

**Pertumbuhan *Candida sp* dan *Aspergillus sp*
dari Bilasan Bronkus Penderita Tuberkulosis Paru pada Media Bekatul**

Mujahidah Basarang dan Muh. Rifo Rianto

Akademi Analis Kesehatan Muhammadiyah Makassar
email: mujahidahbasarang@yahoo.com

Abstrak

Penyakit tuberkulosis paru yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* merupakan masalah kesehatan di Indonesia. Sifat kronis penyakit ini semakin memburuk jika disertai dengan infeksi jamur, yang biasanya tidak terdiagnosis dan tidak diobati. Teknik kultur dapat dilakukan untuk mengidentifikasi *Candida sp* dan *Aspergillus sp* dari bilasan bronkus. Pemiakan jamur di laboratorium memerlukan media yang mengandung nutrisi seperti sumber karbohidrat dan sumber nitrogen untuk pertumbuhan. Nutrien ini dapat ditemukan pada bekatul yang mengandung karbohidrat tinggi, protein, lemak, vitamin, dan serat kasar. Sehingga bekatul dapat dijadikan bahan baku media pertumbuhan alternatif jamur. Tujuan penelitian ini adalah untuk memanfaatkan bekatul sebagai media pertumbuhan *Candida sp* dan *Aspergillus sp* yang diisolasi dari bilasan bronkus penderita TB paru. Penelitian ini meliputi pengumpulan bekatul, pembuatan media bekatul, inokulasi sampel dari bronkoskopi pada media bekatul, pengamatan pertumbuhan jamur. Koloni *Candida sp* dan *Aspergillus sp* dikonfirmasi melalui pengamatan mikroskop. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Candida sp* dan *Aspergillus sp* tumbuh pada kedua media, yaitu Bekatul Dextrose Agar (BDA) dan pada media Potato Dextrose Agar (PDA) dengan pH media 5,6 dan pada suhu 35°C. Kesimpulan penelitian ini adalah bekatul dapat dimanfaatkan sebagai media pertumbuhan jamur. Media bekatul dapat dijadikan media alternatif pengganti media sintetik untuk menumbuhkan *Candida sp* dan *Aspergillus sp* yang diisolasi dari bilasan bronkus.

Kata kunci: Media bekatul, *Candida sp*, *Aspergillus sp*

***Growth of Candida sp and Aspergillus sp from Bronchoscopy
Pulmonary Tuberculosis Patients on Bran Media***

Abstract

Pulmonary tuberculosis caused by *Mycobacterium tuberculosis* become a health problem in Indonesia. The chronic nature of this disease is further exacerbated if it is accompanied by fungal infection such as *Candida albicans* and *Aspergillus sp.*, which is usually remains undiagnosed and thus untreated. Culture techniques can be used to identify *Candida sp* and *Aspergillus sp* from bronchoscopy. Fungal culture media in laboratory containing high carbohydrate source, nitrogen source are required for the growth. This nutrient can be found in bran that contains high carbohydrates, proteins, fats, vitamins, and crude fiber. So that bran can be used as raw material for

alternative fungal growth media. The purpose of this study was to increase bran as a medium for the growth of Candida sp and Aspergillus sp isolated from bronchoscopy of pulmonary TB patients. This study included bran collection, preparation of bran media, inoculation bronchoscopy on bran media, observation of fungal growth. Colonies of Candida sp and Aspergillus sp were confirmed microscopically. The results showed that Candida sp and Aspergillus sp grew on both media, Bekatul Dextrose Agar and Potato Dextrose Agar. The conclusion of this study is that bran can be used as a medium for fungal growth. Bran media can be used as an alternative media to replace synthetic media to grow Candida sp and Aspergillus sp isolated from bronchial rinses.

Keywords: Dose, Bran Media, Candida sp, Aspergillus sp

PENDAHULUAN

Tuberkulosis (TB) masih menjadi masalah utama kesehatan di Indonesia. Berdasarkan laporan WHO 2016 adalah 360.565 kasus (WHO, 2017) dan pada tahun 2017 diperkirakan sebanyak 420.000 kasus (Kemenkes, 2018). Sifat kronis penyakit ini semakin memburuk jika disertai dengan infeksi jamur oportunistik. Jamur oportunistik ini adalah patogen potensial pada pasien immunokompromais, yaitu pasien dengan beberapa penyakit yang sudah ada sebelumnya dan pasien dengan terapi antibiotik jangka panjang seperti penderita TB. Hal ini disebabkan karena menurunnya sistem kekebalan tubuh yang memicu pertumbuhan jamur dan memperburuk jaringan paru-paru (Astekar, 2016). Gejala umum infeksi jamur paru sama dengan infeksi tuberkulosis ataupun dengan mikroba lainnya. Mikosis paru sering tidak terdiagnosis karena gejala klinis yang tidak spesifik berupa batuk kronik sering dianggap sebagai gejala TB Paru (Amiri, 2017).

Jamur patogen yang sering ditemukan sebagai koinfeksi pada penderita TB paru adalah *Candida sp* dan *Aspergillus sp*. Astekar (2016) menemukan prevalensi pertumbuhan jamur dari 60 sputum pasien TB paru di India adalah 33 (55%) *Candida* dari spesies *C. albicans*, *C. tropicalis* dan *C. krusei* serta 3 (5%) *Aspergillus*. Sedangkan penelitian Widyanti, et.al. (2016) menyatakan bahwa 30 (100%) sampel bilasan bronkus dan bilasan lambung penderita TB paru positif *Candida albicans*, 5 diantaranya positif *Aspergillus sp*.

Untuk mengidentifikasi *Candida sp* dan *Aspergillus sp* dari bilasan bronkus penderita tuberkulosis paru dapat dilakukan dengan teknik kultivasi atau teknik pembiakan jamur. Pembiakan jamur atau mikroorganisme secara umum di laboratorium dilakukan untuk mempelajari sifat-sifat pertumbuhan yang dimiliki oleh mikroorganisme. Pembiakan ini memerlukan media pertumbuhan yang mengandung nutrien. Pertumbuhan jamur dicirikan dengan sintesis komponen protoplasma yang khas dan berimbang dari nutrien yang terdapat di lingkungannya. Nutrisi digunakan untuk pertumbuhan, sintesis sel, keperluan energi dalam metabolisme dan pergerakan. Nutrisi yang dibutuhkan mikroorganisme untuk pertumbuhan meliputi karbon, nitrogen, unsur non logam seperti sulfur dan fosfor, unsur logam seperti Ca, Zn, Na, K, Cu, Mn, Mg, dan Fe, vitamin, air, dan energi (Cappucino, 2014). Nutrisi akan saling menunjang dengan faktor lingkungan pertumbuhan yang sesuai bagi mikroorganisme untuk dapat bertumbuh dengan optimal.

Media pertumbuhan ini secara kimiawi dibedakan menjadi dua, yaitu media sintetis dan media nonsintetis. Media sintetis memiliki kandungan yang diketahui secara terperinci, yaitu senyawa organik dan inorganik ditambahkan harus murni, sehingga harganya seringkali mahal. Media sintetis

yang digunakan di laboratorium untuk pertumbuhan jamur adalah media selektif seperti *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) atau *Potato dextrose Agar* (PDA). Media ini mendukung pertumbuhan jamur karena keasamannya rendah (pH 4,5-5,6) sehingga menghambat pertumbuhan bakteri (Cappucino, 2013). Sedangkan media nonsintetik menggunakan bahan-bahan yang terdapat di alam. Bahan-bahan ini seringkali tidak diketahui kandungan kimianya secara rinci tapi sering digunakan di laboratorium karena mudah disiapkan dan harganya murah. Penelitian Mikrobiologi seringkali terkendala pada media yang harganya mahal dan susah didapatkan khususnya pada negara berkembang. Oleh karena itu dibutuhkan media dengan formulasi baru yang mudah didapatkan dan harga lebih murah dibandingkan media sintetik seperti SDA atau PDA. Beberapa penelitian yang menggunakan bahan alam sebagai media alternatif seperti pati singkong (Kwoseh et.al, 2012), kacang tunggak, kacang hijau, kacang soya hitam, dan kedelei (Ravimannan et.al, 2014), ganyong, gembili dan garut (Aini dan Rahayu, 2015), sereal, kacang-kacangan (Uthayasooriyan, et.al., 2016) dan bekatul (Basarang, et.al., 2016).

Bekatul adalah bahan alam yang merupakan limbah halus yang diperoleh dari proses penggilingan gabah padi. Proses penggilingan gabah padi menghasilkan beras sebanyak 60-65%. Sedangkan sisanya adalah limbah, salah satunya bekatul. Kegiatan penyosohan beras bisa mengikis 7,5% dari bobot beras awal. Tujuh setengah persen tersebut berupa bekatul yang memiliki kadar selulosa dan hemiselulosa yang paling tinggi dibandingkan dengan berasnya itu sendiri (Nursalim dan Razali, 2007). Bekatul mempunyai sumber karbon dan nitrogen kompleks. Bekatul mempunyai kandungan vitamin B yang merupakan faktor penting untuk pertumbuhan jamur. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa bekatul dapat dimanfaatkan sebagai media untuk pertumbuhan jamur penghasil enzim, seperti *Aspergillus niger*, *Rhizopus* sp, dan *Mucor* sp. Dengan kata lain, bekatul dapat digunakan sebagai substrat untuk menghasilkan enzim. Jenis enzim yang dihasilkan tergantung pada media dan kondisi lingkungan (Satyawiharja 1984 dalam Dewi et al, 2005).

Pemanfaatan bekatul sebagai media pertumbuhan mikroorganisme didasarkan pada kandungan komponen-komponen nutrisi yang dibutuhkan mikroorganisme. Bekatul mengandung karbohidrat tinggi, protein, lemak, vitamin, dan serat kasar (Houston 1972 dalam Dewi et al, 2005). Hal ini sesuai yang dijelaskan oleh Basu et al (2015) bahwa media pertumbuhan jamur harus mengandung sumber karbohidrat tinggi dan sumber nitrogen. Pengayaan media dengan penambahan glukosa (karbohidrat) akan memberikan peluang bagi khamir yang kurang tumbuh subur pada media akan tumbuh lebih baik. Molekul sederhana seperti glukosa akan langsung diserap oleh hifa. Oleh karena itu dibutuhkan modifikasi media dengan penambahan glukosa pada bekatul agar untuk mengoptimalkan pertumbuhan jamur. Menurut Leepel (2012) penambahan glukosa dalam medium SDB (*Sabouraud Dextrose Broth*) dapat mempengaruhi pertumbuhan *C. albicans*. Pada *C. albicans* isolat klinik penambahan glukosa 5% dan 10% selama 7 hari menyebabkan peningkatan pertumbuhan yang signifikan. Hal ini sejalan dengan penelitian Basarang (2018) bahwa pertumbuhan *Aspergillus niger* pada media Bekatul Dextrose Agar (BDA) dan media Potato Dextrose Agar tidak berbeda nyata ($p>0,05$). Sedangkan *Candida albicans* pada media BDA adalah $8,5 \times 10^5$ CFU dan $8,9 \times 10^5$ CFU.

Berdasarkan uraian di atas, maka dilakukan penelitian pemanfaatan bekatul sebagai bahan baku pembuatan media bekatul dextrosa agar untuk mengidentifikasi *Candida* sp dan *Aspergillus* sp pada bilasan bronkus penderita tuberkulosis paru.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah cawan petri, autoklaf, *incubator*, *hot plate*, timbangan digital, labu *erlenmeyer*, gelas ukur, beker gelas, tabung reaksi, batang pengaduk, sendok tanduk, *nall/ose*, corong, plastik klip, plastik tahan panas, tabung eppendorf, pipet mikro, kain saring saring, aluminium foil, ose bulat, ose lurus, swab steril, kapas, kaca preparat, pipet tetes, lampu spritus, ayakan, mikroskop dan alat tulis.

Bahan yang digunakan adalah bekatul, aquades, bilasan bronkus penderita TB paru, agar, dextrosa, kloramfenikol, NaCl, alkohol 70%, spritus, kapas, *Potato Dextrosa Agar*, kristal violet, lugol, alkohol 96%, karbol fuchsin, lactophenol cotton blue, dan minyak emersi.

Prosedur Penelitian

Penyiapan media bekatul mengikuti prosedur penyiapan media *Potato Dextrosa Agar* yang ditentukan oleh *Food and Drug Administration (2017)*. Bekatul dikumpulkan dari pabrik penggilingan padi diayak. Bekatul ditambahkan 1000 mL aquades kemudian dididihkan. Bekatul disaring ke dalam labu *Erlenmeyer* kemudian ditambahkan agar, dextrosa dan aquades sampai tanda 1000 mL. Media bekatul dextrose agar (BDA) dipanaskan di atas *hot plate* sampai larut sempurna. Diukur pH $5,6 \pm 2$. Mulut labu *Erlenmeyer* disumbat dengan kapas dan aluminium foil kemudian disterilkan menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C . Setelah proses sterilisasi selesai, media dikeluarkan dari autoklaf. BDA dibiarkan sampai suhu $45-50^{\circ}\text{C}$ kemudian ditambahkan kloramfenikol untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Media BDA dituang ke dalam cawan petri steril sebanyak 15-20 mL dan dibiarkan memadat.

Ditimbang PDA sebanyak 39 gram kemudian dimasukkan ke dalam labu *Erlenmeyer*, ditambahkan 1000 mL aquades steril. Diukur pH $5,6 \pm 2$. Media dipanaskan menggunakan *hot plate* sampai larut dengan sempurna. PDA kemudian disterilisasi di dalam autoklaf selama 15 menit, pada suhu 121°C , dengan tekanan 1-2 atm. Setelah proses sterilisasi selesai, media dikeluarkan dari autoklaf, media didinginkan sampai suhu $45-50^{\circ}\text{C}$. Ditambahkan kloramfenikol untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Media PDA dituang ke dalam cawan petri steril sebanyak 15-20 mL dan dibiarkan memadat.

Bilasan bronkus dikumpulkan dari Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Umum Pusat Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar, kemudian dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi Akademi Analisis Kesehatan Muhammadiyah Makassar untuk dikultur pada media bekatul dan *Potato Dextrosa Agar*. Bilasan bronkus diencerkan menggunakan NaCl 0.9% dengan pengenceran bertingkat sampai pengenceran 10^{-5} . Sebanyak 0,1 mL tiap pengenceran diinokulasikan pada cawan petri berisi media BDA dan PDA yang diberi label 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , dan 10^{-5} (Cappucino dan Sherman, 2013).

Kontrol positif menggunakan isolat *Candida albicans* dan *Aspergillus niger* pada media PDA. *Candida albicans* diinokulasikan pada masing-masing media bekatul dan PDA menggunakan teknik gores. Sedangkan *Aspergillus niger* juga diinokulasikan pada media BDA dan PDA. Inkubasi pada suhu 35°C selama 2-7 hari. Pertumbuhan koloni diamati kemudian dilakukan pengamatan mikroskopik untuk mengamati morfologi keduanya.

Pertumbuhan jamur pada masing-masing cawan petri diamati bentuk dan warna koloni. Koloni *Aspergillus sp* yang tumbuh diamati secara mikroskopis menggunakan preparat basah. Dengan hati-

hati koloni diletakkan di tengah kaca objek yang telah digenangi lactophenol cotton blue. Amati di bawah mikroskop dengan pembesaran 10x40 (Lay, 1994). Identifikasi *Candida sp* dapat dilakukan dengan teknik pewarnaan Gram dan amati di bawah mikroskop pada perbesaran 10x100 (Cappucino dan Sherman, 2013).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jamur seperti *Candida sp* dan *Aspergillus sp* sering ditemukan sebagai penyebab infeksi sekunder pada penderita tuberkulosis paru. Untuk mengidentifikasi jamur tersebut dapat dilakukan dengan teknik kultur atau pembiakan di laboratorium. Salah satu media alternatif yang dapat digunakan adalah media bekatul dextrose agar (BDA) Adapun hasil pengamatan pertumbuhan *Candida sp* dan *Aspergillus sp* ditunjukkan pada tabel berikut.

Tabel 1. Pertumbuhan *Candida sp* dan *Aspergillus sp* dari Bilasan Bronkus Penderita Tuberkulosis Paru pada Media *Bekatul Dextrosa Agar* (BDA) dan *Potato Dextrosa Agar* PDA

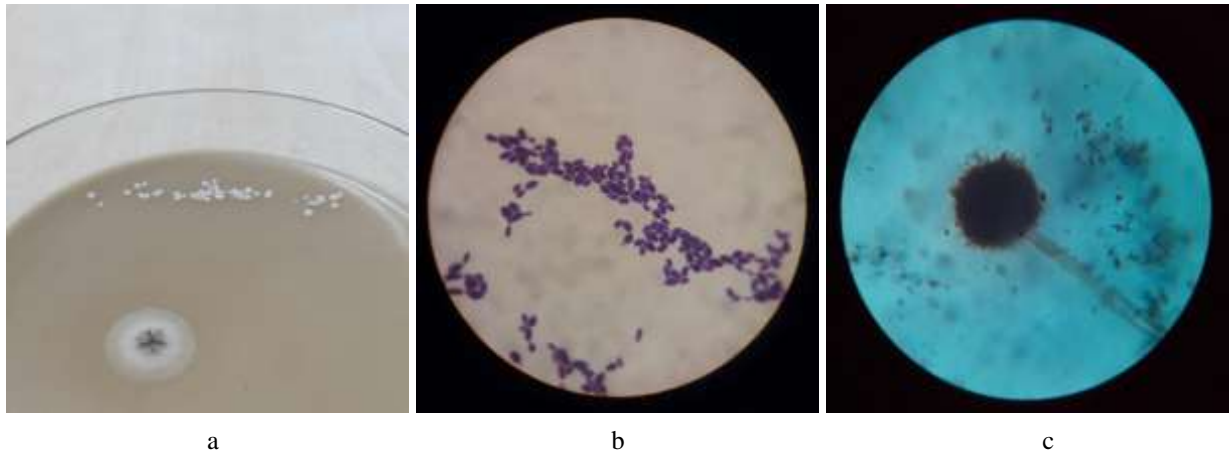
Sampel	Media Pertumbuhan		Keterangan
	BDA	PDA	
BB01	Negatif	Negatif	-
BB02	Negatif	Negatif	-
BB03	Negatif	Negatif	-
BB04	Negatif	Negatif	-
BB05	Negatif	Negatif	-
BB06	Negatif	Negatif	-
BB07	Negatif	Negatif	-
BB08	Negatif	Negatif	-
BB09	Negatif	Negatif	-
BB10	Negatif	Negatif	-
BB11	Negatif	Negatif	-
BB12	Negatif	Negatif	-
BB13	Negatif	Negatif	-
BB14	Negatif	Negatif	-
BB15	Negatif	Negatif	-
BB16	Positif	Positif	<i>Candida sp</i>
BB17	Positif	Positif	<i>Candida sp</i> dan <i>Aspergillus sp</i>
BB18	Negatif	Negatif	-
K + (<i>Candida albicans</i>)	Positif	Positif	-
K + (<i>Aspergillus niger</i>)	Positif	Positif	-

Keterangan:

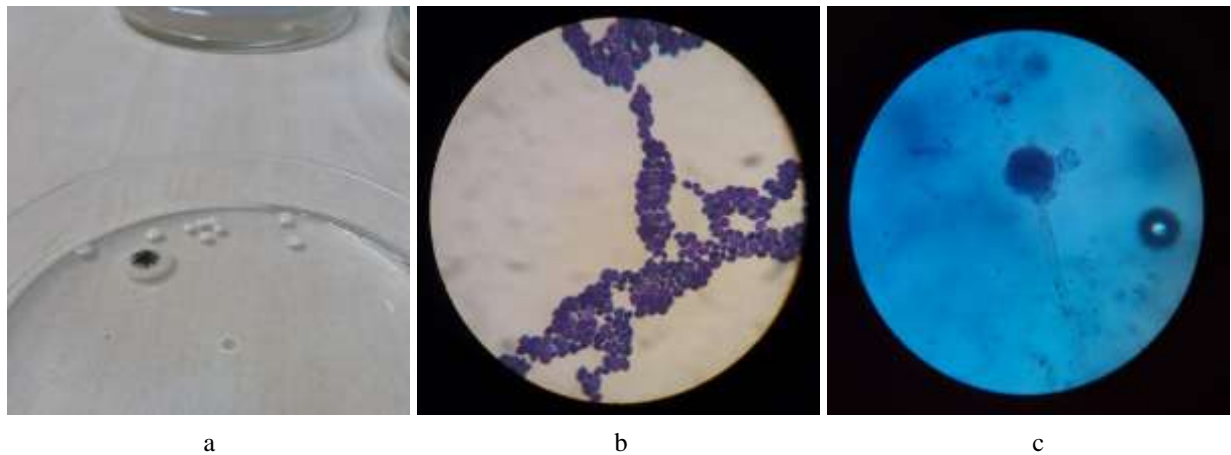
Negatif = Tidak Terdapat Pertumbuhan pada Media

Positif = Terdapat Pertumbuhan pada Media

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Candida sp* dan *Aspergillus sp* yang terdapat pada bilasan bronkus dapat tumbuh pada media BDA dan media PDA. Seperti halnya dengan kontrol positif yaitu *Candida albicans* dan *Aspergillus niger* tumbuh pada media BDA dan PDA.



Gambar 1. Pertumbuhan *Candida sp* dan *Aspergillus sp* pada media bekatul. a) Koloni *Candida sp*. b) Koloni *Aspergillus sp*. c) Morfologi *Candida sp*. d) Morfologi *Aspergillus sp*.



Gambar 2. Pertumbuhan *Candida sp* dan *Aspergillus sp* pada media PDA. a) Koloni *Candida sp*. b) Koloni *Aspergillus sp*. c) Morfologi *Candida sp*. d) Morfologi *Aspergillus sp*.

Koloni *Candida sp* tumbuh pada BDA dan PDA setelah inkubasi 24 jam tampak berwarna putih, halus, licin, ukuran koloni dari kecil sampai ukuran besar dan berbau ragi. Pada pengamatan mikroskop ditemukan bentuk bulat sampai oval dan tunas spora (*budding* blastokonidia). Sedangkan *Aspergillus sp* pada media BDA dan PDA menunjukkan hifa berwarna putih dan konidia yang mulai terlihat setelah masa inkubasi 48 jam. Konidia yang berwarna coklat gelap sampai hitam terlihat menutupi hifa yang berwarna putih. Koloni jamur yang tumbuh dikonfirmasi melalui pengamatan mikroskopik seperti terlihat pada gambar (5.1 dan 5.2). Hasil pengamatan ini menunjukkan bahwa *Candida sp* dan *Aspergillus sp* yang tumbuh di media PDA juga dapat tumbuh pada media BDA. Menurut Ganjar (2006) dalam Aini dan Rahayu (2015), salah satu parameter pertumbuhan adalah pertambahan volume sel yang bersifat irreversibel artinya tidak dapat ke volume semula. Pada umumnya suatu koloni berasal dari satu sel yang semula tidak terlihat menjadi terlihat yaitu dari spora atau konidia jamur menjadi miselium atau koloni.

Pertumbuhan jamur pada media karena tercukupinya sumber karbon dan protein dalam media bekatul dextrose agar (BDA). Nutrien berupa unsur-unsur atau senyawa kimia dari lingkungan digunakan sel sebagai konstituen kimia penyusun sel. Menurut Basu, et.al. (2015), jamur akan tumbuh

optimal pada media dengan sumber karbohidrat dan nitrogen yang tinggi. Media bekatul agar menggunakan bekatul sebagai sumber nutrisi bagi jamur karena mengandung karbohidrat (84,36%) dan protein (8,77%) (Nursalim dan Razali, 2007). Nutrien dalam media pertumbuhan harus mengandung semua unsur yang diperlukan untuk sintesis biologis organisme-organisme baru (Brooks, et al., 2012).

Selain tercukupinya nutrien, pertumbuhan dan perkembangan jamur juga membutuhkan faktor-faktor lingkungan yang sesuai, seperti pH dan suhu. Pada penelitian ini pH media sekitar 5,6 dan diinkubasi pada suhu 35°C. Cappucino dan Sherman (2013) mengatakan bahwa media pertumbuhan jamur membutuhkan keasamannya rendah (pH 4,5-5,6). Beberapa enzim, sistem transpor elektron dan sistem transpor nutrien yang berada di membran sel sangat sensitif (peka) terhadap konsentrasi ion hidrogen (H^+). Hal ini dapat mempengaruhi struktur tiga dimensi protein pada umumnya, termasuk enzim-enzim pertumbuhan (Ali, 2005). Fungi mesofilik tumbuh paling baik pada suhu 30-37°C (Brook, et al., 2012). Pada suhu optimum, reaksi kimiawi dan enzimatis dalam sel berlangsung lebih cepat sehingga pertumbuhan meningkat lebih cepat pula. Akan tetapi di atas suhu tertentu, protein, asam nukleat dan komponen-komponen sel lainnya mengalami kerusakan permanen. Selanjutnya bila terjadi kenaikan suhu pada kisaran tertentu, pertumbuhan dan fungsi metabolit meningkat sampai titik tertinggi yang memungkinkan reaksi tidak berjalan sama sekali (Ali, 2005).

Menurut Astekar, et al. (2016), ada beberapa fungi patogen yang ditemukan sebagai koinfeksi pada TB paru seperti *Aspergillus*, *Histoplasma* dan *Cryptococcus*, tetapi yang paling banyak adalah *Candida albicans* karena merupakan flora normal pada saluran pernapasan. Infeksi sekunder ini memperparah pasien TB tersebut. Infeksi *Candida* atau yang disebut kandidiasis ini diperparah karena terapi antibiotik pada pasien penyakit paru kronik. *Aspergillus sp* menyebabkan penyakit aspergilosis. Kapang ini menghasilkan banyak konidia kecil yang mudah menjadi aerosol. Setelah konidia ini terinhalasi akan berkembang dan hifanya terkolonisasi di cabang-cabang bronkus tanpa menyerang parenkim. Hal ini menyebabkan sputum pada pasien mengandung *Aspergillus* (Brooks, et al., 2012).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa bekatul dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan media pertumbuhan jamur. Media bekatul dapat dijadikan media alternatif pengganti media sintetik untuk menumbuhkan *candida sp* dan *Aspergillus sp* yang diidolasi dari bilasan bronkus.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat yang telah mendanai penelitian ini melalui penelitian skim Penelitian Dosen Pemula.

DAFTAR PUSTAKA

- Aini, N., dan Rahayu, T. 2015. *Media Alternatif untuk Pertumbuhan Jamur Menggunakan Sumber Karbohidrat yang Berbeda* (Skripsi). Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Ali, A. 2005. *Mikrobiologi Dasar Jilid I*. Makassar: UNM-Press.

- Astekar, M., Bhatiya, PS., Sowmya, GC. 2016. *Prevalence dan Characterization of Opportunistic Candidal Infections Among Patients With Pulmonary Tuberculosis*. Journal Oral and Maxillofacial Phatology 20(2):183-189.
- Basarang, M., Rianto, MR., dan Arifuddin, M. 2016. *Pertumbuhan Aspergillus sp pada Media Bekatul Agar*. Jurnal Medika: Media Ilmiah Analisis Kesehatan. 1(2): 70 – 76.
- Basu, S., Bose, C., Ojha, N., Das, N., Das, J., Pal, M., Khurana, S. 2015. *Evolution of bacterial and fungal growth media*. Bioinformation 11(4): 182-184 (2015).
- Brooks, G., F., Butel, J., S., Morse, S., A. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Salemba Medika.
- Cappucino, J., G., Sherman, N. 2013. *Manual Laboratorium Mikrobiologi*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Entjang, I. 2003. *Mikrobiologi dan Parasitologi*. Bandung: PT. Citra Aditya Bakti.
- Food Drug and Administration. 2017. *BAM Media M127: Potato Dextrose Agar*. Available from: <https://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm063519.htm>
- Goldman, G., H. dan Osmani., S., A. 2008. *The Aspergilli. Genomics, Medical Aspects, Biotechnology, and Research Methods*. CRP Press Taylor and Francis Group: United States of America
- Gupta, M., Manisha, K., Grover, R., 2012. *Effect of Various Media Types on The Rate of Growth of Aspergillus niger*. Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences (Online) 2012 Vol. 2 (2) April-June
- Hogg, S. 2005. *Essential Microbiology*. England: John Wiley & Sons Ltd.
- Departemen Kesehatan. 2018. *Peduli TBC, Indonesia Sehat*. Available from: <http://www.depkes.go.id/article/view/18032100002/peduli-tbc-indonesia-sehat.html>
- Jabbari, MR., et.al. 2016. *Invasive forms of Candida and Aspergillus in Sputum Samples of Pulmonary Tuberculosis Patients Attending the Tuberculosis Reference Laboratory in Ghaemshahr, Northern Iran: An analysis of samples collected during the past 10 years*. International Journal of Mycobacteriology 5(1): S179-S180.
- Kumala dan mardiasuti. 2012. *In vitro susceptibility test of Candida spp. isolates from pulmonary tuberculosis suspected patients to antifungal agents in Jakarta*. Journal of Medicine and Medical Sciences Vol. 3(3) pp. 138-140.
- Kwoseh, C., K., Darko, M., A., Adubofour, K. 2012. *Cassava starch-agar blend as alternative gelling agent for mycological culture media*. Bots. J. Agric. Appl. Sci. Vol. 8 No. 1 2012.
- Lay, B. W. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada.
- Nursalim, Y., dan Razali, Z.Y. 2007. *Bekatul Makanan yang Menyehatkan*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Ravimannan, N., Arulanantham, R., Pathmanathan., S., Niranjana, K. 2014. *Alternative culture media for fungal growth using different formulation of protein sources*. Annals of Biological Research, 2014, 5 (1):36-39.
- Safitri, R., dan Novel, S.S. 2010. *Medium Analisis Mikroorganisme (Isolasi dan Kultur)*. Bandung: Penerbit buku kesehatan.

- Schmidt, C., G., Furlong, E., B. 2012. *Effect of particle size and ammonium sulfate concentration on rice bran fermentation with the fungus Rhizopus oryzae*. Bioresource Technology 123 (2012) 36–41.
- Sharma, G., Pandey, R., R. 2010. *Influence of culture media on growth, colony character and sporulation of fungi isolated from decaying vegetable wastes*. Journal of Yeast and Fungal Research Vol. 1(8), pp. 157 - 164, October 2010.
- Sudoyo, A.W., dkk, 2007. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jil II Ed 4*. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI. Hal : 988-990, 1015-101.
- Uthayasooriyan, M., et.al. 2016. *Formulation of Alternative Culture Media for Bacterial and Fungal Growth*. Der Pharmacia Lettre 8 (1):431-436.
- Widyanti, T., Basarang, M., Afiah, N. 2016. *Uji Validitas Sabaroud Glukosa Agar Hipertonik untuk Mendeteksi Candida sp*. Jurnal Medika: Media Ilmiah Analisis Kesehatan. 1(2): 43–48.
- WHO. 2017. *Indonesia TB Situation Update 2017*. Available from:<http://www.searo.who.int/indonesia/topics/tb/en/>