

□□□□□□□□ □□□ □□□□□□□□ □□□□ □ □□□□□□ □□□□ □□□
□□□□□□ □□□□ □□□□□□ □□□□□ □□□□□□□□□□□□□□□□□

□□□□□□ □□□□□□□□□□□□□ □□□□□□ □

□□□□□□□□ □□□□□□□□□□

□



□

□

□□□□□□□□□□ □□**P**□□□□□□□

□□□□□□ □□ □□□□□□□□□□ **E**□□□□□□□□□□ □

□

□□□□□□ □□□□□□□□□□ □□□□□□ □□□□□□□□□□ □

□

□□□□□□ □□□□□□□□□□□□□□□□

□

□**HA**□□

□**GYUN**□~~**KN**~~**NMISIN**□

□□□ □□□

□

□

□

□

□□□□□□□ □ □□□□□□□□□□ □□□□□□ □□□□□□□□□□

□□□□□ □□□□□□□□□□ □□□□□□ □□□□□□□□□□

□□□□□□ □□□□□□□□□□ □□□□□

□□□□□□□□□□ □□□□□□□□□□ □□ □□□□□□□□ □□□□□□□□□□

□□□□ □□□□□□□□ □ □□□ □□□□□□□**J**□ □□□□□ □□

□□□□□□**P**□□

□ □□

LEMBAR PENGESAHAN

Disajikan pada tanggal

20 Januari 2022

Pembimbing I



Artono, dr., Sp.T.H.T.K.L (K), FICS

NIP. 19690711 199907 1 001

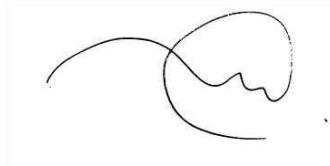
Pembimbing II



Dr. Nyilo Purnami, dr., Sp.T.H.T.K.L.(K), FICS, FISC

NIP. 19640724 198910 2 001

Pembimbing III



Dr. Agung Dwi Wahyu Widodo, dr., M.Si., MKed.Klin., SpMK

NIP. 19750407 200604 1 001

Koordinator Program Studi

Dept./KSM Ilmu Kesehatan THT-KL

FK UNAIR - RSUD Dr. Soetomo



Artono, dr., Sp.T.H.T.K.L (K), FICS

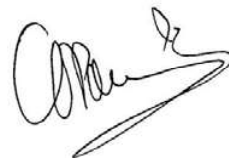
NIP. 19690711 199907 1 001

Koordinator Penelitian dan Pengabdian

kepada Masyarakat

Dept./KSM Ilmu Kesehatan THT-KL

FK UNAIR - RSUD Dr. Soetomo



Dr. Nyilo Purnami, dr., Sp.T.H.T.K.L.(K), FICS, FISCMI

NIP. 19640724 198910 2 001

Ketua

Departemen Ilmu Kesehatan THT-KL

FK UNAIR – RSUD dr. Soetomo



Dr. Muhtarum Yusuf, dr., Sp.T.H.T.K.L.(K), FICS

NIP: 19620831 198903 1 010

Karya akhir diuji pada ujian akhir (Tertutup)

Tanggal: 20 Januari 2022

Penguji Karya Akhir :

1. Prof. Sri Herawati, dr., Sp.T.H.T.K.L(K)
2. Dr. Muhtarum Yusuf, dr., Sp.T.H.T.K.L(K), FICS
3. Titiek H. Ahadiah, dr., Sp.T.H.T.K.L(K)
4. Irwan Kristyono, dr., Sp.T.H.T.K.L(K), FICS
5. Budi Sutikno, dr., Sp.T.H.T.K.L(K), FICS

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini,

Nama : Sukma Nisa Janitra

NIM : 011428056304

Program Studi : Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok Bedah Kepala dan Leher

Jenis Karya : Karya Akhir

Judul Penelitian : Pengaruh Asam Asetat dalam Menghambat dan Eradikasi Biofilm
Pseudomonas aeruginosa pada Otitis Media Supuratif Kronik
(Penelitian *in vitro*)

Dengan ini menyatakan bahwa hasil penelitian ini merupakan hasil karya sendiri dan benar keasliannya serta berasal dari data asli dan bukan hasil rekayasa. Apabila kemudian hari penelitian ini mengandung plagiasi, autoplajiasi, atau penjiplakan atas karya orang lain, maka saya bersedia bertanggung jawab sekaligus menerima sanksi. Demikian pernyataan ini saya buat dalam keadaan sadar dan tidak dipaksakan.

Surabaya, 1 September 2022

Yang Membuat Pernyataan,



Sukma Nisa Janitra

NIM 011428056304

KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, berkat, hidayah dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menjalani pendidikannya sampai selesai dengan karya akhir berjudul **“Pengaruh Asam Asetat dalam Menghambat dan Eradikasi Biofilm *Pseudomonas aeruginosa* pada Otitis Media Supuratif Kronik (Penelitian *in vitro*)”**. Penelitian ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh ijazah spesialis Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok Bedah Kepala dan Leher Departemen/SMF Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok Bedah Kepala dan Leher Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

Karya akhir telah selesai dan dengan berakhirnya masa pendidikan dokter spesialis, maka perkenankan penulis menyampaikan terima kasih yang tidak terhingga kepada :

1. Prof. Dr. Budi Santoso, dr., Sp.OG(K) Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya. Prof. Dr. Soetojo, dr., Sp.U(K), dan Prof. Dr. Agung Pranoto, dr., M. Kes, Sp.PD, K-EMD, FINASIM, Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya periode sebelumnya yang telah memberi kesempatan kepada penulis untuk menempuh Program Pendidikan Dokter Spesialis-1 Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok Bedah Kepala dan Leher.
2. Dr. Joni Wahyuhadi, dr., Sp.BS (K), selaku Direktur RSUD Dr. Soetomo Surabaya, Harsono, dr., dan Dodo Anondo, dr., MPH, selaku Direktur RSUD Dr. Soetomo Surabaya periode sebelumnya, yang telah memberi ijin untuk

bekerja di RSUD Dr. Soetomo Surabaya, khususnya di Departemen / SMF Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok Bedah Kepala dan Leher.

3. Dr. Tarmono, dr., Sp.U (K), Ketua Komkordik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga – RSUD Dr. Soetomo Surabaya dan Dr. Hermanto Tri Joewono, dr., SpOG (K), Ketua Divisi BAKORDIK PPDS I Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga – RSUD Dr. Soetomo Surabaya periode sebelumnya yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menempuh Pendidikan Dokter Spesialis Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok Bedah Kepala dan Leher.
4. Dr. Muhtarum Yusuf, dr., Sp.T.H.T.K.L (K), FICS, Ketua Departemen/SMF Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok Bedah Kepala dan Leher Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga – RSUD Dr. Soetomo Surabaya, dan Prof. Dr. Widodo Ario Kentjono, dr., Sp.T.H.T.K.L (K), FICS, Ketua Departemen/SMF Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok Bedah Kepala dan Leher Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga – RSUD Dr. Soetomo Surabaya periode sebelumnya, yang telah memberi kesempatan kepada penulis untuk menempuh Pendidikan Dokter Spesialis Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok Bedah Kepala dan Leher.
5. Dwi Reno Pawarti, dr., Sp.T.H.T.K.L(K), FICS selaku Ketua Kelompok Staf Medik Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok Bedah Kepala dan Leher Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga - RSUD Dr. Soetomo Surabaya yang telah memberi kesempatan untuk menempuh Pendidikan Dokter Spesialis-1 Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok Bedah Kepala dan

Leher dan telah memberi dukungan penuh serta arahan selama masa pendidikan.

6. Artono, dr., Sp.T.H.T.K.L(K), FICS, selaku Koordinator Program Studi Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok Bedah Kepala dan Leher Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga - RSUD Dr. Soetomo Surabaya serta Dr. A.C. Romdhoni, dr., Sp.T.H.T.K.L(K), FICS dan Dwi Reno Pawarti, dr., Sp.T.H.T.K.L(K), FICS, Koordinator Program Studi Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok Bedah Kepala dan Leher Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga - RSUD Dr. Soetomo Surabaya periode sebelumnya, yang telah memberi kesempatan untuk menempuh Pendidikan Dokter Spesialis-1 Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok Bedah Kepala dan Leher dan telah memberi dukungan penuh serta arahan selama masa pendidikan.
7. Diar Mia Ardani, dr., Sp.T.H.T.K.L(K), FICS, Sekretaris Program Studi Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok Bedah Kepala dan Leher Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga - RSUD Dr. Soetomo Surabaya serta Haris Mayagung Ekorini, dr., Sp.T.H.T.K.L(K), Sekretaris Program Studi Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok Bedah Kepala dan Leher Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga - RSUD Dr. Soetomo Surabaya periode sebelumnya, yang telah memberi kesempatan kepada saya untuk menempuh Pendidikan Dokter Spesialis-1 Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok Bedah Kepala dan Leher dan telah banyak memberi nasehat selama menjalani masa pendidikan.
8. Dr. Nyilo Purnami, dr., Sp.T.H.T.K.L(K), FICS, FISCN Koordinator Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Departemen/KSM Ilmu

Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok Bedah Kepala dan Leher Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga - RSUD Dr. Soetomo Surabaya dan Prof. Dr. H.M.S. Wiyadi, dr., Sp.T.H.T.K.L(K), FICS sebagai Koordinator Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Departemen/KSM Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok Bedah Kepala dan Leher Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga - RSUD Dr. Soetomo Surabaya periode sebelumnya yang telah membimbing saya dalam penulisan karya akhir ini.

9. Dr. Nyilo Purnami, dr., Sp.T.H.T.K.L (K), FICS, FISCN, selaku dosen wali yang telah memberikan bimbingan, nasihat, semangat, doa dan dorongan untuk terus berkarya menjadi lebih baik selama menempuh Pendidikan Dokter Spesialis-1 Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok Bedah Kepala dan Leher.
10. Artono, dr., Sp.T.H.T.K.L(K), FICS, selaku pembimbing pertama yang dengan senang hati, sangat sabar, ikhlas dan penuh perhatian memberikan arahan, nasihat, bimbingan, dorongan dan dukungan selama pendidikan spesialis sampai penulisan karya akhir ini terselesaikan.
11. Dr. Nyilo Purnami, dr., Sp.T.H.T.K.L (K), FICS, FISCN, selaku pembimbing kedua yang dengan kebaikan hati memberikan nasihat, arahan, bimbingan, bantuan, dukungan dan dorongan selama pendidikan spesialis sampai penulisan karya akhir ini terselesaikan.
12. Dr. Agung Dwi Wahyu Widodo, dr., M.Si., MKed.Klin., SpMK selaku pembimbing ketiga sekaligus dosen dan konsultan Mikrobiologi Departemen Mikrobiologi Klinik Universitas Airlangga – RSUD Dr. Soetomo Surabaya yang dengan senang hati dan penuh perhatian memberikan petunjuk, saran, dan

masukan mengenai ilmu mikrobiologi hingga penulis dapat menyelesaikan penulisan karya akhir ini.

13. Dr. Windhu Purnomo, dr., M.S selaku pembimbing statistik sekaligus dosen Departemen Ilmu Kedokteran Masyarakat dan Kedokteran Pencegahan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya yang dengan senang hati dan penuh perhatian memberikan petunjuk, saran, dan masukan dalam pengolahan data statistik pada penelitian ini.
14. Seluruh Guru besar dan staf Departemen/KSM Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok Bedah Kepala dan Leher Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga - RSUD Dr. Soetomo Surabaya yang telah bersedia memberikan nasihat, semangat, teguran, inspirasi, dan bimbingan kepada penulis selama menempuh pendidikan dokter spesialis.
15. Seluruh teman sejawat PPDS-1 Departemen/KSM Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok Bedah Kepala dan Leher Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga - RSUD Dr. Soetomo Surabaya serta para alumni yang telah bekerja sama dengan baik selama penulis menempuh pendidikan dan melakukan penelitian.
16. Seluruh karyawan dan paramedis Departemen/KSM Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok Bedah Kepala dan Leher Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga - RSUD Dr. Soetomo Surabaya yang telah banyak memberikan dukungan dan bantuan pada penulis selama menempuh pendidikan.
17. Rasa hormat, penghargaan, dan ucapan terima kasih yang tidak terhingga kepada kedua orang tua saya tercinta Achmad Prihantoyo dan Nurul Qomaria yang telah memberikan segalanya tanpa kekurangan satupun dalam kehidupan,

membesarkan, mendidik, merawat, melimpahkan kasih sayang, memberi teladan, mendukung sepenuh hati, dan selalu mendoakan. Semoga selalu dilindungi, diberikan kesehatan dan berkat yang melimpah oleh Allah SWT.

18. Ayah mertua saya Hari Purnomo dan ibu mertua Nur Salawati yang telah memberikan dukungan moral dan doa sampai hari ini sehingga dapat menyelesaikan pendidikan ini.
19. Suami tercinta Mario Hendrawan, S. AB, yang penuh kesabaran, perhatian, dukungan semangat, arahan dan doa yang melimpah kepada penulis sehingga dapat meneruskan pendidikan ini sampai selesai.
20. Kakak tersayang Sukma Nian Khamala dan Sukma Ratih Kharisma terima kasih atas segala perhatian, kasih sayang, doa, dorongan semangat, dukungan moril dan bantuan langsung maupun tidak langsung selama menjalani pendidikan ini.
21. Moudi M Mona, dr., M. Kes., Valentini Mega Pontoh, dr., Sp.T.H.K.L, Lucia Miranti, dr., Dionisia V P, dr., Sp.T.H.T.K.L, Widiatmoko B, dr., Sp.T.H.K.L, dan Arif Sudianto U, dr., Sp.T.H.T.K.L, sebagai sahabat dan teman seperjuangan yang telah banyak membantu, memberikan dukungan, semangat dalam suka dan duka selama menjalani pendidikan spesialis. Persaudaraan, kebersamaan, suka dan duka bersama tidak akan terlupakan. Semoga tali persaudaraan ini tetap terjaga selamanya.
22. Semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu yang telah banyak membantu selama menempuh pendidikan maupun dalam pelaksanaan penelitian serta penulisan karya akhir ini.

Akhirnya penulis menyadari karya tulis ini masih jauh sempurna sehingga penulis mengharapkan kritik dan saran yang bermanfaat untuk penelitian ini. Tidak lupa pada kesempatan ini saya menyampaikan permintaan maaf setulus hati kepada semua guru, teman sejawat, paramedis, dan karyawan di lingkungan Departemen/KSM Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok Bedah Kepala dan Leher Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga-RSUD Dr. Soetomo Surabaya atas semua kesalahan dan kekurangan selama menempuh pendidikan dokter spesialis.

Semoga Allah Yang Maha Pengasih dan Penyayang senantiasa melimpahkan hidayah, ampunan, rahmat-Nya dan memberi kesehatan serta perlindungan kepada kita semua dalam menghadapi pandemi Covid-19 ini.

Surabaya, Januari 2022

Penulis

RINGKASAN

PENGARUH ASAM ASETAT DALAM MENGHAMBAT DAN ERADIKASI BIOFILM *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* PADA OTITIS MEDIA SUPURATIF KRONIK

(Penelitian *in vitro*)

Sukma Nisa Janitra

Tingginya angka kejadian Otitis Media Supuratif Kronik (OMSK) disebabkan oleh multifaktorial salah satunya akibat kemampuan bakteri patogen dalam membentuk biofilm. Pembentukan biofilm pada bakteri dapat menghambat penetrasi agen antimikroba dan mampu menghindari sistem pertahanan imun. Sifat resistensi antibiotik yang dimiliki biofilm menjadi salah satu faktor penyebab kegagalan terapi dan kronisitas suatu infeksi hingga menimbulkan komplikasi. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri yang paling sering ditemukan pada OMSK memiliki kemampuan virulensi dengan membentuk struktur biofilm. Sejumlah penelitian melaporkan asam asetat merupakan senyawa asam lemah bersifat biosidal yang memiliki kemampuan hambat dan eradikasi kompleks biofilm pada bakteri. Asam asetat diduga dapat menjadi salah satu alternatif terapi tambahan pada infeksi bakteri pembentuk biofilm. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh asam asetat dalam menghambat dan eradikasi biofilm *Pseudomonas aeruginosa* pada OMSK.

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorik *in vitro* dengan rancangan *post test only control group design*. Sampel *Pseudomonas aeruginosa* berasal dari sekret kavum mastoid penderita OMSK. Penelitian ini terdiri dari dua jenis, penelitian pertama mengamati efek hambat asam asetat terhadap pertumbuhan biofilm dengan cara memberikan paparan asam asetat konsentrasi 0,04%, 0,08%, 0,16%, 0,31%, 0,63%, 1,25%, 2,5% dan 5% pada *Pseudomonas aeruginosa*. Selanjutnya diamati penghambatan pembentukan biofilm dengan mengukur densitas biofilm menggunakan ELISA reader. Penelitian kedua mengamati efek eradikasi asam asetat terhadap *Pseudomonas aeruginosa* yang sudah membentuk biofilm. Kemudian diberikan paparan asam asetat konsentrasi 0,04%, 0,08%, 0,16%, 0,31%, 0,63%, 1,25%, 2,5% dan 5% dan diamati degradasi biofilm dengan mengukur densitas biofilm menggunakan ELISA reader. Data yang diperoleh merupakan data kuantitatif berupa nilai absorbansi atau *Optical Density*. Hasil pembacaan densitas biofilm menggunakan ELISA reader. Analisis statistik menggunakan tes *One Way ANOVA* yang dilanjutkan dengan uji *multiple comparison*.

Hasil penelitian efek hambat asam asetat terhadap *Pseudomonas aeruginosa* didapatkan pola densitas biofilm yang semakin menurun dari pemberian asam asetat konsentrasi kecil ke konsentrasi lebih besar. Pembentukan biofilm tertinggi ditunjukkan pada kelompok konsentrasi asam asetat 0,04% (persentase hambat 14,28%), sedangkan pembentukan biofilm terendah ditunjukkan pada kelompok konsentrasi asam asetat 5% (persentase hambat 41,07%). Hasil analisis uji statistik *One Way Anova* didapatkan nilai $p=0,000$, artinya didapatkan pengaruh asam asetat dalam menghambat biofilm *Pseudomonas aeruginosa*. Analisis *Post-Hoc Multiple Comparison* (Tukey HSD) menunjukkan

hasil yang bermakna ($p < 0,05$) antara kelompok kontrol positif dengan kelompok konsentrasi 0,16%, 0,31%, 0,63%, 1,25%, 2,5%, 5%, sedangkan kelompok perlakuan dengan konsentrasi asam asetat 0,04% dan 0,08% menunjukkan nilai yang tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol positif. Nilai *Minimum Biofilm Inhibitory Concentration* (MBIC) asam asetat terhadap pembentukan biofilm *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 0,16%.

Hasil penelitian efek eradikasi asam asetat terhadap biofilm *Pseudomonas aeruginosa* didapatkan pola densitas biofilm yang semakin menurun dari pemberian asam asetat konsentrasi kecil ke konsentrasi lebih besar. Pembentukan biofilm tertinggi ditunjukkan pada kelompok konsentrasi asam asetat 0,04% (persentase eradikasi 33,33%), sedangkan pembentukan biofilm terendah ditunjukkan pada kelompok konsentrasi asam asetat 5% (persentase eradikasi 82,12%). Uji statistik *One Way Anova* didapatkan nilai $p=0,000$, artinya didapatkan pengaruh asam asetat dalam eradikasi biofilm *Pseudomonas aeruginosa*. Analisis *Post-Hoc Multiple Comparison* (Tukey HSD) menunjukkan hasil yang bermakna ($p < 0,05$) antara kelompok kontrol positif dengan kelompok konsentrasi 0,08%, 0,16%, 0,31%, 0,63%, 1,25%, 2,5%, 5%, sedangkan kelompok perlakuan dengan konsentrasi asam asetat 0,04% menunjukkan nilai yang tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol positif. Nilai *Minimum Biofilm Eradication Concentration* (MBEC) asam asetat terhadap eradikasi biofilm *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 0,08%.

Kesimpulan asam asetat berpengaruh dalam menghambat pembentukan biofilm dan eradikasi biofilm *Pseudomonas aeruginosa* pada OMSK. Penelitian ini didapatkan nilai MBIC sebesar 0,16% dan nilai MBEC sebesar 0,08%.

SUMMARY

**EFFECT OF ACETIC ACID IN INHIBITING AND ERADICATION
PSEUDOMONAS AERUGINOSA BIOFILM IN CHRONIC SUPPURATIVE
 OTITIS MEDIA
 (in vitro study)**

Sukma Nisa Janitra

High incidence in Chronic Suppurative Otitis Media (CSOM) caused by multifactorial one of which is due to the ability of pathogenic bacteria to form biofilms. Biofilm formation in bacteria can inhibit penetration of antimicrobial agents and avoid immune system, thus becoming one of the factors causing therapeutic failure and chronicity of infection. *Pseudomonas aeruginosa* were the most common bacteria found in CSOM, which has virulence factor to form biofilm structure. A number of studies reported that acetic acid is a weak acid compound with biocidal properties that has the ability to inhibit and eradicate biofilm complexes in bacteria. Acetic acid is thought to be an alternative additional therapy as antibiofilm agent. The purpose of this study was to determine the effect of acetic acid in inhibiting and eradicating *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in CSOM.

This study used an experimental in vitro laboratory method with a post test only control group design. The sample was an isolate of *Pseudomonas aeruginosa* collected from mastoid cavity secretions in CSOM patients. This study consisted of two types, the first study observed inhibitory effect of acetic acid on biofilm growth by giving exposure to acetic acid. The second study observed eradication effect of acetic acid on *Pseudomonas aeruginosa* which had formed a biofilm then given exposure to acetic acid. Acetic acid concentrations was 0,04%, 0,08%, 0,16%, 0,31%, 0,63%, 1,25%, 2,5% and 5%. Biofilm formation and eradication observed using microtiter plate assay method and measured by ELISA reader. Data analyzed using One Way ANOVA and multiple comparison test.

Results of acetic acid inhibitory effect on *Pseudomonas aeruginosa* showed a pattern of biofilm density that decreased from small to higher concentrations of acetic acid. Highest biofilm formation was shown in the 0,04% acetic acid concentration group (inhibitory percentage 14,28%), while the lowest biofilm formation was indicated in the 5% acetic acid concentration group (inhibitory percentage 41,07%). One Way Anova statistical test showed p value = 0,000 meaning the effect of acetic acid in inhibiting *Pseudomonas aeruginosa* biofilms was obtained. Post-Hoc Multiple Comparison (Tukey HSD) analysis showed significant results ($p < 0,05$) between the positive control group and the concentration group of 0,16%, 0,31%, 0,63%, 1,25%, 2,5%, 5%, while the treatment group with 0,04% and 0,08% acetic acid concentrations were not significantly different from the positive control group. Minimum Biofilm Inhibitory Concentration (MBIC) value shown in 0.16%.

Results of acetic acid eradication effect on *Pseudomonas aeruginosa* showed a pattern of biofilm density that decreased from small to higher concentrations of acetic acid. Highest biofilm formation was shown in the 0,04% acetic acid concentration group (inhibitory percentage 33,33%), while the lowest biofilm formation was shown in the 5% acetic acid concentration group (inhibitory

percentage 82,12%). One Way Anova statistical test showed p value = 0,000 meaning the effect of acetic acid in the eradication of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm was obtained. Post-Hoc Multiple Comparison (Tukey HSD) analysis showed significant results ($p < 0.05$) between positive control group and concentration group of 0,08%, 0,16%, 0,31%, 0,63%, 1,25%, 2,5%, 5%, while the treatment group with 0,04% acetic acid concentration were not significantly different from the positive control group. Minimum Biofilm Eradication Concentration (MBEC) value shown in 0,08%.

Overall, this study conclude that acetic acid has an effect on inhibiting the formation of biofilms and eradication of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in CSOM with MIBC value 0,16% and MEBC value 0,08%.

ABSTRAK

PENGARUH ASAM ASETAT DALAM MENGHAMBAT DAN
ERADIKASI BIOFILM *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* PADA OTITIS
MEDIA SUPURATIF KRONIK

(Penelitian *in vitro*)

Sukma Nisa Janitra

Abstrak

Latar belakang: Tingginya angka kejadian Otitis Media Supuratif Kronik (OMSK) disebabkan oleh multifaktorial salah satunya kemampuan bakteri patogen dalam membentuk biofilm. Pembentukan biofilm pada bakteri dapat menghambat penetrasi agen antimikroba dan menghindari sistem pertahanan imun sehingga menjadi salah satu faktor penyebab kegagalan terapi dan kronisitas infeksi. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri tersering ditemukan pada OMSK yang memiliki kemampuan virulensi membentuk struktur biofilm. Sejumlah penelitian melaporkan asam asetat memiliki kemampuan hambat dan eradikasi kompleks biofilm dan diduga dapat menjadi salah satu alternatif terapi tambahan terhadap infeksi bakteri pembentuk biofilm.

Tujuan: Menjelaskan pengaruh asam asetat dalam menghambat dan eradikasi biofilm *Pseudomonas aeruginosa* pada OMSK.

Metode: Eksperimental laboratorik *in vitro* dengan metode *post test only control group*. Sampel *Pseudomonas aeruginosa* berasal dari sekret kavum mastoid penderita OMSK. Efek hambat asam asetat diamati dengan pemberian asam asetat pada *Pseudomonas aeruginosa*. Efek eradikasi biofilm diamati dengan pemberian asam asetat pada *Pseudomonas aeruginosa* yang sudah membentuk biofilm. Konsentrasi asam asetat yang digunakan 0,04%, 0,08%, 0,16%, 0,31%, 0,63%, 1,25%, 2,5%, 5%. Pengamatan menggunakan metode *microtiter plate assay* diukur dengan ELISA reader. Analisis data menggunakan *One Way Anova* dan *multiple comparison (Tukey HSD Test)*.

Hasil: Didapatkan pengaruh hambat asam asetat terhadap pertumbuhan biofilm *Pseudomonas aeruginosa* ($p=0,000$) dengan hasil bermakna ($p<0,05$) antara kelompok kontrol positif dengan kelompok konsentrasi 0,16%, 0,31%, 0,63%, 1,25%, 2,5%, 5%. Nilai *Minimum Biofilm Inhibitory Concentration* (MBIC) sebesar 0,16%. Didapatkan pengaruh eradikasi asam asetat terhadap biofilm *Pseudomonas aeruginosa* ($p=0,000$) dengan hasil bermakna ($p<0,05$) antara kelompok kontrol positif dengan kelompok konsentrasi 0,08%, 0,16%, 0,31%, 0,63%, 1,25%, 2,5%, 5%. Nilai *Minimum Biofilm Eradication Concentration* (MBEC) sebesar 0,08%.

Kesimpulan: Asam asetat berpengaruh dalam menghambat pembentukan dan eradikasi biofilm *Pseudomonas aeruginosa* pada OMSK.

Kata kunci: Otitis media supuratif kronik (OMSK), biofilm, *Pseudomonas aeruginosa*, asam asetat, *human disease*

ABSTRACT

EFFECT OF ACETIC ACID IN INHIBITING AND ERADICATION *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* BIOFILM IN CHRONIC SUPPURATIVE OTITIS MEDIA (in vitro study)

Sukma Nisa Janitra

Background: High incidence in Chronic Suppurative Otitis Media (CSOM) caused by multifactorial one of which is due to the ability of pathogenic bacteria to form biofilms. Biofilm formation inhibit penetration of antimicrobial agents and avoid immune system, thus causing therapeutic failure and chronicity of infection. *Pseudomonas aeruginosa* were the most common bacteria found in CSOM, which has ability to form virulence factor such as biofilm structure. Acetic acid is a weak acid that has the ability to inhibit and eradicate bacterial biofilm complexes and is thought to be an alternative therapy as antibiofilm agent.

Objective: Explain the effect of acetic acid in inhibiting and eradicating *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in CSOM.

Methods: Experimental in vitro with post test only control group design. Sample using *Pseudomonas aeruginosa* collected from mastoid cavity secretion in CSOM patient. Inhibitory effect of acetic acid observed by exposing *Pseudomonas aeruginosa* to acetic acid, while the eradication effect observed by exposing *Pseudomonas aeruginosa* which had already formed a biofilm to acetic acid. Acetic acid concentration was 0,04%, 0,08%, 0,16%, 0,31%, 0,63%, 1,25%, 2,5% and 5%. Biofilm formation and eradication observed using microtiter plate assay method and measured by ELISA reader. Data analyzed by One Way ANOVA and multiple comparison test.

Results: Inhibitory effect of acetic acid on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm growth was found ($p=0.000$) with significant results ($p < 0.05$) within concentration group of 0,16%, 0,31%, 0,63%, 1,25%, 2,5%, 5%. Minimum Biofilm Inhibitory Concentration (MBIC) value shown in 0,16%. Eradication effect of acetic acid on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm was found ($p=0.000$) with significant results ($p < 0.05$) within concentration group of 0,08%, 0,16%, 0,31%, 0,63%, 1,25%, 2,5%, 5%. Minimum Biofilm Eradication Concentration (MBEC) value shown in 0,08%.

Conclusion: Acetic acid has an effect on inhibiting biofilm formation and biofilm eradication of *Pseudomonas aeruginosa* in CSOM.

Keywords: Chronic suppurative otitis media, biofilm, *Pseudomonas aeruginosa*, acetic acid, human disease

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
RINGKASAN	xiv
SUMMARY	xvi
ABSTRAK	xviii
ABSTRACT	xix
DAFTAR ISI	xviii
DAFTAR TABEL	xxi
DAFTAR GAMBAR	xxii
DAFTAR LAMPIRAN	xxiii
DAFTAR SINGKATAN	xxiv

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1	Latar Belakang	1
1.2	Rumusan Masalah.....	4
1.3	Tujuan Penelitian	4
1.3.1	Tujuan umum.....	4
1.3.2	Tujuan khusus.....	4
1.4	Manfaat Penelitian	5
1.4.1	Manfaat teoritis.....	5
1.4.2	Manfaat praktis.....	5

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1	Otitis Media Supuratif Kronik	6
2.1.1	Diagnosis	6
2.1.2	Mikrobiologi.....	7
2.1.3	Tatalaksana	8
2.2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9
2.2.1	Struktur	10
2.2.2	Virulensi	11
2.3	Biofilm.....	17
2.3.1	Struktur biofilm	19
2.3.2	Proses pembentukan biofilm	19
2.3.3	<i>Quorum sensing</i>	24
2.3.4	Pemeriksaan biofilm metode <i>microplate assay</i>	27
2.3.5	Mekanisme resistensi antibiotik pada bakteri biofilm	28
2.4	Asam asetat.....	29
2.4.1	Sifat.....	30
2.4.2	Mekanisme asam asetat menghambat pembentukan biofilm	31
2.4.3	Mekanisme asam asetat mendegradasi biofilm	33
2.4.4	Konsentrasi asam asetat sebagai antimikroba	35

BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1	Kerangka Konseptual	38
3.2	Penjelasan Kerangka Konseptual	39
3.3	Hipotesis	42

BAB 4. METODE PENELITIAN

4.1	Jenis Penelitian	43
4.2	Rancangan penelitian	43
4.2.1	Penelitian I	43
4.2.2	Penelitian II	44
4.3	Tempat dan waktu penelitian	45
4.3.1	Tempat	45
4.3.2	Waktu	46
4.4	Populasi, sampel dan teknik pengambilan sampel	46
4.4.1	Populasi	46
4.4.2	Sampel	46
4.4.3	Kriteria sampel	46
4.4.4	Teknik pengambilan sampel	47
4.4.5	Besar sampel	47
4.5	Variabel penelitian dan definisi operasional	48
4.5.1	Variabel penelitian	48
4.5.2	Definisi operasional	48
4.6	Bahan dan instrumen penelitian	50
4.6.1	Bahan penelitian	50
4.6.2	Instrumen penelitian	51
4.7	Prosedur Penelitian	51
4.7.1	Persiapan	51
4.7.2	Prosedur kerja	51
4.7.3	Prosedur pengumpulan dan analisis data	57
4.8	Kerangka operasional penelitian	58

BAB 5. HASIL PENELITIAN

5.1	Hasil uji pengaruh asam asetat dalam menghambat pembentukan biofilm <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	60
5.2	Analisis statistik pengaruh asam asetat dalam menghambat pembentukan biofilm <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	61
5.3	Hasil uji pengaruh asam asetat dalam eradikasi biofilm <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	63
5.4	Analisis statistik pengaruh asam asetat dalam eradikasi biofilm <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	65

BAB 6. PEMBAHASAN

6.1	Metode penelitian	67
6.2	Pengujian biofilm metode <i>microtiter plate assay</i> dan pembacaan densitas dengan <i>ELISA reader</i>	69
6.3	Pengaruh asam asetat dalam menghambat pembentukan biofilm <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	70

6.4	Pengaruh asam asetat dalam eradikasi biofilm <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	71
6.5	Keterbatasan penelitian.....	74

BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN

7.1	Kesimpulan.....	75
7.2	Saran	75

DAFTAR PUSTAKA	76
-----------------------------	----

LAMPIRAN	80
-----------------------	----

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1	Pengukuran uji pengaruh asam asetat dalam menghambat pembentukan biofilm <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 60
Tabel 5.2	Nilai signifikansi (p) hasil uji statistik <i>Multiple Comparisons</i> (Tukey HSD) pada penelitian pengaruh asam asetat dalam menghambat pembentukan biofilm <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 62
Tabel 5.3	Pengukuran uji pengaruh asam asetat dalam eradikasi biofilm <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 63
Tabel 5.4	Nilai signifikansi (p) hasil uji statistik <i>Multiple Comparisons</i> (Tukey HSD) pada penelitian pengaruh asam asetat dalam eradikasi biofilm <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 65

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Struktur lapisan kapsul <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11
Gambar 2.2	Mekanisme virulensi <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12
Gambar 2.3	Struktur biofilm.....	19
Gambar 2.4	Siklus hidup bakteri biofilm <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21
Gambar 2.5	Mekanisme dasar komunikasi antar sel	24
Gambar 2.6	Skema <i>quorum sensing</i> pada <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dan produk transkripsi gen.....	26
Gambar 2.7	Struktur asam asetat	30
Gambar 2.8	Mekanisme inhibisi <i>quorum sensing</i> bakteri gram negatif.....	32
Gambar 2.9	Mekanisme toksisitas asam organik lemah terhadap antimikroba	34
Gambar 3.1	Kerangka konseptual.....	38
Gambar 4.1	Rancangan penelitian I.....	44
Gambar 4.2	Rancangan penelitian II	45
Gambar 4.3	Skema pembagian sumuran	56
Gambar 4.4	Kerangka operasional penelitian.....	58
Gambar 5.1	Grafik nilai rata-rata densitas biofilm pada uji hambat pembentukan biofilm <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	61
Gambar 5.2	Grafik persentase hambat asam asetat terhadap pembentukan biofilm <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	61
Gambar 5.3	Grafik nilai rata-rata densitas biofilm pada uji eradikasi biofilm <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	64
Gambar 5.4	Grafik persentase eradikasi asam asetat terhadap biofilm <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	64

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Keterangan kelaikan etik.....	80
Lampiran 2	Lembar pengumpul data.....	81
Lampiran 3	Hasil data pengukuran densitas biofilm menggunakan ELISA <i>reader</i>	82
Lampiran 4	Uji normalitas dan <i>One Way Anova</i> penelitian efek hambat asam asetat terhadap pembentukan biofilm <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	83
Lampiran 5	Uji <i>Post-Hoc Multiple Comparison</i> (Tukey HSD) penelitian efek hambat asam asetat terhadap pembentukan biofilm <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	84
Lampiran 6	Tabel nilai signifikansi (p) hasil uji statistik <i>Multiple Comparisons</i> (Tukey HSD) pada penelitian efek hambat asam asetat terhadap pembentukan biofilm <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	88
Lampiran 7	Uji normalitas dan <i>One Way Anova</i> penelitian efek eradikasi asam asetat terhadap biofilm <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	89
Lampiran 8	Uji <i>Post-Hoc Multiple Comparison</i> (Tukey HSD) penelitian efek eradikasi asam asetat terhadap biofilm <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	90
Lampiran 9	Tabel nilai signifikansi (p) hasil uji statistik <i>Multiple Comparisons</i> (Tukey HSD) pada penelitian efek eradikasi asam asetat terhadap biofilm <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	94
Lampiran 10	Dokumentasi penelitian	95

DAFTAR SINGKATAN

AHL	N-asil homoserin lakton
ANOVA	<i>Analysis of variance</i>
BHL	C4-HSL
CFU	<i>Colony-forming unit</i>
CSLM	<i>Confocal scanning laser microscopy</i>
EF-2	<i>Eukaryotic elongation factor-2</i>
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
FDA	<i>Food and drug administration</i>
H	Hidrogen
H+	Proton
HCL	Hidrochloride
HRCT scan	<i>High resolution computer tomography scan</i>
IQS	<i>Intergrated quorum sensing system</i>
IqsR	Reseptor iqs
LasR	Reseptor las
LBP	<i>Lipopolisakarida Binding Protein</i>
LPS	Lipopolisakarida
ml	Mililiter
nm	Nanometer
OD	<i>Optical density</i>
OdDHL	3-oxo-C12-HSL
OMSK	Otitis media supuratif kronik
Pqs	Pseudomonas quinolone system
pqs	2-heptyl-3- hydroxy-4-quinolone
PqsR	Reseptor pqs
RhlR	Reseptor rhl
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
RSUD	Rumah Sakit Umum Daerah
SEM	<i>Metode scanning electron microscopy</i>
SPE	Substansi polisakarida ekstraseluler
TEM	<i>Transmission electron micrroscopy</i>
TSB	<i>Tryptic soy broth</i>