

# ISOLASI *MYCOBACTERIUM FORTUITUM* 3rd BIOVARIANT COMPLEX DARI SEEKOR KERBAU (*BUBALUS BUBALIS*)

SUPRODJO HARDJOUTOMO, SUTARMA, AGUS EFENDI dan MOCH. SOEROSO  
Balai Penelitian Veteriner, Bogor

(Diterima untuk publikasi 31 Desember 1990)

## ABSTRACT

Hardjoutomo Suprodjo, Sutarma, Agus Efendi and Moch. Soeroso, 1990. *Mycobacterium fortuitum* 3rd biovariant complex isolation from a swamp buffalo (*Bubalus bubalis*). *Penyakit Hewan* 22 (40): 86-89.

This is the first report of the isolation of rapid growing *Mycobacterium* from a bronchial lymphnode of a local swamp buffalo (*Bubalus bubalis*) that had given a positive result to the intradermal tuberculin test. Some characteristics of this *Mycobacterium* were its ability to oxidize ferric ammonium citrate into ferric oxide, to hydrolyse Tween-80 into oleic acid, to utilize manitol and inositol but not the citrate, its capability to release oxygen over 45 mm on the semiquantitative catalase test and resistance of its catalase to heat of 68°C. It was concluded that the acid fast microorganism as a *Mycobacterium fortuitum* 3rd biovariant complex.

**Key words:** *Mycobacterium* isolation, buffalo, bacteriology.

## ABSTRAK

Hardjoutomo Suprodjo, Sutarma, Agus Efendi dan Moch. Soeroso, 1990. Isolasi *Mycobacterium fortuitum* 3rd biovariant complex dari seekor kerbau (*Bubalus bubalis*). *Penyakit Hewan* 22 (40): 86-89.

Pada uji tuberkulin intradermal pada kerbau-kerbau milik Disiplin Parasitologi Balai Penelitian Veteriner, Bogor ditemukan salah seekor diantaranya menunjukkan reaksi positif. Dari organ kelenjar getah bening bronkialis hewan reaktor tersebut berhasil diisolasi kuman tahan asam dari genus *Mycobacterium* yang tumbuh cepat dan memiliki sifat-sifat: mampu mengubah besi amonium sitrat pada medium menjadi besi oksida, mampu menghidrolisa manitol dan inositol tetapi tidak terhadap sitrat. Sifat-sifat yang lain adalah kemampuannya menghasilkan gelembung oksigen dalam tabung reaksi melebihi tinggi 45 mm pada uji katalase semi kuantitatif dan kandungan enzim katalasenya yang mampu bertahan pada suhu pemanasan 68°C. Isolat *Mycobacterium* yang diidentifikasi sebagai *Mycobacterium fortuitum* 3rd biovariant complex ini merupakan bakteri tahan asam pertama yang dilaporkan menginfeksi kerbau lokal (*Bubalus bubalis*) di Indonesia.

**Kata-kata kunci:** Isolasi *Mycobacterium*, kerbau, bakteriologi.

## PENDAHULUAN

*Mycobacterium fortuitum* biovariant complex merupakan salah satu sub spesies dari *M. fortuitum* dan menempati kelompok ketiga dari *Mycobacterium* ini, yang nama lengkapnya adalah *M. fortuitum* 3rd biovariant complex (Kent and Kubica, 1985) atau dikenal juga dengan sebutan *M. fortuitum* C (Collins *et al.*, 1985).

*M. fortuitum* termasuk kedalam kelompok mikobakteria yang cepat tumbuhnya (Hardjoutomo dan Sutarma, 1990), berarti bahwa dalam waktu 3 hari inkubasi *M. fortuitum* akan tumbuh subur pada media Lowenstein-Jensen dan Stonebrink's; koloninya dapat halus (smooth) atau kasar (rough) dan berwarna kuning tua. Mikobakteria ini tumbuh subur pada suhu kamar, namun tidak akan tumbuh pada suhu 45°C. Sel-sel *M. fortuitum* memiliki ukuran panjang

antara 2-3 um dan lebar 0.5 um; tampak beberapa sel bentuknya lebih gemuk dan mengambil zat warna yang merata. *M. fortuitum* C tumbuh pada media agar nutrisi, agar darah dan media Lowenstein-Jensen yang mengandung 5% NaCl. Pada media agar Mac-Conkey tanpa kristal violet koloninya berwarna merah dan mereduksi nitrat maupun telurit. Uji katalase, uji sulfatase dan uji urease semuanya memberi hasil positif, sedangkan uji pigmen dan uji niasin berakhir negatif.

*M. fortuitum* merupakan mikobakteria patogen oportunistik dapat menginfeksi luka dangkal, juga dapat menyerang organ paru-paru penderita. Tidak mengherankan bila dalam bidang kedokteran *M. fortuitum* menempati posisi yang serius terutama dalam bedah-cangkok yang dapat mengakibatkan dialisis peritonial. Dalam keadaan normal mikobakteria ini terdapat dalam tanah (Collins *et al.*, 1985).

## BAHAN DAN CARA

Spesimen berupa kelenjar getah bening bronkialis (Igl bronchialis) yang terlihat agak bengkak dari ekor kerbau No. 08 milik Disiplin Parasitologi Balai Penelitian Veteriner (BALITVET) Bogor yang memberikan hasil positif pada uji tuberkulin, sewaktu hewan yang bersangkutan masih hidup. Uji intradermal menggunakan PPD buatan Commonwealth Serum Laboratory (CSL) Australia memberikan kebengkakan kulit setebal 12.2 mm (1 + pos = 5-15 mm sesuai dengan kriteria oleh Lepper *et al.*, 1977). Pada autopsi kerbau No.08 tersebut dinyatakan sebagai penderita tuberkulosis tetapi dengan lesi yang tidak kentara (Non-visible lesion, NVL). Selanjutnya spesimen diproses menurut cara Corner (1989), sedang uji-biokimia yang dipakai adalah uji katalase semi kuantitatif dan uji katalase tahan panas serta uji pengambilan unsur besi (iron uptake) menurut Kent and Kubica (1985). Selain itu uji arilsulfatase, uji niasin, uji pigmen, uji reduksi nitrat, uji reduksi telurit, uji hidrolisa Tween 80 dan uji urease menurut Hardjotomo dan Sutarma (1990).

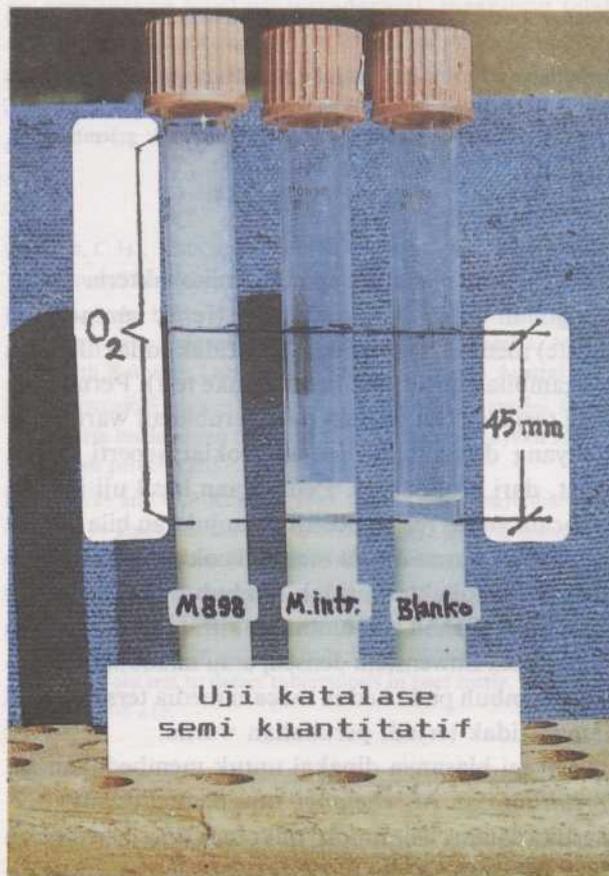
## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan pada media agar MacConkey tanpa kristal violet merupakan salah satu hal yang penting dalam pemisahan taksonomi suatu kuman tahan asam (KTA) yang bertumbuh cepat. *Mycobacterium* yang patogen dan bertumbuh cepat, dalam hal ini *M. fortuitum* kompleks, lazimnya tumbuh pada media agar MacConkey tanpa kristal violet, akan memperlihatkan warna koloni merah dalam waktu inkubasi 5-11 hari. Sedangkan spesies *Mycobacteria* yang saprofit pada umumnya akan dihambat pertumbuhannya oleh media ini (Kent and Kubica, 1985). Hasil menunjukkan bahwa koloni dari isolat kerbau yang diamati berubah menjadi merah dalam waktu inkubasi 5 hari saja. Untuk selanjutnya, isolat dari kerbau ini diberi nama **Isolat M.898**.

Katalase adalah enzim yang mudah larut dan mudah menguraikan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) menjadi oksigen ( $O_2$ ) dan air ( $H_2O$ ). Gelembung oksigen yang terjadi dari hasil reaksi ini memberi petunjuk ada aktivitas dari enzim katalase ini. Hampir semua mikobakteri mengandung enzim katalase tadi, terkecuali *M. tuberculosis* dan *M. bovis* yang resisten terhadap obat isoniazid (Kent and Kubica, 1985). Penelitian telah menunjukkan bahwa katalase yang dimiliki mikobakteria mempunyai beberapa sifat. Perbedaan derajat keak-

tifan enzim katalase tersebut dapat ditunjukkan melalui uji katalase semi kuantitatif, sedangkan perbedaan katalase yang tahan panas (heat stable) dapat dilakukan dengan pemanasan pada suhu  $68^\circ C$ . Atas dasar ini terdapat 4 kriteria pembacaan uji katalase yaitu: katalase negatif, menghasilkan gelembung oksigen kurang dari 45 mm dalam uji semikuantitatif, menghasilkan gelembung oksigen lebih dari 45 mm dalam uji semikuantitatif, keaktifan enzim tetap bertahan meskipun dipanaskan pada suhu  $68^\circ C$ .

Pada Gambar 1 terlihat isolat dari kerbau yang diamati (M.898) menghasilkan enzim katalase yang dapat melepaskan gelembung oksigen lebih dari 45 mm (tabung paling kiri dalam Gambar 1). Sedangkan Gambar 2 memperlihatkan enzim katalase dari isolat M.898 yang tahan terhadap pemanasan pada suhu  $68^\circ C$  (Tabung paling kiri dalam Gambar 2).



Gambar 1. Uji Katalase semi kuantitatif Cara Kent and Kubica (1985)

Perhatikan : Isolat M.898 menghasilkan gelembung  $O_2$  yang jauh lebih tinggi dari kolom 45 mm (tabung paling kiri dalam Gambar 1)



Gambar 2. Uji Katalase tahan panas Cara Kent and Kubica (1985)

**Perhatikan** : Enzim katalase yang dihasilkan oleh isolat M.898 ternyata tahan terhadap pemanasan pada suhu 68°C (tabung paling kiri pada Gambar 2: gelembung O<sub>2</sub> tetap dihasilkan dengan giat).

Untuk mengetahui apakah mikobakteria dapat mengubah besi amonium sitrat (ferric ammonium citrate) menjadi besi oksida atau tidak, dilakukan uji pengambilan unsur besi (iron uptake test). Perubahan yang terjadi akan terlihat dari perubahan warna media yang digunakan menjadi coklat seperti warna karat, dari besi oksida. Pembacaan hasil uji ini ada 2 macam yaitu: reaksi positif ditunjukkan bila terjadi perubahan warna media menjadi coklat, reaksi negatif, bila mikobakteria tidak tumbuh pada media dengan penambahan besi amonium sitrat, tetapi tumbuh pada media Lowenstein-Jensen, atau mikobakteria tersebut tumbuh pada kedua macam media tersebut tadi namun tidak terjadi perubahan warna.

Uji ini biasanya dipakai untuk membedakan *M. fortuitum* dan *M. chelonae* yang kedua-duanya termasuk dalam kelompok mikobakteria bertumbuh cepat (Kent and Kubica, 1985). Isolat kerbau yang diamati (M.898) ternyata dapat mengubah besi amonium sitrat menjadi besi oksida yang berwarna coklat (Gambar 3).

Hidrolisa Tween-80 didasarkan atas kemampuan mikobakteria mengubah polyoxyethylene sorbitan mono oleate (Tween-80) menjadi asam oleat. Semen-



Gambar 3. Uji pengambilan unsur besi Cara Kent and Kubica (1985)

**Perhatikan** : Isolat M.898 memberi hasil positif pada uji pengambilan unsur besi (iron uptake test). Perhatikan warna media yang berubah menjadi coklat karena terjadinya besi oksida.

taru itu hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat *M. fortuitum* yang dapat menghidrolisa Tween-80, tetapi ada juga yang tidak dapat menghidrolisa bahan tersebut (Kent and Kubica, 1985). Isolat M.898 yang diamati ternyata termasuk kedalam kelompok *M. fortuitum* yang dapat menghidrolisa Tween-80.

Natrium sitrat, manitol dan inositol adalah bahan-bahan kimia yang dipakai sebagai sumber karbon dan digunakan untuk mengidentifikasi mikobakteria yang bertumbuh cepat. Dalam Tabel 2 terlihat bahwa uji yang membedakan ketiga kelompok *M. fortuitum* kompleks adalah kemampuan mikroorganisme yang bersangkutan dalam menggunakan dan menghidrolisa sitrat, manitol dan inositol. Isolat M.898 yang diamati ternyata dapat menghidrolisa manitol dan inositol akan tetapi tidak terhadap sitrat.

Dari hasil uji biokimiawi (Tabel 1) dapat disimpulkan bahwa isolat M.898 yang diamati termasuk kedalam *M. fortuitum*. Selanjutnya, setelah dilakukan pengujian berikutnya (Tabel 2) maka isolat M.898 adalah *M. fortuitum* 3rd biovariant complex, atau dikenal pula sebagai *M. fortuitum* C. Hasil pengamatan ini merupakan laporan pertama di Indonesia tentang kerbau lokal yang terinfeksi oleh *Mycobacterium*

Tabel 1. Uji biokimia isolat *Mycobacterium* dari seekor kerbau

Spesies	Morfologi koloni	Pertumbuhan pada			Sifat pertumbuhan	Pigmen	Katalase		AS 3 hari	Pengambilan unsur besi	Pertumbuhan pada agar MacConkey	Niasin	Reduksi nitrat	Pertumbuhan pada 5%NaCl	Reduksi telurit	Hidrolisa Tween-80 (10 hari)	Urease
		31°C	37°C	45°C			an	semi kuan > 45 mm									
Isolat M.898	Halus	+	+	-	R	-	>45	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
<i>M. fortuitum</i> *	Halus	+	+	-	R	-	>45	+	+	+	+	-	+	+	+	d	+

Keterangan: R = rapid/cepat  
AS = arilsulfatase  
+ = positif  
- = negatif  
d = separuh galur pos, separuh yang lain neg  
\* = menurut Kent and Kubica (1985).

Tabel 2. Uji penggunaan sumber karbon

Spesies	Citrate (28°C)	Manitol (28°C)	Inositol (28°C)
<i>M. fortuitum biovar fortuitum</i> *	-	-	-
<i>M. fortuitum biovar peregrinum</i> *	-	+	-
<i>M. fortuitum</i> 3rd biovariant complex*	-	+	+
Isolat M.898	-	+	+

Keterangan: \* (Kent and Kubica, 1985)

*fortuitum* C. Dengan berhasil diidentifikasi *M. fortuitum* C yang merupakan salah satu *Mycobacterium* yang patogen oportunistis dari kasus tuberkulosis-NVL ini menjadi bukti bahwa selain *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium* lain dapat menimbulkan reaksi alergi pada hewan yang diinokulasi secara intradermal dengan tuberkulin PPD bovin (single caudal fold test) waktu masih hidup dan memberikan penafsiran positif pada pembacaan uji 72 jam pasca inokulasi.

Kejadian seperti ini diperkirakan dapat mengganggu pembacaan hasil uji intradermal, meskipun telah digunakan tuberkulin murni (purified protein derivative) yang telah distandardisasikan.

DAFTAR PUSTAKA

COLLINS, C.H., J.M GRANGE and M.D YATES. 1985. Organisation and practice in tuberculosis bacteriology. *Butterworths*, London.  
CORNER, L.A. 1989. Bovin tuberculosis: Standard necropsy and laboratory techniques CSIRO division of animal health. Animal Health Research Laboratory Parkville, Victoria Australia.  
HARDJOUTOMO S. dan SUTARMA. 1990. Identifikasi spesies *Mycobacteria* berdasarkan hasil reaksi uji biokimia. Penyakit Hewan (dalam percetakan).  
KENT, P.T. and G.P KUBICA. 1985. Public health mycobacteriology. A guide for the level III laboratory. US Department of Health and Human Services. Atlanta Georgia.  
LEPPER A.W.D., D.A. NEWTON-TABBRETT, L.A. CORNER, M.T. CARPENTER, W.A. SCANLAN, O.J. WILLIAMS and D.M. HELWIG. 1977 The use of bovine PPD tuberculin in the single caudal fold test to detect tuberculosis in beef cattle, *Aust. Vet. J.* 53: 208-213.