

**PS1  
6**

Jakarta

**LAPORAN AKHIR PENELITIAN**

**Evaluasi Viabilitas Isolat Bakteri Spesimen Eks-NAMRU-2**



**Nama Penyusun Laporan :**

- 1. Pretty Multihartina**
- 2. Sunarno**
- 3. Nelly Puspandary**
- 4. Kambang Sariadji**
- 5. Khariri**

**Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan  
Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan**

**Jl. Percetakan Negara No. 29 Jakarta**

**2011**

## LAPORAN AKHIR PENELITIAN

### Evaluasi Viabilitas Isolat Bakteri Spesimen Eks-NAMRU-2



**Nama Penyusun Laporan :**

1. Pretty Multihartina
2. Sunarno
3. Nelly Puspandary
4. Kambang Sariadji
5. Khariri

**Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan**

**Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan**

**Jl. Percetakan Negara No. 29 Jakarta**

**2011**

Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan	
PERPUSTAKAAN	
Tanggal :	30-8-2012
No. Induk :	PS1-6/2012
No. Klass :	PS1
	6.

## KEPUTUSAN

### KEPALA PUSAT BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN NOMOR: HK.03.05/III/962/2011

#### TENTANG

#### PEMBENTUKAN TIM PELAKSANA PENELITIAN TAHUN 2011

### KEPALA PUSAT BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN

- MENIMBANG** :
- a. bahwa untuk melaksanakan kegiatan penelitian pada Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, perlu ditunjuk Tim Pelaksana Penelitian Tahun 2011;
  - b. bahwa berdasarkan pertimbangan huruf a tersebut diatas, maka dipandang perlu menetapkan Keputusan Kepala Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan tentang Pembentukan Tim Pelaksana Penelitian Tahun 2011 sejumlah tujuh belas penelitian;
- MENINGAT** :
1. Undang-Undang Nomor 23 Tahun 1992 tentang Kesehatan (Lembaran Negara Republik Indonesia tahun 1992 Nomor 100, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 3495);
  2. Undang-undang Nomor 14 Tahun 2001 tentang Paten (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2002 Nomor 109, Tambahan Lembaran negara Republik Indonesia Nomor 4130);
  3. Peraturan Pemerintah RI No. 39 Tahun 1995 tentang Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (Lembaran Negara Tahun 1995 Nomor 67, Tambahan Lembaran Negara Nomor 3609);
  4. Peraturan Pemerintah Nomor 20 Tahun 2005 tentang Alih Tehnologi Kekayaan Intelektual serta hasil Penelitian dan Pengembangan oleh Perguruan Tinggi dan Lembaga Penelitian dan Pengembangan (Lembaran Negara Tahun 2005 Nomor 43, Tambahan Lembaran Negara Nomor 4497);
  5. Keputusan Menteri Kesehatan Nomor 791/Menkes/SK/VII/1999 tentang Koordinasi Penyelenggaraan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan;
  6. Keputusan Menteri Kesehatan Nomor 1179A/Menkes/SK/X/1999 tentang Kebijakan Nasional Penelitian dan Pengembangan Kesehatan;
  - Peraturan Presiden Nomor 47 Tahun 2009 tentang Pembentukan dan Organisasi Kementerian Negara.
  7. Peraturan Menteri Kesehatan No. 1144/Menkes/Per/VIII/2010 tentang Organisasi dan Tata Kerja Kementerian Kesehatan;
  8. Keputusan Kementerian Kesehatan RI No.03.05/4/220/2001 tanggal 7 Januari 2011 tentang Penetapan Pejabat Kuasa Pengguna Anggaran, Pejabat yang melakukan Tindakan yang Mengakibatkan Pengeluaran Anggaran Belanja/Pembuat Komitmen, Pejabat Penguji SPP, Pejabat Penandatanganan SPM, Bendahara Penerima dan Pengeluaran pada Kantor Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Jakarta;
- MEMPERHATIKAN** :
1. Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran (DIPA) Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan tahun 2011 dengan No.0683/024-11.1.01/00/2011, tanggal 20 Desember 2010;
  2. Perjanjian Pelaksanaan Penelitian pada Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan dengan No. PR.03.01/III/876/2011 sampai dengan Nomor: No. PR.03.01/III/912/2011, tanggal 14 Februari 2011.



# PUSAT BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN

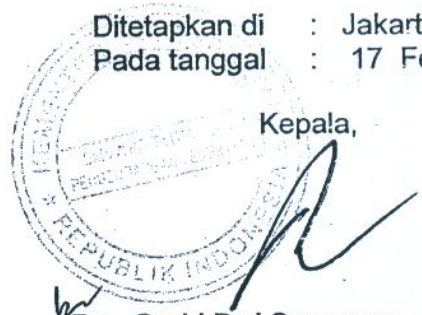
Percetakan Negara No. 23 Jakarta 10560  
Korpos Pos 1226 Jakarta 10012

Telepon (021) 42881758, 42881763, 42881762, 42881745  
Fax (021) 42881754

## MEMUTUSKAN

- MENETAPKAN :**
- KESATU :**
- 1) Membentuk Tim Pelaksana Penelitian Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Tahun 2011 sebagaimana tercantum dalam lampiran keputusan ini;
  - 2) Kepada Tim Pelaksana Penelitian pada Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Litbang Kesehatan Tahun Anggaran 2011, dapat diberikan honorarium sebagaimana tersebut dalam lampiran 2 Keputusan ini;
- KEDUA :**
- Tim Pelaksana Penelitian Tahun 2011 mempunyai tugas sebagai berikut:
- 1) Melaksanakan Penelitian pada Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Tahun 2011, dengan susunan Tim seperti pada lampiran surat keputusan ini;
  - 2) Menyerahkan Laporan Kemajuan Penelitian, Laporan Pelaksanaan Penelitian dan Laporan Akhir Penelitian kepada Kepala Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan.
- KETIGA :**
- Dalam melaksanakan tugasnya, Tim bertanggungjawab kepada Kepala Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan serta wajib menyampaikan laporan akhir penelitian sebagai pertanggungjawaban kegiatan;
- KEEMPAT :**
- Biaya pelaksanaan kegiatan serta honor Tim Pelaksana Penelitian Tahun 2011 dibebankan pada anggaran DIPA Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Tahun 2011;
- KELIMA :**
- Keputusan ini mulai berlaku sejak bulan Januari sampai dengan Desember 2011 dengan ketentuan apabila dikemudian hari ternyata terdapat kekeliruan dalam penetapan ini akan diadakan perbaikan dan perubahan sebagaimana mestinya.

Ditetapkan di : Jakarta  
Pada tanggal : 17 Februari 2011



Kepala,  
Drs. Ondri Dwi Sampurno, M.Si., Apt  
NIP 19621119 198803 100 1

### Tembusan Yth:

1. Sekretaris Jenderal Kemenkes RI;
2. Inspektur Jenderal Kemenkes RI .
3. Ketua Badan Pemeriksa Keuangan;
4. Kepala Badan Pengawasan Keuangan dan Pembangunan;
5. Kepala Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan;
6. Sekretaris Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan;
7. Kanwil Ditjen Anggaran Kemenkeu RI DKI Jakarta;
8. Para Kepala Pusat di Lingkungan Badan Litbang Kesehatan;
9. Kepala Bagian Tata Usaha Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan;
10. Kepala Bidang Biomedis, Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan;
11. Kepala Bidang Teknologi Dasar Kesehatan, Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan;
12. Bendaharawan Pengeluaran Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan;
13. Masing-masing yang bersangkutan untuk dilaksanakan.

### Lampiran 1

### Keputusan Kepala Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan

Nomor : HK.03.05/III/962/2011

Tanggal : 17 Februari 2011

### SUSUNAN TIM PELAKSANA PENELITIAN TAHUN 2011

### EVALUASI VIABILITAS ISOLAT BAKTERI SPESIMEN EKS-NAMRU-2

- |  |                            |
|--|----------------------------|
| 1. Drs. Ondri Dwi Sampurno, M.Si., Apt | : Koordinator Penelitian   |
| 2. Murad Lesmana                       | : Koordinator Penelitian   |
| 3. Dra. Pretty Multihartina, PhD       | : Peneliti/Ketua Pelaksana |
| 4. Sunarno, S.Kp, M.Si                 | : Peneliti Non Fungsional  |
| 5. dr. Nelly Puspendari                | : Peneliti Non Fungsional  |
| 6. Kambang Sariadji, S.Si              | : Peneliti Non Fungsional  |
| 7. Khariri, S.Si                       | : Peneliti Non Fungsional  |
| 8. Melatiwati, AMAK                    | : Pembantu Peneliti        |
| 9. Syamsidar                           | : Pembantu Peneliti        |
| 10. Dorkas Maria Lb Gaol               | : Pembantu Peneliti        |
| 11. Sumarno                            | : Pembantu Peneliti        |
| 12. Triyani Sukarso, AMAK              | : Pembantu Peneliti        |
| 13. Kelik M Arifin, S.Sos              | : Pembantu Peneliti        |
| 14. Yudi Hartoyo                       | : Pembantu Peneliti        |
| 15. Widoretno, S.Si                    | : Pembantu Peneliti        |
| 16. Haeruman                           | : Pembantu Lapangan        |
| 17. Kasdi                              | : Pembantu Lapangan        |
| 18. Nirfan Nurfidin                    | : Pembantu Lapangan        |
| 19. Heri Hermawan                      | : Pembantu Lapangan        |
| 20. Cici                               | : Pembantu Lapangan        |
| 21. Max Bobby Hutabarat, SE            | : Sekretariat Penelitian   |
| 22. Zulfikri, ST                       | : Sekretariat Penelitian   |



Kepala,  
 Drs. Ondri Dwi Sampurno, M.Si., Apt  
 NIP 19621119 198803 100 1



**KEMENTERIAN KESEHATAN RI**  
**BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN**  
**PUSAT BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN**

Percetakan Negara No. 23 Jakarta 10560  
K Pos 1226 Jakarta 10012

Telepon (021) 42881758, 42881763, 42881762, 42881745  
Fax (021) 42881754

**Lampiran 2**

**Keputusan Kepala Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan**

Nomor : HK.03.05/III/962/2011  
Tanggal : 17 Februari 2011

**JUDUL PENELITIAN : EVALUASI VIABILITAS ISOLAT BAKTERI SPESIMEN EKS-NAMRU**

**JUMLAH HONOR TIM PELAKSANA PENELITIAN TAHUN 2011**

- |   |  |              |
|---|--|--------------|
| 1. Koordinator Peneliti                     | : Jumlah honor yang diterima per-bulan sebesar           | =Rp. 350.000 |
| 2. Peneliti Non Fungsional (PI)             | : Jumlah honor yang diterima per-Jam, per-minggu sebesar | =Rp. 27.500  |
| 3. Peneliti Non Fungsional (Peneliti Pusat) | : Jumlah honor yang diterima per-Jam, per-minggu sebesar | =Rp. 22.500  |
| 4. Pembantu Peneliti                        | : Jumlah honor yang diterima per-Jam, per-minggusebesar  | =Rp. 20.000  |
| 5. Sekretariat Penelitian                   | : Jumlah honor yang diterima setiap bulan sebesar        | =Rp. 260.000 |

Kepala,

  
Drs. Ondri Dwi Sampurno, M.Si., Apt  
NIP 19621119 198803 100 1

## **ABSTRAK**

### **Latar Belakang**

Ribuan spesimen berupa bahan biologis tersimpan (BBT) telah diserahkan NAMRU-2 kepada Badan Litbangkes (Puslitbang Biomedis dan Farmasi). Spesimen-spesimen tersebut sangat tinggi nilainya dan bagaimanapun juga memerlukan pemeliharaan (*maintenance*) secara kontinyu serta pengecekan secara berkala terutama viabilitas bakteri agar kualitas spesimen tetap terjaga dengan baik. Penelitian bertujuan untuk memastikan bahwa spesimen yang diserahkan NAMRU-2 kepada Badan Litbangkes dalam keadaan baik.

### **Metode Penelitian**

Penelitian dilakukan di laboratorium bakteriologi Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan pada tahun 2011. Jenis penelitian adalah non-intervensi dengan disain *cross sectional*. Populasi penelitian adalah seluruh isolat bakteri yang tersimpan di laboratorium eks-NAMRU-2. Sampel penelitian merupakan seluruh isolat bakteri hasil isolasi langsung dari responden penelitian (bukan *aliquote*/hasil penggandaan). Jumlah sampel 10654 isolat yang diambil dengan teknik *purposive sampling*. Data disajikan dalam bentuk deskriptif.

### **Hasil Penelitian**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa 93% isolate bakteri yang diperiksa masih *viable*/hidup dengan tingkat viabilitas yang berbeda masing-masing bakteri: *Salmonella* 100%, *Shigella* 100%, *Campylobacter* 66,7%, *Vibrio* 66,4%, *E.coli* 100%, *Aeromonas* 100%, dan *Neisseria* 52,5%. Isolat yang masih *viable* digandakan dan disimpan kembali dalam medium TSB+Glycerol pada suhu (- 80 °C).

### **Kesimpulan**

Sebagian besar isolat bakteri spesimen eks-NAMRU-2 dalam kondisi baik dan dapat dimanfaatkan untuk penelitian lanjutan.

### DAFTAR ANGGOTA TIM PENELITIAN

No	Nama	Kepakaran	Kedudukan	Jabatan Fungsional
1.	Murad Lesmana	Mikrobiologi Klinik, Prof.	Koordinator Penelitian	Guru Besar Mikrobiologi
2.	Ondri Dwi Sampurno	Apoteker/ Biomedis	Koordinator Penelitian	Kepala Pusat 1
3.	Pretty Multihartina	Biologi	Ketua Pelaksana	Peneliti Pertama
4.	Sunarno	Biomedis	Peneliti	Peneliti Non Fungsional
5.	Nelly Puspendari	Dokter	Peneliti	Peneliti Non Fungsional
6.	Kambang Sariadji	Mikrobiologi	Peneliti	Peneliti Non Fungsional
7.	Khariri	Mikrobiologi	Peneliti	Peneliti Non Fungsional
8.	Melatiwati	Analisis Kesehatan	Pembantu Peneliti	Litkayasa
9.	Syamsidar	Analisis Kesehatan	Pembantu Peneliti	Litkayasa
10.	Dorkas Maria	Analisis Kesehatan	Pembantu Peneliti	Litkayasa
11.	Sumarno	Analisis Kesehatan	Pembantu Peneliti	Litkayasa
12.	Triyani	Analisis Kesehatan	Pembantu Peneliti	Litkayasa
13.	Kelik M Arifin	Analisis Kesehatan	Pembantu Peneliti	Litkayasa
14.	Yudi Hartoyo	Komputer	Pembantu Peneliti	Non Fungsional
15.	Widoretno	LIMS	Pembantu Peneliti	Non Fungsional
16.	Haeruman	SMA	Pembantu Lapangan	Non Fungsional
17.	Kasdi	SMA	Pembantu Lapangan	Non Fungsional
18.	Nirfan Nurfidin	SMA	Pembantu Lapangan	Non Fungsional
19.	Heri Hermawan	SMA	Pembantu Lapangan	Non Fungsional
20.	Cici	SMA	Pembantu Lapangan	Non Fungsional
21.	Max Bobby	Ekonomi	Administrasi	Non Fungsional
22.	Zulfikri	Teknik	Administrasi	Non Fungsional

## DAFTAR ISI

Abstrak.....	i
Daftar Anggota Tim Peneliti.....	ii
Daftar Isi.....	iii
Daftar Tabel.....	iv
Daftar Gambar.....	v
Daftar Lampiran.....	vi
Bab I. Pendahuluan.....	1
Bab II. Tujuan Penelitian.....	3
Bab III. Metode Penelitian.....	4
Bab IV. Hasil Penelitian.....	8
Bab V. Pembahasan.....	14
Bab VI. Kesimpulan dan Saran.....	16
Daftar Kepustakaan.....	17
Lampiran.....	18

## DAFTAR TABEL

- Tabel 1. Gambaran Sampel Penelitian
- Tabel 2. Viabilitas Isolat Bakteri
- Tabel 3. Spesies bakteri Salmonella
- Tabel 4. Spesies Bakteri Shigella
- Tabel 5. Spesies Bakteri Camphilobacter
- Tabel 6. Spesies Bakteri Vibrio
- Tabel 7. Spesies Bakteri Aeromonas
- Tabel 8. Spesies Bakteri Neisseria

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Prosedur Kerja

Lampiran 2. *Etical Clearence*

## BAB I PENDAHULUAN

Indonesia yang terletak di daerah tropis memiliki sumber biodiversitas yang sangat luas, termasuk mikroba di dalamnya. Mikroba tersebut selain beragam jenisnya juga sangat mudah mengalami perubahan atau mutasi sehingga menjadi strain baru yang berbeda dari aslinya.<sup>1</sup> Hal ini menambah cepat tumbuh dan berkembangnya biodiversitas tersebut. Keragaman ini merupakan kekayaan yang tidak ternilai sebagai bahan penelitian dan pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi.<sup>2,3</sup>

Seperti telah diketahui bersama, dengan kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi, berbagai macam manfaat bisa dihasilkan dengan perantara atau bantuan mikroba. Sebagai contoh adalah pembuatan vaksin dalam bidang kesehatan<sup>4</sup>, pembuatan enzim dalam bidang biologi/biokimia<sup>5</sup>, sampai dengan penambahan mikroba (probiotik) dalam makanan<sup>6</sup>. Di sisi lain, hal ini juga bisa dimanfaatkan untuk tujuan "jahat" pihak-pihak tertentu seperti *bioterrorism* yang dapat mengancam keamanan dan keselamatan manusia.<sup>7</sup>

Untuk bisa mendapatkan berbagai manfaat mikroba dan terhindar dari berbagai bahaya yang ditimbulkannya, perlu perhatian dan upaya serius khususnya dalam penyimpanan dan pemeliharannya. Adapun teknik penyimpanan dan pemeliharaan mikroba disesuaikan dengan tujuan penggunaannya, apakah sehari-hari, jangka pendek atau jangka panjang. Tujuan jangka pendek biasanya dilakukan untuk kepentingan penelitian yang disesuaikan dengan program. Sedangkan tujuan jangka panjang dilakukan dalam kitannya dengan koleksi dan konservasi.<sup>2</sup>

Pada hari Jum'at tanggal 4 Juni 2010, telah dilakukan serah terima ribuan spesimen berupa bahan biologis tersimpan (BBT) dari pihak NAMRU-2 kepada Badan Litbangkes (Puslitbang Biomedis dan Farmasi). Spesimen tersebut sebagian besar tersimpan dalam *Ultra Low Temperature* (-70°C) dan liquid nitrogen. Hal ini merupakan 2 contoh teknik penyimpanan jangka panjang yang paling sering dilakukan bila sarana dan prasarana memungkinkan.<sup>2,8</sup> Sebagian kecil spesimen disimpan di lemari penyimpanan pada suhu ruangan. Hal ini biasa dilakukan pada spesimen yang sedang diteliti atau diperiksa.<sup>9,10</sup> Di antara spesimen tersebut terdapat lebih dari 20.000

spesimen bakteri dari beberapa projek penelitian yang dilakukan oleh NAMRU-2 bekerja sama dengan Badan Litbagkes dalam kurun waktu 25 tahun terakhir.

Spesimen-spesimen tersebut sangat tinggi nilainya dan bagaimanapun juga memerlukan pemeliharaan (*maintenance*) secara kontinyu serta pengecekan secara berkala terutama viabilitas bakteri agar kualitas spesimen tetap terjaga dengan baik. Oleh karena itu perlu dilakukan evaluasi viabilitas dan identifikasi ulang terhadap seluruh isolat bakteri yang telah diserahkan. Di masa mendatang isolat tersebut dapat dimanfaatkan untuk berbagai penelitian seperti *molecular epidemiology*<sup>11</sup>, karakterisasi genotif dan fenotif bakteri dari waktu ke waktu<sup>12</sup>, uji coba obat baru<sup>13</sup>, uji coba media kultur<sup>9,14</sup>, isolasi protein atau antigen spesifik<sup>15</sup>, kandidat vaksin<sup>16</sup> dan lain sebagainya.

## BAB II

### TUJUAN PENELITIAN

#### 2.1. Tujuan

##### 2.1.1. Tujuan Umum

Kegiatan bertujuan untuk memastikan bahwa spesimen yang diserahkan NAMRU-2 kepada Badan Litbangkes dalam keadaan baik.

##### 2.1.2. Tujuan Khusus

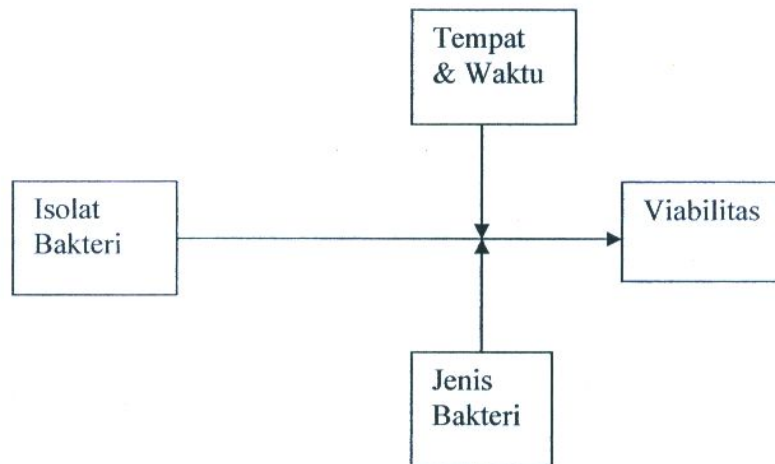
- a. Untuk melakukan inventarisasi ulang terhadap spesimen yang diserahkan NAMRU-2 kepada Badan Litbangkes.
- b. Untuk mendeteksi secara dini adanya kerusakan atau penurunan kualitas spesimen.
- c. Untuk penggandaan strain (*aliquote*).
- d. Untuk meningkatkan efektifitas dan efisiensi penyimpanan spesimen.

#### 2.2. Manfaat

Hasil penelitian akan bermanfaat untuk mengevaluasi dan mempertahankan serta memberikan informasi tentang viabilitas isolat bakteri yang tersimpan di laboratorium eks-NAMRU-2. Informasi ini bermanfaat untuk menentukan kebijakan dalam penyimpanan spesimen.

## BAB III METODE PENELITIAN

### 3.1. Kerangka Konsep



### 3.2. Tempat dan Waktu

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan pada tahun 2011.

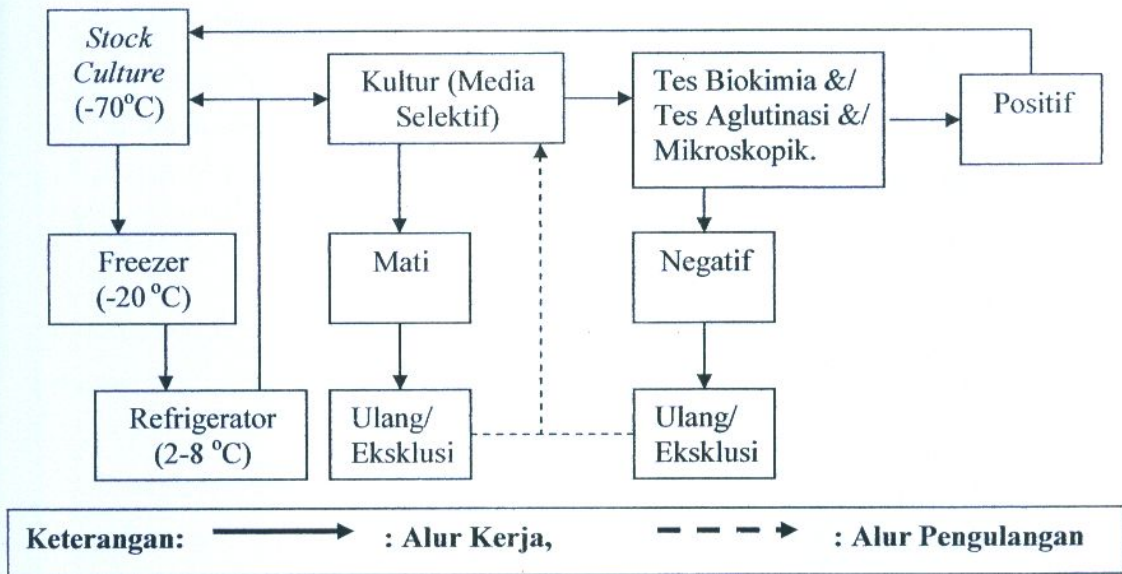
### 3.3. Jenis Penelitian

Jenis penelitian adalah non intervensi (observasi).

### 3.4. Disain Penelitian

Penelitian berupa studi deskriptif dengan disain *cross sectional* melalui pemeriksaan laboratorium.

Alur kerja pemeriksaan laboratorium sebagai berikut:



### 3.5. Populasi dan Sampel

Populasi penelitian adalah seluruh isolat bakteri yang tersimpan di laboratorium eks-NAMRU-2. Sampel penelitian merupakan seluruh isolat bakteri hasil isolasi langsung dari responden penelitian (bukan aliquote/hasil penggandaan).

### 3.6. Besar Sampel, Cara Pemilihan dan Penarikannya

Jumlah sampel sebanyak 10.654 isolat bakteri yang dipilih berdasarkan kriteria inklusi penelitian, yaitu tersimpan dengan baik, sesuai dokumentasi penyimpanan dan kriteria eksklusi penelitian, yaitu spesimen hilang/rusak. Penarikan sampel dilakukan dengan metode *total sampling*. Seluruh isolat diambil bila memenuhi kriteria inklusi dan dikeluarkan bila memenuhi kriteria eksklusi.

### 3.7. Variabel

Variabel Independen dalam penelitian adalah jenis bakteri dan tempat & waktu. Sedangkan variabel dependennya adalah viabilitas bakteri.

### 3.8. Instrumen dan Cara Pengambilan Data

Instrumen pengambilan data berupa perlengkapan pemeriksaan kultur bakteri dan *Culture Stock* serta form isian untuk mencatat hasil pemeriksaan. Data pendukung berupa identitas spesimen yang berasal dari *data base* laboratorium NAMRU-2. Isolat dikultur ulang dan dilakukan penggandaan untuk *Stock Culture*. Hasil pemeriksaan dicatat dan dianalisis berdasarkan jenis bakteri, lama penyimpanan dan teknik penyimpanan.

### 3.9. Bahan dan Prosedur Kerja

(terlampir dalam lampiran 1)

### 3.10. Manajemen dan Analisis Data

Data yang terkumpul dilakukan *editing*, *coding* dan *entry*. Setelah dilakukan *cleaning*, data dianalisis secara deskriptif, menampilkan gambaran hasil pemeriksaan spesimen yang dibuat dalam bentuk tabel dan grafik.

### 3.11. Definisi Operasional

No	Variabel	Pengetian	Skala	Nilai
1	Jenis Bakteri	Spesies dari isolat bakteri	Nominal	1. Vibrio 2. Salmonella 3. Sigella 4. E.coli 5. Aeromonas 6. Neisseria 7. Camphillobacter
2	Tempat & waktu	- Tempat penyimpanan isolat	Nominal	1. Lab 1 2. Lab 2 3. Lab 3
		- Lama penyimpanan isolat	Nominal	1. < 5 tahun 2. ≥ 5 tahun
3	Viabilitas bakteri	Kualitas hidup isolat bakteri ketika dikultur ulang	Nominal	1. Tumbuh subur 2. Tumbuh tidak subur 3. Mati

### 3.12. Pertimbangan Izin Penelitian

Perizinan penelitian dimintakan kepada penanggung jawab spesimen eks-NAMRU-2.

### **3.13. Pertimbangan Etik Penelitian**

Persetujuan etik penelitian diperoleh dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kementerian Kesehatan RI (terlampir dalam lampiran 2).

**BAB IV**  
**HASIL PENELITIAN**

Sampel penelitian berupa isolat tersimpan yang terdiri dari beberapa jenis/Genus bakteri. Isolat tersebut berasal dari beberapa projek penelitian yang dilakukan NAMRU-2 bekerja sama dengan Badan Litbangkes selama 25 tahun terakhir diantaranya Pacom Study, GEIS, DOMI dan lain sebagainya. Selengkapnya tentang sampel penelitian dapat dilihat pada Tabel 1 berikut ini.

Tabel 1. Gambaran Sampel Penelitian

NO	JENIS BAKTERI	JUMLAH	%
1	Salmonella	1388	13,0
2	Shigella	1129	10,6
3	Campylobacter	439	4,1
4	Vibrio	903	8,5
5	E.coli	6060	56,9
6	Aeromonas	135	1,3
7	Neisseria	600	5,6
	Total	10654	100

Sebagian besar (94,4%) sampel merupakan bakteri penyebab penyakit saluran pencernaan dan 50% lebih merupakan bakteri E.coli. Hal ini disebabkan karena sebagian besar isolat diisolasi pada saat penelitian diare.

Isolat yang tumbuh ketika dikultur ulang sebanyak 9920 sampel (93%) dari total sampel yang diperiksa. Gambaran selengkapnya tentang jumlah sampel yang masih viabel/hidup dapat dilihat pada Tabel 2 berikut ini.

Tabel 2. Viabilitas Isolat Bakteri

NO	JENIS BAKTERI	TUMBUH	VIABILITAS (%)
1	Salmonella	1388	100
2	Shigella	1129	100
3	Campylobacter	293	66,7
4	Vibrio	600	66,4
5	E.coli	6060	100
6	Aeromonas	135	100
7	Neisseria	315	52,5

Seluruh isolat yang masih hidup digandakan dan disimpan kembali dalam medium TSB + Glycerol pada suhu (- 70 °C). Sementara itu sampel yang sudah mati dimusnahkan bersama dengan spesimen yang dieksklusi saat penarikan sampel penelitian.

Sebanyak 1388 isolat bakteri Salmonella yang disimpan kembali teridentifikasi dalam beberapa spesies seperti yang terlihat pada tabel 3 berikut ini.

Tabel 3. Spesies bakteri Salmonella

NO	JENIS BAKTERI	JUMLAH	%
1	<i>Salmonella typhimurium</i>	50	3,6
2	<i>Salmonella enteritidis</i>	412	29,7
3	<i>Salmonella typhi</i>	7	0,5
4	<i>Salmonella paratyphi A</i>	10	0,7
5	<i>Salmonella Group A</i>	21	1,5
6	<i>Salmonella Group B</i>	356	25,7
7	<i>Salmonella Group C1</i>	108	7,8
8	<i>Salmonella Group C2</i>	114	8,2
9	<i>Salmonella Group D</i>	67	4,8
10	<i>Salmonella Group E</i>	184	13,2
11	<i>Salmonella Group F</i>	19	1,4
12	<i>Salmonella spp</i>	40	2,9
	Total	1388	100

Tabel 3 menunjukkan beberapa spesies Salmonella yang sering menyebabkan penyakit diare. Mayoritas (sekitar 68%) merupakan *Salmonella enteritidis*, *Salmonella Group B* dan *Salmonella Group E*, sedangkan jenis lain masing-masing kurang dari 10%.

Sebanyak 1129 isolat Shigella yang disimpan kembali teridentifikasi dalam beberapa spesies seperti yang terlihat pada tabel 4 berikut ini.

Tabel 4. Spesies Bakteri Shigella

NO	JENIS BAKTERI	JUMLAH	%
1	<i>Shigella flexnery</i>	86	7,6
2	<i>Shigella sonnei</i>	973	86,2
3	<i>Shigella boydii</i>	9	0,8
4	<i>Shigella dysentriae</i>	36	3,2
5	<i>Shigella spp</i>	24	2,1
	Total	1129	100

Tabel 4 menunjukkan bahwa mayoritas (86,2%) *Shigella* merupakan spesies *Shigella sonnei*.

Sebanyak 293 isolat *Campylobacter* yang disimpan kembali teridentifikasi dalam beberapa spesies seperti yang terlihat pada tabel 5 berikut ini.

Tabel 5. Spesies Bakteri *Campylobacter*

NO	JENIS BAKTERI	JUMLAH	%
1	<i>Campylobacter jejuni</i>	271	99,3
2	<i>Campylobacter coli</i>	12	0,4
34	<i>Campylobacter spp</i>	10	0,3
	Total	293	100

Tabel 5 menunjukkan bahwa mayoritas (99,3%) merupakan spesies *Campylobacter jejuni*.

Sebanyak 600 isolat *Vibrio* yang disimpan kembali terbagi dalam beberapa spesies seperti yang terlihat pada tabel 6 berikut ini.

Tabel 6. Spesies Bakteri *Vibrio*

NO	JENIS BAKTERI	JUMLAH	%
1	<i>Vibrio cholerae (Inaba)</i>	21	3,3
2	<i>Vibrio cholerae (Ogawa O1)</i>	418	69,8
3	<i>Vibrio cholerae (Ogawa non O1)</i>	142	23,5
4	<i>Vibrio parahaemolytica</i>	19	3,1
	Total	600	100

Tabel 6 menunjukkan bahwa mayoritas jenis *Vibrio* penyebab diare di Indonesia adalah spesies *Vibrio cholerae Type Ogawa O1*.

Sebanyak 135 isolat *Aeromonas* yang disimpan kembali teridentifikasi dalam beberapa spesies seperti yang terlihat pada tabel 7 berikut ini.

Tabel 7. Spesies Bakteri *Aeromonas*

NO	JENIS BAKTERI	JUMLAH	%
1	<i>Aeromonas hydrophilis</i>	132	99,8
2	<i>Aeromonas sobria</i>	3	0,2
	Total	135	100

Tabel 7 menunjukkan bahwa mayoritas (99,8%) *Aeromonas* penyebab diare di Indonesia adalah *Aeromonas hydrophilis*.

Sebanyak 315 isolat *Neisseria* yang disimpan kembali terbagi dalam 2 spesies seperti yang terlihat pada tabel 8 berikut ini.

Tabel 8. Spesies Bakteri *Neisseria*

NO	JENIS BAKTERI	JUMLAH	%
1	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	252	79,7
2	<i>Neisseria meningitidis</i>	63	20,3
	Total	315	100

*Neisseria meningitidis* dan *Neisseria gonorrhoeae* menyebabkan penyakit yang berbeda. *Neisseria meningitidis* menyebabkan penyakit radang selaput otak (meningitis), sementara *Neisseria gonorrhoeae* menyebabkan penyakit infeksi seksual menular yang disebut Gonorrhoe (GO). Kedua spesies *Neisseria* tersebut diisolasi dari 2 penelitian yang berbeda.

Baberapa isolat dieksklusi saat penarikan sampel karena penyimpanannya tidak baik sehingga secara fisik telah tampak kerusakan seperti berjamur, busuk dan lain sebagainya. Spesimen tersebut dimusnahkan untuk meningkatkan efektifitas dan efisiensi penyimpanan spesimen. Jumlah spesimen yang dimusnahkan sebanyak 9 Freezer atau sekitar 1595 box cryovial yang terdiri dari isolat bakteri, virus dan parasit dan spesimen klinis seperti stool, swab, serum dan materi genetik ditambah dengan isolat yang tidak tumbuh pada saat kultur ulang.

Hal yang menjadi catatan bahwa data spesimen yang diberikan Pihak NAMRU-2 saat serah terima tidak bisa dipergunakan karena tidak sesuai lagi dengan kondisi real di tempat penyimpanan spesimen. Sebagian besar spesimen yang ada di daftar tidak bisa ditemukan. Sebaliknya sebagian besar spesimen yang ada di tempat penyimpanan tidak ada di dalam daftar. Hal lain yang harus diperhatikan bahwa kerusakan 9 Freezer yang menyebabkan kerusakan semua isinya terjadi setelah serah terima dari Pihak NAMRU-2 sehingga sistim dan system penyimpanan spesimen di Badan Litbangkes perlu diperbaiki.

## BAB V PEMBAHASAN

Tabel 1 memperlihatkan beberapa jenis bakteri yang sering menyebabkan penyakit diare, yaitu *Salmonella*, *Shigella*, *Camphillobacter*, *Vibrio*, *E.coli*, dan *Aeromonas*. *E.coli* merupakan bakteri terbanyak disusul *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio*, *Camphillobacter* dan *Aeromonas*. Bakteri-bakteri tersebut sering mencemari makanan dan minuman serta air bersih yang dipakai untuk sehari-hari yang seringkali melibatkan vektor seperti lalat dan kecoa. Penularan biasanya melalui *oral-fecal*, yaitu mengonsumsi makanan atau minuman yang tercemar kotoran penderita.<sup>17,18,19</sup>

Tabel 2 memperlihatkan tingkat viabilitas masing-masing bakteri. Faktor utama yang menyebabkan kerusakan dan kematian isolat adalah ketidaksesuaian dan ketidakstabilan suhu Freezer tempat menyimpan spesimen yang sangat dipengaruhi juga oleh suhu ruangan tempat meletakkan Freezer. Beberapa jenis bakteri seperti *Vibrio*, *Camphillobacter* dan *Neisseria* sangat sensitif dengan perubahan suhu sehingga menyebabkan kematian isolat seperti yang terlihat pada Tabel 2. Freezer yang biasa dipakai untuk penyimpanan jangka panjang adalah suhu (- 70 °C) sampai dengan (- 150 °C) yang diperoleh dengan pemakaian liquid nitrogen. Sementara pada Freezer dengan suhu (- 20 °C) spesimen harus dikultur ulang minimal 1 kali dalam 1 tahun. Suhu refrigerator (2-8 °C) hanya dipakai sementara saat spesimen diperiksa. Selain itu ketidakstabilan suhu akibat gangguan listrik merupakan hal penting yang harus diwaspadai.<sup>2</sup>

Metode penyimpanan isolat bakteri spesimen eks-NAMRU-2 hanya menggunakan suhu (- 80 °C). Sementara metode lain seperti lyofilize, suhu (- 20 °C), dan suhu (- 150 °C) tidak dipakai untuk isolat bakteri. Kerusakan Freezer yang terjadi selama beberapa minggu setelah serah terima dari pihak NAMRU-2 menyebabkan kerusakan spesimen pada 9 Freezer sehingga harus dimusnahkan semua isinya.

Tabel 3 memperlihatkan bahwa *Salmonella enteritidis* merupakan spesies *Salmonella* yang paling sering menyebabkan diare, disusul dengan *Salmonella Group B*, *Salmonella Group E*, *Salmonella Group C2*, *Salmonella Group C1*, *Salmonella Group D*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella Group F*, *Salmonella typhi* dan *paratyphi*. Hanya sedikit (sekitar 1%) *Salmonella typhi* dan *paratyphi* yang menyebabkan diare.

Hal ini karena bakteri tersebut merupakan penyebab penyakit typhus abdominalis (sehingga sering disebut Salmonella typhoid) yang tidak semua penderitanya mengalami diare.<sup>20,21</sup>

Salmonella merupakan 1 dari 3 Genus Enterobacteriaceae disamping Shigella dan Escherichia yang jelas-jelas merupakan patogen enterik. Salmonella merupakan masalah di negara maju sekalipun. Salmonella non-typhoid menjadi penyebab utama diare. Sekitar 3-8% penderita gastroenteritis disebabkan oleh Salmonella non-typhoid. Perkiraan jumlah inokulum yang diperlukan untuk terjadinya infeksi sekitar  $10^5$ - $10^6$  organism, tapi pada anak dan bayi jumlahnya lebih kecil. Beberapa faktor yang mempengaruhi kejadian infeksi Salmonella adalah sistem sanitasi, kesediaan air bersih, pengelolaan sampah, penyediaan makanan dan iklim. Di Indonesia angka isolasi Salmonella non-typhoid sebesar 2,2% dari total penderita diare anak 1-4 tahun. Infeksi Salmonella non-typhoid mengalami puncaknya pada awal musim hujan (November-Desember), tapi penyakit ini terjadi sepanjang tahun.<sup>20,21,22</sup>

Pemeriksaan laboratorium untuk isolasi Salmonella meliputi medium persemaian yang biasanya berupa kaldu selenit atau kaldu tetrationsat. Bahan pemeriksaan dari medium transport (Cary-Blair) juga ditanam dalam medium lempeng agar diferensial dan selektif (*Mc Conkey* dan *Salmonella-Shigella agar*). Medium biakan (lempeng agar dan kaldu) diinkubasi pada suhu 35 °C selama 20-24 jam. Koloni tersangka Salmonella yaitu koloni bulat, diameter  $\pm$  2 mm, pinggir rata, translusen dengan permukaan licin. Identifikasi menggunakan tes biokimia untuk identifikasi biasanya menggunakan 3-4 tabung dengan menyertakan KIA dan MIO. Reaksi aglutinasi terhadap antigen somatik (O) digunakan untuk menentukan serogroup (Group A, B, C, D dan seterusnya). Reaksi aglutinasi terhadap antigen flagel (H) untuk menentukan Salmonella Oranienburg, Salmonella Dublin, Salmonella Choleraesuis dan lainnya.<sup>20</sup>

Tabel 4 memperlihatkan beberapa spesies Shigella yang berhasil diisolasi dari pasien diare. Jenis terbanyak adalah *Shigella sonnei*, disusul *Shigella flexnery*, *Shigella dysentriae*, dan *Shigella boydii*. Beberapa isolat sulit diidentifikasi lebih lanjut sehingga ditandai/dinamai *Shigella spp*. Meskipun jumlahnya terbanyak *Shigella sonnei* merupakan spesies yang paling tidak virulen. Sementara spesies paling virulen adalah *Shigella dysentriae*. Kematian kasus (CFR) *Shigella dysentriae* dan *Shigella flexnery* di

negara yang sedang berkembang mencapai 20%. *Shigella boydii* biasanya dijumpai di India dan jarang di negara lain. Di Indonesia, isolasi *Shigella dysenteriae* dan *Shigella boydii* sekitar 1% dari seluruh penderita diare.<sup>20,23</sup>

Insiden infeksi *Shigella* paling tinggi terjadi pada anak usia 1-5 tahun. Puncak infeksi biasanya terjadi pada musim panas dimana terjadi kesulitan mendapatkan air bersih. Distribusinya dipengaruhi tingkat sosial ekonomi. Di Indonesia pernah dilaporkan, *Shigella* merupakan patogen yang menempati urutan pertama penyebab diare yang mencapai 7% dari penderita diare bakterial.<sup>20</sup>

Isolasi *Shigella* dilakukan secara langsung tanpa melalui biakan persemaian. Bahan pemeriksaan ditanam pada medium lempeng agar diferensial dan selektif, yaitu Mc Conkey dan Salmonella-Shigella Agar. Semua medium diinkubasi pada suhu 35-37 °C selama 20-24 jam. Koloni tersangka yaitu bulat, diameter  $\pm 2$  mm, pinggir rata, translusen dengan permukaan licin. Tes biokimia untuk identifikasi menggunakan medium KIA dan MIO dalam 3-4 tabung. Media tambahan berupa lysin, arginin, dan ornitin. Reaksi aglutinasi terhadap antigen somatik (antigen O) dengan antisera spesifik untuk *Shigella dysenteriae*, *flexneri*, *boydii* dan *sonnei*.<sup>20</sup>

Tabel 5 memperlihatkan beberapa spesies *Campylobacter* penyebab diare. Jenis terbanyak adalah *Campylobacter jejuni* dan sisanya *Campylobacter coli*. Beberapa isolat sulit diidentifikasi dan ditandai *Campylobacter spp.* Spesies lain dari *Campylobacter* adalah *C.upsaliensis*, *C.hyointestinalis*, *C.lari*, *C.sputorum*, *C.mucosalis*, dan *C.rectus*. Bakteri-bakteri tersebut dikenal sebagai flora normal.<sup>24</sup>

Pemeriksaan laboratorium membutuhkan media transport dingin (4 °C), biasanya Carry-Blair karena bakteri ini mudah mati pada suhu panas. Proses isolasi memerlukan perlakuan khusus yaitu pada suasana CO<sub>2</sub> sehingga membutuhkan *Gas Pak jar* dan *Campy Pak Plus*. Medium yang dibutuhkan adalah Campi Blood agar dan charcoal-cefoperazone-deoxycholate-agar (CCDA). Biakan secara langsung dilakukan pada lempeng agar yang kemudian dimasukkan pada sungkup (*Gas Pak jar*) yang diletakkan dalam *Campy Pak plus* dan diinkubasi pada suhu 42 °C selama 48-72 jam. Biakan dengan filtrasi menggunakan membran filter selulosa asetat dengan pori 0,45  $\mu$ m. Spesimen diteteskan diatas filter dan lempeng agar dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 1 jam. Kemudian filter diangkat dan lempeng agar diinkubasi pada suhu 42 °C selama 48-72 jam dalam suasana CO<sub>2</sub>. Identifikasi membutuhkan pemeriksaan

morfologi koloni, pewarnaan gram, tes oksidase, tes katalase, hippurate serta kepekaan asam nalidiksat dan cefalotin.<sup>24,25</sup>

Tabel 6 memperlihatkan bahwa ada beberapa spesies *Vibrio* yang dihubungkan dengan kejadian diare. *Vibrio cholerae* Ogawa O1 merupakan jenis paling banyak, disusul dengan *Vibrio cholerae* Ogawa non O1, *Vibrio cholerae* Type Inaba dan *Vibrio parahaemolytica*. Spesies lain dari *Vibrio* yang dapat menyebabkan penyakit gastroenteritis (diare) adalah *Vibrio cholerae* O139, *V. fluvialis*, *V. furnisii*, *V. hollisae*, *V. metschnikovii* dan *V. mimicus*. Bakteri-bakteri tersebut tidak ada pada spesimen eks-NAMRU-2 karena kejadiannya yang jarang.<sup>25</sup>

Pemeriksaan laboratorium memerlukan medium transport Carry-Blair (pH 8,4). Dalam medium tersebut *Vibrio* dapat bertahan selama 4 minggu. Medium transport lain yang sekaligus dapat dipakai untuk medium persemaian adalah APW (pH8,6) tapi tidak dianjurkan bila waktu transport lebih 6-8 jam. Pengiriman dan penyimpanan *Vibrio* dilakukan pada suhu kamar karena *Vibrio* lebih peka pada suhu dingin. Isolasi dilakukan pada medium TCBS dan APW. Cairan paling atas dari APW setelah diinkubasi selama 20 jam pada suhu 37 °C diambil dan ditanam ke TCBS. TCBS diinkubasi selama 18-20 jam pada suhu 37 °C. Konfirmasi identifikasi dan untuk menentukan serotipe menggunakan antiserum polivalen spesifik O1 dan antiserum monovalen Ogawa dan Inaba. Tes individu yang menjadi kunci identifikasi spesies *Vibrio* meliputi lysine decarboxylase (LCD), arginine dehydrogenase (ADH) dan ornithine decarboxylase (ADC).<sup>25</sup>

Tabel 7 memperlihatkan 2 spesies *Aeromonas* yang berhubungan dengan kejadian diare, yaitu *Aeromonas hydrophilis* dan *Aeromonas sobria*. *Aeromonas hydrophilis* merupakan jenis terbanyak menyebabkan diare. Spesies lain dari *aeromonas* adalah *A. bivalvium*, *A. bestiarum*, *A. bivalvium*, *A. culicicola*, *A. encheleia*, *A. enteropelogenes*, *A. eichrenophila*, *A. fluvialis*, *A. ichthiosmia*, *A. jandaei*, *A. Media*, *A. molluscorum*, *A. piscicola*, *A. popoffii*, *A. punctata*, *A. rivuli*, *A. salmonicida*, *A. sanarellii*, *A. schubertii*, *A. sharmana*, *A. simiae*, *A. taiwanensis*, *A. tecta*, *A. trota*, *A. veronii*. Selain menyebabkan diare *Aeromonas* juga dihubungkan dengan infeksi luka dan bakteremia. Penyakit pencernaan pada anak-anak biasanya merupakan penyakit akut parah, sedangkan pada orang dewasa cenderung diare kronis. Gastroenteritis berat *Aeromonas* menyerupai Shigellosis, dengan darah dan leukosit pada tinja.<sup>26</sup>

*A. hydrophilis* merupakan bakteri yang mampu memfermentasi laktosa, oleh sebab itu kultur primer pada umumnya dipergunakan media yang bisa membedakan bakteri tersebut memfermentasi laktosa atau tidak, antara lain Brilliant Green Agar (BGA) dan MacConkey Agar (Mc/C). Beberapa media lain dapat digunakan untuk kultur primer *A. hydrophilis* antara lain Tryptic Soy Agar (TSA), dan Brain Heart Infusion Agar (BHIA). Media dengan formulasi khusus untuk keperluan isolasi *Aeromonas* adalah Rimler-Shotts agar (R-S). R-S agar ini mempunyai kandungan maltosa, L-lisin hydrochloride, L-ornithine hydrochloride, L-cystine hydrochloride, bromothymol blue, yeast extract, sodium thiosulphate, ferric citrate. Setelah di inkubasi pada suhu 37°C selama 24 sampai 48 jam, pada media ini *A. hydrophilis* akan mengalami pertumbuhan koloni berwarna kuning.<sup>26</sup>

Tabel 8 memperlihatkan 2 spesies *Neisseria* yang berhubungan dengan penyakit meningitis (*Neisseria meningitidis*) dan penyakit gonorrhoe (*Neisseria gonorhoeae*). *Neisseria meningitidis* diisolasi pada saat penelitian "Meningitis Study", sedangkan *Neisseria gonorhoeae* diisolasi pada saat penelitian "Prevalence Survey for Sexually-Transmitted Infections).

Di Amerika Serikat, gonorrhoea merupakan penyakit infeksi tersering kedua di dengan 358.366 kasus pada tahun 2006. Jumlah ini mengalami kenaikan sekitar 5,5% dibandingkan tahun sebelumnya (2005).<sup>27</sup> Sebagian besar kasus didominasi oleh ras kulit hitam dengan perbandingan 14 – 36 kali lipat dibandingkan ras kulit putih.<sup>28</sup> Sementara itu menurut laporan hasil survey prevalensi infeksi saluran reproduktif pada wanita penaja seks (WPS), angka kejadian penyakit gonorrhoea pada WPS langsung di Indonesia tahun 2005 mencapai 24%. Jumlah ini meningkat menjadi 30,1% pada tahun 2007<sup>29</sup> dan pada tahun 2009 meningkat kembali menjadi 34,5%.<sup>30</sup>

*Neisseria meningitidis* (meningococci) biasanya berada di nasofaring manusia tanpa menimbulkan gejala penyakit. Antara 5-30 % individu menjadi carrier terutama pada usia older children dan young adults. Meningitis terutama menyerang usia 3 bulan sampai 1 tahun. Meningococcal meningitis dapat terjadi secara sporadic (biasanya group B dan C) dan epidemic (biasanya group A), dengan insiden tertinggi selama akhir musim dingin dan awal musim semi.<sup>31,32</sup>

*Neisseria* merupakan *Gram-negative cocci* yang membutuhkan suplementasi nutrien pada medium kultur. *Neisseria* tumbuh pada chocolate agar dalam suasana CO<sub>2</sub>.

Neisseria biasanya diisolasi pada medium Thayer-Martin agar dan agar plate yang mengandung antibiotik (Vancomycin, Colistin, Nystatin, and SXT) dan nutrient yang memfasilitasi pertumbuhan Neisseria dan menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur kontaminan. Kultur diinkubasi pada suhu 35-36 °C dengan 3-10% CO<sub>2</sub>. Identifikasi spesies menggunakan tes oxidase dan reaksi gula-gula (maltose, sucrose, dan glucose). *N. gonorrhoeae* peka terhadap perubahan temperature, kelembaban, sinar ultra violet dan kondisi lingkungan.<sup>31,32</sup>

## **BAB VI**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **6.1. Kesimpulan**

- 6.1.1. Sebagian besar isolat bakteri spesimen eks-NAMRU-2 yang diperiksa dalam kondisi baik.
- 6.1.2. Beberapa jenis bakteri peka terhadap perubahan suhu sehingga perlu perhatian khusus.
- 6.1.3. Kerusakan Freezer yang terjadi setelah serah terima spesimen dari NAMRU-2 telah menyebabkan kerusakan spesimen.
- 6.1.4. Data isolat bakteri yang diserahkan NAMRU-2 tidak bisa dipergunakan karena tidak sesuai kondisi di tempat penyimpanan.

#### **6.2. Saran**

- 6.2.1. Perlu meningkatkan pemanfaatan spesimen eks-NAMRU-2 untuk bahan penelitian.
- 6.2.2. Perlu meningkatkan manajemen penyimpanan spesimen.

## DAFTAR KEPUSTAKAAN

1. Denamur E & Matic I. Evolution of mutation rates in bacteria. *Molecular Microbiology*. 2006;60(4):820–827
2. Machmud M. Teknik Penyimpanan dan Pemeliharaan Mikroba. *Buletin AgroBio*. 2001;4(1):24-32
3. Mendez-Vilas ed. Current research topics in applied microbiology and microbial biotechnology. Proceedings of the II Interatonal Conference on Environmental, Industrial and Applied Microbiology (BioMicroWorld2007). 2009. Singapore:World Scientific Publishing.
4. Saltzman WM, Hong S, Brandsma JL. DNA Vaccines: Methods and Protocols 2<sup>nd</sup> ed. 2006. Totowa-New Jersey: Humana Press.
5. Kawaguti HY, Manrich E, Fleuri LF, Sato HH. Production of glucosyltransferase by *erwinia* sp. Using experimental Design and response surface methodology. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2005;36:227-234.
6. Holzapfel WH, Haberer P, Geisen R, Björkroth J, and Schillinger U. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *Am J Clin Nutr*. 2001;73(suppl):365S–73S.
7. Wagar EA, Mitchell MJ, Carroll KC, Beavis KG, Petti CA, Schlaberg R and Yasin B. A Review of Sentinel Laboratory Performance: Identification and Notification of Bioterrorism Agents. *Arch Arch Pathol Lab Med*. 2010;134:1490–1503.
8. Bullen JJ. A New Technique for Recovering Bacteria Stored in Liquid Nitrogen. *Journal of General Microbiology*. 1975;89:205-207
9. Vandepitte J, Verhaegen J, Engbaek K, Rohner P, Piot P, Heuck CC. Basic laboratory procedures in clinical bacteriology 2<sup>nd</sup> ed. 2003. Geneva: WHO.
10. Teather RM. Maintenance of Laboratory Strains of Obligately Anaerobic Rumen Bacterial. *Applied and Environmental Microbiology*. 982;2:499-501.
11. Boffetta P. Molecular Epidemiology. *Journal of Internal Medicine*. 2000;248:447-454.
12. Dale JW&Park SF. *Molecular Genetics of Bacteria* 4th Ed. 2004. England:John Wiley & Sons.
13. Kar A. *Pharmaceutical Microbiology*. 2008. New Delhi:New Age International (P) Ltd., Publishers.
14. Limoncu ME, Balcioglu IC, Yereli K, Ozbel Y and Ozbilgin A. A New Experimental In Vitro Culture Medium for Cultivation of *Leishmania* Species *JCM*.1997;35(9):2430–2431.
15. Lugowski C & Romanowska E. Enterobacterial Common Antigen: Isolation from *Shigella sonnei*, Purification and Immunochemical Characterization. *Eur. J. Biochem*. 1978;91:89-97.
16. Moxon R & Rappuoli R. Bacterial pathogen genomics and vaccines. *British Medical Bulletin*. 2002;62: 45–58.
17. Burnett SL & Beuchat LR. Food-Borne Pathogens Human Pathogens Associated With Raw Produce and Unpasteurized Juices, and Difficulties in Decontamination. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*. 2001; 27: 104–110.

18. Miliotis MD, Bier JW, ed. Handbook of Foodborne Pathogens. 2003; New York:Marcel Dekker.
19. Percival S, Chalmers R, Embrey M, Hunter P, Sellwood J, Wyn-Jones P. Microbiology of Waterborne Diseases. 2004. Elsevier Academic Press.
20. Lesmana M. Enterobacteriaceae: Salmonella & Shigella. 2003; Jakarta: FK Universitas Trisakti.
21. Kurniawan Harris. Beberapa Faktor Resiko Kejadian Tifoid di Kota Semarang. Undergraduate Thesis, Diponegoro University. 2010.
22. Brands DA. Deadly Diseases and Epidemics: Salmonella. 2006. Philadelphia. Chelsea House Publisers.
23. Watson C. Death from multi-resistant shigellosis in Fiji Islands. 2001. Pac Health Dialog 8:99-102.
24. Nachamkin I, Szymanski CM, Blaser MJ ed. Campylobacter 3<sup>th</sup>. 2008. Washington DC: ASM Press.
25. Lesmana M. Vibrio & Campylobacter. 2003. Jakarta: FK Usakti.
26. Janda JM & Abbott. Evolving Concepts Regarding the Genus Aeromonas: An Expanding Panorama of Species, Disease Presentations, and Unanswered Questions. CID. 1998; 27:332-44
27. CDC. *Sexually Transmitted Disease Surveillance 2006 Supplement: Gonococcal Isolate Surveillance Project (GISP) Annual Report 2006*. Atlanta, Georgia: U.S. Department of Health and Human Services, Division of STD Prevention. April 2008
28. Miller WC, Ford CA, Morris M, et al. Prevalence of Chlamydial and Gonococcal Infections Among Young Adults in the United States. *JAMA*. 2004;291(18):2229-2236
29. Rahardjo E. Laporan hasil survey prevalensi infeksi saluran reproduktif pada wanita penjaja seks di Kupang, Samarinda, Pontianak, Yogyakarta, Timika, Makasar dan Tangerang tahun 2006-2007. Puslitbang Biomedis dan Farmasi, Badan Litbangkes. 2009.
30. Ditjen P2PL Kementerian Kesehatan RI. Diseminasi Hasil STBP 2009: WPS Langsung. Disampaikan pada acara diseminasi hasil survey terpadu biologis dan perilaku di Jakarta, Mei 2010.
31. Ryan KJ, Ray CG (editors). Sherris Medical Microbiology 4th ed. 2004. McGraw Hill.
32. Todar K. *Todar's Online Textbook of Bacteriology*. 2011.
33. . Bacteria Preservation: Refrigeration, Freezing and Freeze Drying. A Guide to Bacteria Preservation, No. 9, March 15, 2010. OPS Diagnostics, LLC.
34. Thiel T. Maintenance of Bacterial Strains. 1999. St. Louis: Department of Biology, University of Missouri.

**Lampiran 1**  
**Prosedur Kerja**<sup>2,9,33,34</sup>

**I. SOP Penumbuhan Bakteri dari stok**

1. Persiapkan media yang sesuai dengan bakteri yang akan ditumbuhkan kembali (*re-streak*).
2. Persiapkan spesimen beku yang akan ditumbuhkan kembali (*streak*). Keluarkan dari Revco -80°C.
3. Dengan menggunakan ose steril ambil spesimen beku, sehingga didapat sejumlah cairan berasal dari spesimen beku pada ose.
4. Tekan ose pada media, kemudian goreskan ose pada salah satu sudut petridisk berulang-ulang. Goresan kedua harus berdekatan dengan goresan yang pertama namun jangan menyentuh goresan sebelumnya.
5. Dengan menggunakan ose tersebut gores kembali pada sudut lain petridisk yang belum terkena goresan. Goresan ini harus melewati goresan pada sudut sebelumnya, kemudian dilanjutkan dengan menggores pada sudut yang baru.
6. Ulangi kembali pada sudut petridisk yang lain dengan mengulangi langkah 5, sampai seluruh permukaan media penuh dengan goresan yang menyebar dengan konsentrasi yang semakin kecil sehingga akan didapatkan koloni yang terpisah.
7. Inkubasi media pada suhu 37°C selama 24 jam.

**II. SOP Penyimpanan Strain Bakteri Jangka Panjang**

**Hari I**

1. Persiapkan tabung kultur 15 ml
2. Masukkan 5 ml *Left Brain Medium* (LBM) atau LBM dengan antibiotik.
3. Koloni bakteri yang baru tumbuh diambil dengan menggunakan ose dan dimasukkan ke dalam tabung kultur di atas.
4. Inkubasi pada suhu 37°C minimal 5 jam (biasanya selama 24 jam)

## **Hari II**

1. Siapkan tabung cryovial yang sudah diberi label.
2. Masukkan 225 $\mu$ l glycerol 80 % yang sudah steril.
3. Tambahkan 1.0 ml kultur bakteri yang sudah diinkubasi pada hari sebelumnya, vortex tabung tersebut dan simpan pada suhu  $-80^{\circ}\text{C}$



**KEMENTERIAN KESEHATAN**  
**BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN**  
Jalan Percetakan Negara No. 29 Jakarta 10560 Kotak Pos 1226  
Telepon: (021) 4261088 Faksimile: (021) 4243933  
*E-mail:* sesban@litbang.depkes.go.id, *Website:* http://www.litbang.depkes.go.id

**PEMBEBASAN PERSETUJUAN ETIK (EXEMPTED)**

Nomor : KE.01.05/EC/359/2011

Yang bertanda tangan di bawah ini, Ketua Komisi Etik Penelitian Kesehatan Badan Litbang Kesehatan, setelah dilaksanakan pembahasan dan penilaian, dengan ini memutuskan protokol penelitian yang berjudul :

**"Evaluasi Viabilitas Isolat Bakteri Spesimen Eks-NAMRU-2"**

dengan Ketua Pelaksana/Peneliti Utama: **Dra. Pretty Multihartina, Ph.D.**

dapat dibebaskan dari keharusan memperoleh persetujuan etik (*Exempted*) untuk pelaksanaan penelitian tersebut. Pembebasan ini berlaku sejak dimulai dilaksanakannya penelitian tersebut di atas sampai dengan selesai sesuai yang tercantum dalam protokol.

Walapun demikian kami mengingatkan bahwa dalam pelaksanaan penelitian ini, peneliti tetap diminta untuk menjaga dan menghormati martabat manusia yang menjadi responden/informan dalam penelitian ini. Dengan demikian diharapkan masyarakat luas dapat memperoleh manfaat yang baik dari penelitian ini.

Pada akhir penelitian, laporan pelaksanaan penelitian harus diserahkan kepada KEPK-BPPK. Jika ada perubahan protokol dan / atau perpanjangan penelitian, harus mengajukan kembali permohonan kajian etik penelitian (amandemen protokol).

Jakarta, 31 Mei 2011

Ketua  
Komisi Etik Penelitian Kesehatan  
Badan Litbang Kesehatan,

Prof. Dr. M. Sudomo