. Media Semi Padat/ Semi Solid.

Media yang mengandung agar 0,3-0,4% sehingga menjadi sedikit kenyal, tidak padat, tidak begitu cair. Media semi solid dibuat dengan tujuan supaya pertumbuhan mikroba dapat menyebar ke seluruh media tetapi tidak mengalami percampuran sempurna jika tergoyang. Misalnya bakteri yang tumbuh pada media NfB (*Nitrogen free Bromthymol Blue*) semisolid akan membentuk cincin hijau kebiruan di bawah permukaan media, jika media ini cair maka cincin ini dapat dengan mudah hancur.

Semisolid juga bertujuan untuk mencegah/menekan difusi oksigen, misalnya

pada media Nitrate Broth, kondisi anaerob atau sedikit oksigen meningkatkan metabolisme nitrat tetapi bakteri ini juga diharuskan tumbuh merata diseluruh media, untuk pertumbuhan mikroba yang banyak memerlukan air dan hidup anerobik dan untuk melihat pergerakan mikroba.

c. Media Cair.

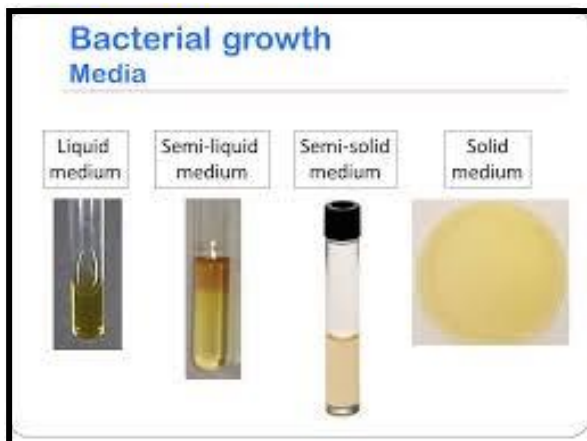
Merupakan media yang tidak ditambahi bahan pematid, umumnya digunakan untuk pertumbuhan mikroalga, contohnya adalah NB (*Nutrient Broth*), LB (*Lactose Broth*).

Keuntungan media cair :⁴

- 1) Untuk memperoleh pertumbuhan bakteri dari darah atau air ketika volume yang besar harus dites.
- 2) Untuk menyiapkan kultur untuk antigen atau vaksin
- 3) Digunakan untuk mempelajari laju pertumbuhan dan sedimentasi sel bakteri.

Kerugian media cair :⁴

- 1) Sulit untuk meng-isolasi tipe bakteri yang berbeda dari populasi campuran
- 2) Sulit untuk mempelajari karakteristik koloni



Gambar 3. Media cair, semi solid, dan media padat

2. Berdasarkan Susunan/ Komposisi Kimia.^{2,3,7}

Berdasarkan komposisinya, media kultur dibagi atas:

a. Media alami/non sintetis

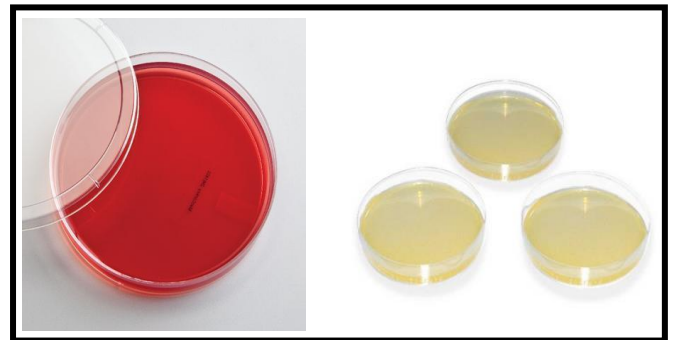
Merupakan media yang disusun dari bahan-bahan alami dimana komposisinya tidak dapat diketahui secara pasti dan biasanya langsung diekstrak dari bahan dasarnya seperti: kentang, tepung, daging, telur, ikan sayur, dsb. Contohnya: Tomato juice agar, brain heart infusion agar, pancreatic extract.

b. Media semi sintetis

Merupakan media yang disusun dari bahan-bahan alami dan bahan-bahan sintesis. Contohnya: PDA (*Potato Dextrose Agar*) yang mengandung agar, dekstrosa dan ekstrak kentang. Untuk bahan ekstrak kentang, tidak dapat diketahui secara detail tentang komposisi senyawa penyusunnya.

c. Media sintesis

Yaitu media yang disusun dari senyawa kimia yang jenis dan takarannya diketahui secara pasti. Contohnya : Mac Conkey Agar, Glucose Agar.



Gambar 4. Media sintesis
(A=Mac Conkey Agar, B= Glucose Agar)

3. Berdasarkan Fungsi.^{2,3,5-7}

Media kultur berdasarkan fungsinya yang sering digunakan dalam laboratorium mikrobiologi, yaitu:

a. Media Basal (media dasar)

Media yang digunakan sebagai bahan dasar untuk membuat media lain yang lebih kompleks. Media ini dapat mendukung pertumbuhan hampir semua jenis mikrobia, contohnya adalah nutrient broth, kaldu pepton, dsb.



Gambar 5. Media basal (*Nutrient Agar*)

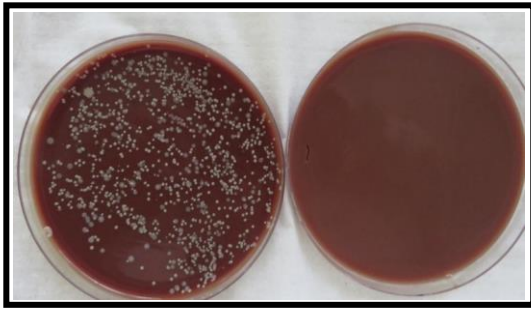
b. Media non selektif

Digunakan untuk berbagai jenis mikroorganisme dengan tingkat kecepatan pertumbuhan yang relatif tinggi. Contoh: BHIB dan Nutrient Agar, untuk menumbuhkan atau memperbanyak kuman yang akan diidentifikasi lebih lanjut.

c. Media selektif

Media yang memungkinkan beberapa jenis organisme untuk tumbuh dan menghambat pertumbuhan organisme lain. Selektivitas dicapai dengan beberapa cara seperti, memanfaatkan gula sebagai satu-satunya sumber karbon dengan menambahkan gula dalam medium, penambahan zat pewarna, antibiotik, garam atau inhibitor spesifik yang mempengaruhi metabolisme atau

sistem enzim organisme. Contoh: Thayer Martin agar, Lowenstein Jensen agar.



Gambar 6. Thayer Martin Agar positif *N.gonorhoea*

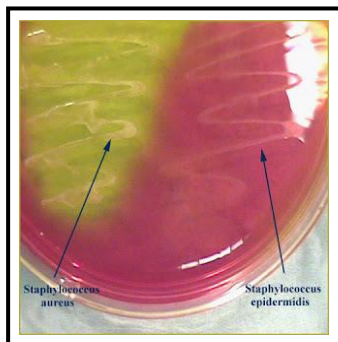


Gambar 7. Lowenstein Jensen agar positif *Myvobacterium tuberculosis*

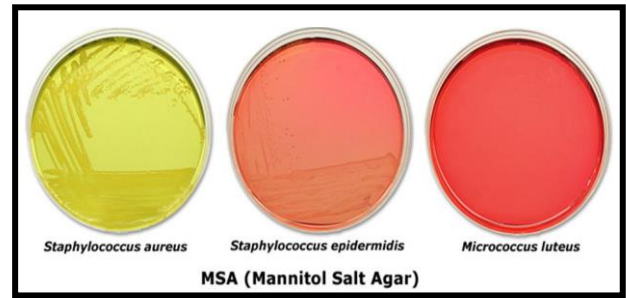
d. Media diferensial

Digunakan untuk membedakan organisme atau kelompok organisme yang terkait erat. Adanya zat pewarna atau bahan kimia tertentu di dalam media akan menghasilkan perubahan karakteristik atau pola pertumbuhan organisme yang digunakan untuk identifikasi dan diferensiasi. Karakter tersebut dapat berupa warna dan bentuk dari koloni. Perbedaan karakter ini menjadi tahap yang sangat penting dalam proses diferensiasi dan dasar untuk proses identifikasi selanjutnya.

Contoh: Mannitol Salt Agar (MSA), Mac Conkey agar, Eosin Methylene Blue Agar (EMBA) , Hektoen Enteric (HE) agar , Xylose-Lysine-Desoxycholate (XLD) agar, dan Blood Agar.



Gambar 8. Media diferensial (Mannitol Salt Agar)



Gambar 9. Diferensiasi pada MSA agar

e. Media diperkaya (*enrichment*) adalah media yang dirancang untuk mendukung pertumbuhan mikroorganisme tertentu. Media tersebut memiliki konstituen nutrisi yang mendorong pertumbuhan mikroba tertentu. Contohnya: kaldu selenit, atau kaldu tetrasyonat untuk memisahkan bakteri *Salmonella thyposa* dari tinja. Dan Media diperkaya (*enrichment media*) adalah media yang ditambahkan bahan-bahan tertentu untuk menstimulasi pertumbuhan mikroba yang diinginkan. Hal ini dilakukan untuk menstimulasi pertumbuhan mikroba yang jumlahnya sedikit dalam suatu campuran berbagai mikroba contoh Chocolate media, Yeast-Extract-potasium Nitrat Agar, Alkali pepton water (APW)



Gambar 10. Alkali Pepton Water (APW)

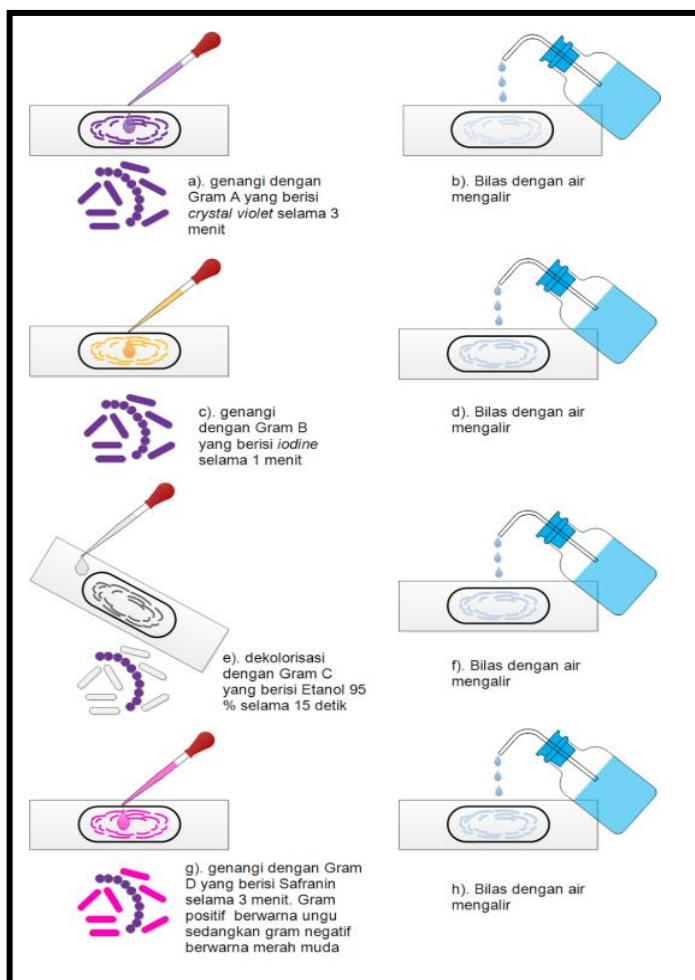
PEWARNAAN PULASAN BAKTERI^{8,9}

Mikroorganisme yang telah di-kultur dalam media kultur, dapat di-identifikasi dengan melihatnya di bawah mikroskop cahaya tanpa pewarnaan atau dengan pewarnaan. Pengamatan tanpa pewarnaan lebih sukar dan tidak dapat dipakai untuk melihat bagian-bagian sel dengan teliti karena sel bakteri lainnya transparan atau semi transparan. Dengan pewarnaan, dapat dilihat struktur sel mikroba lebih seksama. Fungsi pewarnaan adalah :

1. Memberi warna pada sel atau bagian-bagiannya sehingga memberi kontras dan tampak lebih jelas.
2. Dapat untuk menunjukkan bagian-bagian struktur sel.
3. Membedakan mikroba satu dengan yang lain.

4. Menentukan pH dan potensial oksidasi reduksi ekstraseluler dan intraseluler.

Pewarnaan dalam bakteriologi yang sering digunakan adalah pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram merupakan prosedur pengecatan diferensial yang membagi bakteri ke dalam kelompok Gram positif dan Gram negatif. Pengecatan diferensial yaitu pengecatan yang membutuhkan lebih dari satu jenis cat dan digunakan untuk membedakan antara berbagai jenis sel bakteri. Pengecatan diferensial umumnya terdiri dari 3 tahapan yaitu tahap pertama cat utama (*primary stain*) digunakan untuk mewarnai semua sel pada kaca benda. Tahap kedua adalah dekolorisasi (*decolorizing*) digunakan untuk menghilangkan cat pada beberapa jenis sel. Tahap ketiga *counterstain* yang akan mewarnai sel yang catnya hilang selama dekolorisasi tetapi tidak berpengaruh terhadap sel yang masih terwarnai dengan cat utama. Jadi *counterstain* merupakan cat pembanding, sehingga hasil dari pengecatan diferensial akan dihasilkan 2 jenis sel yang warnanya berbeda, yaitu sel yang terwarnai dengan cat utama dan yang terwarnai dengan cat pembanding.

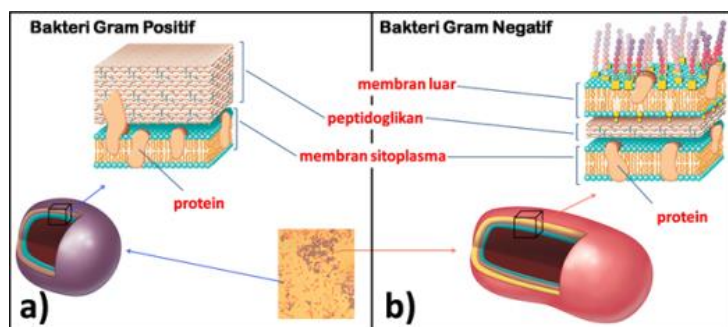


Gambar 11. Prosedur pewarnaan Gram

Prosedur pengecatan Gram diilustrasikan pada Gambar 11. Langkah pertama dalam pengecatan Gram adalah pengecatan dengan cat utama (*primary stain*)

berupa kristal violet yang terdapat pada Gram A, yang akan memberi warna ungu pada semua sel. Dilanjutkan dengan pemberian Gram B yang mengandung iodine dan berfungsi sebagai *mordant* yaitu meningkatkan interaksi antara cat dan sel bakteri sehingga cat akan terikat lebih kuat dengan sel bakteri. Langkah selanjutnya adalah dekolorisasi dengan gram D yang berisi etanol 95 %, bakteri gram positif akan mempertahankan warna dari kompleks kristal violet-iodine ketika dicuci dengan *decolorizer*, sedangkan bakteri gram negatif kehilangan warna dari cat utama. Langkah terakhir adalah pemberian *counterstain* dengan Gram D yang berisi dengan safranin, safranin akan memberi warna merah muda pada sel bakteri gram negatif yang telah kehilangan warna dari cat primer selama dekolorisasi tanpa mengubah warna ungu pada gram positif. Jadi hasil akhir dari pengecatan gram adalah sel bakteri gram positif akan berwarna ungu sedangkan sel bakteri gram negatif berwarna merah muda.

Perbedaan warna hasil dari pengecatan gram disebabkan karena perbedaan dinding sel bakteri (Gambar 12). Dinding pada bakteri gram positif memiliki peptidoglikan lebih tebal dari pada gram negatif, dan memiliki asam teikoik (*teichoic acids*) yang tertanam pada dinding sel, sedangkan gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis dan tidak memiliki asam teikoik, tetapi pada bakteri gram negatif memiliki membran luar (*Outer membrane*) yang terdiri dari lipopolisakarida. Ketebalan lapisan peptidoglikan dan adanya asam teikoik pada bakteri gram positif akan bereaksi dengan kristal violet dan iodine membentuk suatu kompleks yang kuat dan sulit didekolorisasi dengan Gram D. Sebaliknya, pada bakteri gram negatif yang lapisan luar berupa lipopolisakarida tidak membentuk kompleks yang kuat dengan kristal violet dan iodine, akibatnya lipid pada lapisan luar akan larut oleh *decolorizer*, yang akan menyebabkan warna dari cat utama akan larut sehingga dinding sel bakteri gram negatif akan terwarnai pada proses *counterstain* oleh cat pembanding. Hasil dari pengecatan gram adalah sel gram positif akan terwarnai ungu karena terwarnai oleh cat kristal violet atau cat utama dan sel gram negatif akan berwarna merah muda (pink) karena terwarnai oleh safranin yang merupakan *counterstain*.



Gambar 12. Perbedaan struktur dinding sel bakteri

QUALITY CONTROL MEDIA PERTUMBUHAN KUMAN

Quality control adalah seluruh kegiatan yang melibatkan laboratorium dan untuk menjamin hasil uji yang dilakukan, bermutu baik. Pemantapan mutu menyeluruh, mencakup semua tahap kegiatan, mulai dari praanalitik, analitik, sampai pasca analitik.

Sebagian besar laboratorium biasanya menyiapkan media kultur mereka sendiri untuk diagnostik rutin serta tujuan penelitian agar memastikan bahwa media kultur berkualitas baik dan mampu memberikan hasil yang memuaskan, sistem manajemen mutu yang tepat sangat penting. Parameter media tertentu yang disiapkan harus diperiksa secara menyeluruh dan kemudian diteruskan untuk digunakan di laboratorium. Parameter yang perlu diperhatikan antara lain :⁵

1. Parameter sterilisasi

Parameter sterilisasi sangat penting umumnya menggunakan autoklaf. Harus diperhatikan waktu atau lamanya proses sterilisasi dengan autoklaf karena dapat menyebabkan kerusakan *nutrient* oleh karena destruksi atau reaksi antara komponen.

2. Parameter fisik

Parameter fisik dilihat dari penampilan media tidak boleh kotor, karakter fisik dari media tidak terdapat gelembung atau lubang yang berlebihan, pengisian *plate* media yang tidak sama, *plate* media dan pembekuan atau kristalisasi yang retak.

3. Parameter mikrobiologi

Pendukung pertumbuhan karakteristik adalah parameter yang paling penting saat melakukan pengendalian kualitas media. Prosedur baku inokulasi harus digunakan. Hasilnya harus diperiksa secara kualitatif dan kuantitatif dan saat pengujian yang baru, baik *batch* sebelumnya dan *batch* baru harus tumbuh secara bersamaan.

4. Parameter kontaminasi

Parameter yang sangat penting bagi penentuan kualitas media. *Batch* tersebut harus benar-benar diperiksa untuk kontaminasi sebelum digunakan. *Batch* seluruh media diperiksa adanya kontaminasi dengan menjaga *plate* media minimal selama tiga hari pada suhu kamar. *Plate* media dapat diambil dan ditempatkan ke dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi *plate* media diperiksa untuk pertumbuhan kuman jika ada pertumbuhan kuman, proses ini diulang, dengan *batch* yang sama. Jika pencemaran terjadi lagi, maka disimpulkan bahwa kontaminasi telah terjadi di *batch* yang disiapkan.

RANGKUMAN

Media kultur adalah suatu bahan yang terdiri atas campuran nutrisi yang digunakan oleh suatu mikroorganisme untuk tumbuh dan berkembang biak. Media kultur dapat dipergunakan pula untuk isolasi, pengujian sifat fisiologis, dan perhitungan jumlah mikroorganisme. Dalam media kultur harus

mengandung bahan yang dibutuhkan organisme dalam proporsi tertentu. Yang mendasar yaitu harus ada sumber energi, berbagai makro dan mikronutrien, vitamin, dan lain-lain, juga harus memiliki pH yang cocok. Terlebih lagi harus steril, maka organisme yang di-kembang-biak-kan dapat membentuk kultur murni.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sutarma. Kultur Media Bakteri. 2010. Available from: <http://balitnak.litbang.pertanian.go.id/index.php/publikasi/category/65-3?download=986%3A3>. Accessed on 17 Maret 2019.
2. Porang, Sulastrri. Jenis-Jenis Media Dan Macam-Macam Media. Available from : https://www.academia.edu/11974936/JENIS-JENIS_MEDIA_DAN_MACAM-MACAM_MEDIA. Accessed on 17 Maret 2019.
3. Pratiwi, Tya. Media Kultur Mikrobiologi. Available from: <https://www.scribd.com/doc/177087172/Media-Kultur-Mikrobiologi>. Accessed on 17 Maret 2019.
4. Varghese, Navena and P.P Joy. Microbiology Laboratory Manual. Kerala: Kerala Agricultural University; 2014.
5. Hardjoeno H, Esa T, Nurhayana, dkk. Kumpulan Penyakit Infeksi dan Tes Kultur Sensitivitas Kuman serta Upaya Pengendaliannya. Bagian Patologi Klinik FK Unhas. Makassar. 2007.
6. Goering RV, Dockrell HM. Diagnosis of Infection and Assesment of Host Defense Mechanism in Mims' Medical Microbiology, Fourth Edition. Mosby Elsevier. 2008. Philadelphia. p:468-470.
7. Khan, Sanaullah. Culture Media by Shyamal. 2013. Available from: <https://www.scribd.com/document/362918462/Culture-Media-by-Shyamal>. Accessed on 17 Maret 2019.
8. Anonim. Panduan Praktikum Mikrobiologi. Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta. 2016.
9. Wilson, Wildani. Pengecatan Gram. Available from: <https://wildaniwilson.tlm.wordpress.com/2017/08/31/pengecatan-gram/>. Accessed on 20 April 2019.