

KARYA AKHIR

**IDENTIFIKASI MIKROBIOM PADA PENDERITA
RINOSINUSITIS KRONIS DENGAN DAN TANPA POLIP
(TELAAH BERDASARKAN PEMERIKSAAN *NEXT
GENERATION 16S SEQUENCING*)**

***MICROBIOME IDENTIFICATION IN CHRONIC
RHINOSINUSITIS WITH AND WITHOUT POLYPS
(REVIEW BASED ON NEXT GENERATION 16S
SEQUENCING ANALYSIS)***

AMELIA DIAN UTAMI



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp.1)
PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN TELINGA HIDUNG TENGGOROK
BEDAH KEPALA LEHER
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2019



**IDENTIFIKASI MIKROBIOM PADA PENDERITA
RINOSINUSITIS KRONIS DENGAN DAN TANPA POLIP
(TELAAH BERDASARKAN PEMERIKSAAN *NEXT
GENERATION 16S SEQUENCING*)**

Karya Akhir

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Dokter Spesialis-1 (Sp-1)

Program Studi
Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok
Bedah Kepala Leher

Disusun dan diajukan oleh

AMELIA DIAN UTAMI

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp-1)
PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN TELINGA HIDUNG TENGGOROK-
BEDAH KEPALA LEHER
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2019



KARYA AKHIR
IDENTIFIKASI MIKROBIOM PADA PENDERITA
RINOSINUSITIS KRONIS DENGAN DAN TANPA POLIP
(TELAAH BERDASARKAN PEMERIKSAAN NEXT
GENERATION 16S SEQUENCING)

Disusun dan diajukan oleh :

AMELIA DIAN UTAMI

Nomor Pokok : C103215104

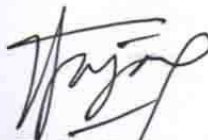
Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis

Pada tanggal 14 Mei 2019

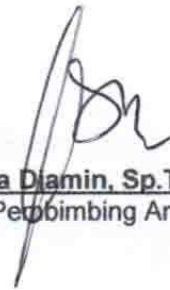
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui

Komisi Penasehat,



Dr.dr. Muh. Fajar Perkasa, Sp.T.H.T.K.L(K)
Pembimbing Utama



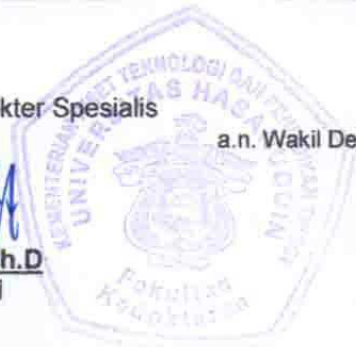
Dr.dr. Riskiana Damin, Sp.T.H.T.K.L(K)
Pembimbing Anggota

Manajer Program Pendidikan Dokter Spesialis
Fakultas Kedokteran Unhas

dr. Uleng Bahrun, Sp.PK(K), Ph.D
NIP. 19680518 199802 2 001

Dekan,
a.n. Wakil Dekan Bidang Akademik Riset dan Inovasi

Dr. dr. Irfan Idris, M. Kes
NIP. 19671103 199802 1 001



PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Amelia Dian Utami
NIM : C103215104
Program Studi : Ilmu Kesehatan THT-KL

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa karya akhir yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan karya akhir ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 25 April 2019

Yang menyatakan

Amelia Dian Utami



PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah Subhanahu wa Ta'ala atas segala berkat, rahmat, kasih, dan karuniaNya serta shalawat kepada junjungan Nabi Muhammad S.A.W sehingga tesis ini dapat penulis selesaikan.

Karya akhir ini disusun sebagai salah satu tugas akhir dalam Pendidikan Dokter Spesialis (PPDS) di bagian Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok Bedah Kepala Leher Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang tulus dan sedalam-dalamnya kepada Kepala Departemen Ilmu T.H.T.K.L FK Universitas Hasanuddin Prof.Dr.dr. Abdul Qadar Punagi, Sp.T.H.T.K.L (K), FICS , kepada pembimbing penulis Dr.dr. Muhammad Fajar Perkasa, Sp.T.H.T.K.L (K), Dr.dr. Riskiana Djamin, Sp.T.H.T.K.L (K), dan dr. Burhanuddin Bahar, MS, yang telah membimbing dan mendorong penulis sejak penyusunan proposal , pelaksanaan penelitian hingga selesainya tesis ini.

Terima kasih pula penulis sampaikan kepada Ketua Program Studi pendidikan dokter spesialis T.H.T.K.L Prof. Dr.dr. Eka Savitri, Sp.T.H.T.K.L

penguji penulis Dr.dr. Masyita Gaffar, Sp.T.H.T.K.L (K), Dr.dr. Nani Jufri, Sp.T.H.T.K.L (K), FICS, Dr.dr, Muhammad Amsyar Akil, Sp.T.H.T.K.L (K), FICS, dan dr. Firdaus Hamid, Ph.D.



Terima kasih yang tak terhingga , penulis sampaikan kepada guru-guru penulis : Prof. dr. R. Sedjawidada, Sp.T.H.T.K.L(K), Prof. Dr.dr. Sutji Pratiwi Rahardjo, Sp.T.H.T.K.L(K), Prof.dr. Abdul Kadir, Ph.D, Sp.T.H.T.K.L(K), MARS, dr. Andi Baso Sulaiman, Sp.T.H.T.K.L(K), MARS, Alm. dr. Freddy G Kuhuwael, Sp.T.H.T.K.L(K), dr. Aminuddin Azis, Sp.T.H.T.K.L(K), MARS, Dr.dr. Nova A. L Pieter, Sp.T.H.T.K.L(K), FICS, dr. Rafidawaty Alwi, Sp.T.H.T.K.L(K), dr. Mahdi Umar, Sp.T.H.T.K.L, dr. Trining Dyah, Sp.T.H.T.K.L(K), MARS, dr. Sri Wartati, Sp.T.H.T.K.L, dr. Amira Trini Raihana, Sp.T.H.T.K.L, dr. Yarni Alimah Sp.T.H.T.K.L , Dr.dr. Syahrijuita, Sp.T.H.T.K.L, M.Kes, dr. Khaeruddin , Sp.T.H.T.K.L. M.Kes dan dr. Azmi Mi'rah Zakiah, Sp.T.H.T.K.L(K), M.Kes yang telah membimbing penulis selama proses pendidikan hingga pada penelitian dan penulisan karya akhir.

Pada kesempatan ini pula penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar besarnya kepada :

1. Pimpinan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan Manajer Program Pendidikan Dokter Spesialis serta jajarannya yang telah memberi kesempatan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan di Departemen Ilmu Kesehatan T.H.T.K.L Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

Direktur RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo, RS. Universitas Hasanuddin, RS Labuang Baji, RS. Pelamonia, RS. Mitra Husada ,



RS. Haji, RS. Ibnu Sina, RS. Faisal, BKMM, RSUD Poso, RSUD Kotabaru, dan RSUD Selayar atas segala bantuan dan fasilitas yang telah diberikan selama penulis menempuh pendidikan.

3. Kepala Bagian dan staf Bagian Anatomi FK. Unhas, Kepala Departemen, Ketua Program Studi, Staf, dan Residen Departemen Penyakit Dalam divisi Gastroenterohepatologi, Pulmonologi dan Intervensi, Anestesiologi, dan Radiologi yang telah membimbing penulis selama mengikut pendidikan integrasi.
4. Seluruh teman sejawat peserta pendidikan dokter spesialis Ilmu Kesehatan T.H.T.K.L Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin atas segala bantuan kerjasama yang terjalin selama ini. Secara khusus penulis menghaturkan terima kasih kepada teman-teman divisi Rinologi yang sudah secara langsung membantu pelaksanaan penelitian ini.
5. Saudara seperjuangan penulis dr. Deti Fitria, dr. Restu Isnayah Handayani, dr. Magdalena Octavia Sidabutar, dr. Heike Wilda Lokey atas segala kerjasama selama menempuh pendidikan ini.
6. Sahabat penulis dr. Lisa Retno Dewi, Sp.T.H.T.K.L, M.Kes, dr. Agusmiani Ahmad, Sp.T.H.T.K.L, dan dr. Nanda Mayasari atas bantuan dan dukungan yang diberikan selama penulis menempuh pendidikan.



7. Seluruh paramedis dan staf kamar operasi RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo, RS. Universitas Hasanuddin, RS Labuang Baji, RS. Pelamonia, RS. Mitra Husada , RS. Haji, RS. Ibnu Sina, RS. Faisal, BKMM, RSUD Poso, RSUD Kotabaru, RSUD Selayar atas bantuan dan kerjasama selama penulis menempuh pendidikan
8. dr. Paulus Lie, Sp.T.H.T.K.L, dr. Ade Rahmy Sujuthi, Sp.T.H.T.K.L, dr. Andi Tenri Sanna, Sp.T.H.T.K.L, M.Kes, dr. Ervina Mariani Sp.T.H.T.K.L, M.Kes, dr. Alfrida, Sp.T.H.T.K.L, dan dr. Ade Chandra, Sp.T.H.T.K.L atas segala bantuan dan bimbingannya selama penulis menempuh pendidikan.
9. Hayati Pide, S.T dan Alm.Mustari atas segala bantuan administrasi selama penulis menempuh pendidikan.
10. Seluruh pihak yang tidak sempat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu penulis selama menjalani pendidikan sehingga selesainya karya akhir ini.

Selain itu, penulis menghaturkan terimakasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada orang tua penulis, Ayahanda Ir. Sudioanto Djasmin, dan Ibunda Endang Tuti Kardiani, SE, MM, Ayah mertua Drs. Mudjiono dan Ibu mertua Suarti Said, S.Sos, serta saudara penulis Adrianto Dimas ST, Astrini Desintha Iraniza,S.Kg yang telah mendampingi,



memberikan semangat, dukungan, doa serta ketulusan , kesabaran , kasih sayang yang begitu berarti selama penulis menempuh pendidikan.

Kepada suami tercinta drg. Zuhud Hendra Cahyana dan anakku tersayang Binar Elok Gemintang yang secara ikhlas memberikan waktu yang seharusnya hak kalian, dukungan, doa, semangat dengan penuh ketulusan , kesabaran , kasih sayang menjadi penyemangat dan menguatkan penulis selama penulis menempuh pendidikan. Tesis ini penulis dedikasikan untuk kalian.

Penulis menyadari sepenuhnya atas segala keterbatasan dan kekurangan dalam penulisan karya akhir ini, olehnya saran , kritik yang menyempurnakan karya akhir ini akan penulis terima dengan segala kerendahan hati. Semoga Allah Subhanahu wa Ta'ala melimpahkan rahmat dan kasih-Nya serta membalas budi baik mereka yang telah mendidik dan memberi dorongan kepada penulis

Makassar,

Amelia Dian Utami



ABSTRAK

AMELIA DIAN UTAMI. *Identifikasi Mikrobiom pada Penderita Rinosinusitis Kronis dengan dan Tanpa Polip: Telaah Berdasarkan Pemeriksaan Next Generation 16-s Sequencing* (dibimbing oleh Muh. Fadjar Perkasa, Riskiana Djamin, dan Burhanuddin Bahar).

Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi komunitas mikrobiom pada pasien dengan rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip.

Penelitian dilakukan secara kasus-kontrol terhadap dua puluh orang pasien. Pengidentifikasi mikrobiom dilakukan pada prosesus uncinatus kompleks ostiomeatal dengan menggunakan teknik pemeriksaan *Next Generation 16-s Sequencing*. Pemeriksaan histopatologi dilakukan pada kelompok rinosinusitis kronis dengan polip nasi.

Hasil penelitian menunjukkan film bakteri dominan pada pasien rinosinusitis kronis pada penelitian ini, yaitu *actinobacteria*, *bacteroidetes*, *firmicutes fusobacteria*, dan *proteobacteria*. Terdapat penurunan persentase jumlah dari bakteri komensal, yaitu *actinobacteria* dan terjadi peningkatan persentase jumlah bakteri patogen, yaitu *proteobacteria*. Terdapat peningkatan kelimpahan komunitas mikrobiom bakteri dan penurunan keragaman pada kelompok rinosinusitis kronis tanpa polip nasi yang menunjukkan adanya disbiosis dari komunitas mikrobiom. Pada keragaman Alfa tidak terdapat perbedaan keragaman dalam kelompok pasien rinosinusitis kronis tanpa polip dan dengan polip. Pada keragaman Beta didapatkan hasil bahwa kedua kelompok rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip variasi intergrup lebih besar dibandingkan variasi antargrup.

Kata kunci: rinosinusitis kronis, mikrobiom, *Next Generation 16-s Sequencing*



ABSTRACT

AMELIA DIAN UTAMI. *The Microbiome Identification in Chronic Rhinosinusitis with and without Polyps, a Review Based on the Next Generation 16s Sequencing Analysis* (supervised by **Muh. Fadjar Perkasa, Riskiana Djamin, and Burhanuddin Bahar**)

This study aimed to identify macrobiome communities in patients with chronic rhinosinusitis with and without polyps.

The study was conducted using the case control technique on 20 patients. The uncinata process of the ostiomeatal complex was examined in order to identify the microbiome using the Next Generation 16s Sequencing Analysis. The histopatology examination was conducted on the chronic rhinosinusitis with nasal polyps group.

The study results indicated that the dominant bacterial phylum in chronic rhinosinusitis patients in this study, namely the Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicures Fusobacteria, and Proteobacteria. There was a decrease in the percentage of the number of commensal bacteria, namely the Actino bacteria and an increase in the percentage of the number of pathogenic bacteria, namely Proteobacteria. There was an increase in the abundance of the bacterial microbiom community and a decrease in the diversity in the group of chronic rhinosinusitis without polyps, which showed the presence of disbiosis of the microbiome community. In alpha diversity, there was no difference in the diversity in the group of patients with chronic rhinosinisitis without polyps and with polyps, in bête diversity, it was found that both groups of chronic rhonosinisitis with and without polyps. The variation within the group was greater compared to the variation of the inter group.

Keywords: *chronic rhinosinusitis, microbiome, Next Generation 16s Sequencing*



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	iv
PRAKATA	v
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR GRAFIK	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
. Rumusan Masalah	7
. Tujuan Penelitian	8



D. Hipotesis	9
E. Manfaat Penelitian	9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	11
A. Anatomi Hidung dan Sinus Paranasal	11
B. Fisiologi Hidung dan Sinus Paranasal	18
C. Barrier Epitel dan Transport Mukosiliar	20
D. Rinosinusitis Kronis	25
E. Bakteriologi	36
F. Mikrobiom	39
G. Kultur Independen Bakteri	48
H. <i>Next Generation Sequencing</i>	50
I. Kerangka Teori	54
J. Kerangka Konsep	55
BAB III METODE PENELITIAN	56
A. Desain Penelitian	56
B. Tempat dan Waktu Penelitian	56
C. Populasi Penelitian	56
D. Sampel dan Cara Pengambilan Sampel Penelitian	57
E. Besar Sampel	57
F. Kriteria Inklusi dan Eksklusi	57



G. Izin Penelitian dan Ethical Clearance	58
H. Alat dan Bahan Penelitian	59
I. Prosedur Penelitian	62
J. Identifikasi dan klasifikasi variabel penelitian	76
K. Definisi Operasional	76
L. Pengolahan dan Analisis Data	80
M. Alur Penelitian	81
N. Biaya Penelitian	82
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	83
A. HASIL PENELITIAN	83
B. PEMBAHASAN	111
C. KETERBATASAN PENELITIAN	128
BAB V PENUTUP	129
A. KESIMPULAN	129
B. SARAN	130
DAFTAR PUSTAKA	131
LAMPIRAN	138



DAFTAR TABEL

Nomor		Halaman
1.	Fungsi hidung dan sinus paranasalis	19
2.	Faktor yang berperan dalam RSK	28
3.	Gejala dan tanda yang berhubungan dengan diagnosa RSK	30
4.	Karakteristik umur, jenis kelamin pasien rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip	84
5.	Hasil Pemeriksaan Histopatologi pasien rinosinusitis kronis dengan Polip	85
6.	Kluster filum dominan bakteri pada rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip	87
7.	Komunitas filum dominan mikrobiom dan presentase pada rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip	92
8.	Perbandingan komunitas filum bakteri komensal dan patogen pada rinosinusitis kronis tanpa polip	94
9.	Perbandingan komunitas filum bakteri komensal dan patogen pada rinosinusitis kronis dengan polip	94
10.	Proporsi perbandingan filum bakteri komensal dan patogen pada rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip	95
11.	Presentase kelimpahan mikrobiom pada OTU (<i>Operation Taxonomy Unit</i>) atau phylotipe yang dominan diklasifikasikan berdasarkan urutan Filum, Ordo, Famili dan Genus pada rinosinusitis kronis tanpa polip	96
12.	Presentase kelimpahan mikrobiom pada OTU	98



(*Operation Taxonomy Unit*) atau phylotipe yang dominan diklasifikasikan berdasarkan urutan Filum, Ordo, Famili dan Genus pada rinosinusitis kronis dengan polip

- | | | |
|-----|---|-----|
| 13. | Kelimpahan dan keragaman Genus berdasarkan Heat Map pada masing-masing sampel pasien rinosinusitis kronis dengan polip | 103 |
| 14. | Kelimpahan dan keragaman Genus berdasarkan Heat Map pada masing-masing sampel pasien rinosinusitis kronis tanpa polip | 105 |
| 15. | Indeks Shannon, Indeks Chao1, Keragaman <i>Phylogenetic</i> , dan Indeks Spesies terobervasi pada rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip | 109 |
| 16. | Analisa Anosim (Analysis of Similarity) | 110 |



DAFTAR GAMBAR

Nomor		Halaman
1.	Bagian Luar Hidung	12
2.	Struktur anatomi dinding lateral hidung	13
3.	Anatomi Sinus Paranasalis	14
4.	Barier epitel mukosa sinus paranasalis	23
5.	Faktor yang mendasari patofisiologi RSK	27
6.	Gambaran interaksi host-mikrobiom, dengan hipotesa terjadi gangguan pada fungsi barier mukosa dan memicu terjadinya inflamasi pada rinosinusitis kronis	44
7.	Langkah- langkah prosedur sekuensing	53
8.	Pohon taksonomi mikrobiom pada rinosinusitis kronis dengan polip	88
9.	Pohon taksonomi mikrobiom pada rinosinusitis kronis tanpa polip	89
10.	Distribusi pada tingkatan genus bakteri pada rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip	91



DAFTAR GRAFIK

Nomor		Halaman
1.	Identifikasi jumlah OTU (<i>Operation Taxonomy Unit</i>) pada sampel rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip	86
2.	Presentase komunitas filum dominan mikrobiom pada rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip	93
3.	Distribusi kelimpahan relatif dari 10 spesies terbanyak pada rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip	101
4.	Kelimpahan dan keragaman Filum dan Genus berdasarkan Heatmap pada masing-masing sampel pasien rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip	102
5.	Kurva <i>Rarefaction</i> pada spesies yang terobservasi dan kelompok rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip (a) Kurva <i>Rarefaction</i> pada kelompok spesies yang diobservasi	107
6.	Kurva <i>Rarefaction</i> pada spesies yang terobservasi dan kelompok rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip (b) Kurva <i>Rarefaction</i> pada kelompok rinosinusitis dengan dan tanpa polip	108



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor

1. Keterangan rekomendasi etik (*Ethical Clearance*)
2. Dokumentasi penelitian
3. Hasil penelitian



DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN

Singkatan	Arti dan Keterangan
EPOS	<i>European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps</i>
RSK	Rinosinusitis kronis
CRSwNP	Rinosinusitis kronis dengan polip nasi
CRSsNP	Rinosinusitis kronis tanpa polip nasi
KOM	Kompleks Ostiomeatal
TJs	<i>Apical tight junction</i>
AJs	<i>Adherens junction</i>
DAMPs	<i>Danger Associated Molecular Patterns</i>
IL-1 β	Interleukin - 1 β
IL-6	Interleukin - 6
TNF α	<i>Tumor necrosis factor α</i>
IL-8	Interleukin -8
MIP-1	<i>Macrophage Inhibitory Protein- 1</i>
MCP-1	<i>Monocyte Chemoattractant Protein -1</i>
RANTES	<i>Regulated on activation, normal T cell expressed and secreted</i>
AAO-HNS	American Association Otolaryngology Head and Neck Surgery



CT-Scan	<i>Computed Tomography Scanning</i>
MRI	<i>Magnetic Resonance Imaging</i>
BSEF	Bedah Sinus Endoskopik Fungsional
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
NGS	<i>Next Generation Sequencing</i>
T-RFLP	<i>Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism</i>
TLR	<i>Tol- Like Receptor</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
dNTPs	Deoxynucleotide triphosphates
16s rRNA	<i>16S ribosomal Ribonucleic acid</i>
16S rDNA	<i>16S ribosomal deoxyribose nucleatic acid</i>
OTU	<i>Operational Taxonomy Unit</i>



BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG MASALAH

Rinosinusitis kronis adalah peradangan pada mukosa hidung dan sinus paranasalis selama lebih dari kurun waktu tiga bulan (Cain, *et al.*, 2016). Menurut konsensus internasional, *European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps (EPOS)* tahun 2012, definisi dari rinosinusitis pada orang dewasa adalah suatu proses inflamasi dari hidung yang ditandai dengan dua atau lebih gejala dengan salah satu gejala harus mencakup hidung tersumbat/ obstruksi/ kongesti atau adanya sekret hidung (anterior / posterior *nasal drip*) : ± nyeri wajah / tekanan daerah sinus, ± penurunan atau hilangnya daya penghidu. Dan salah satu temuan endoskopi : 1) polip nasi , dan /atau 2) sekret mukopurulen yang berasal dari meatus nasi media, dan/atau 3) edema / obstruksi mukosa terutama pada meatus nasi media, dan/ atau gambaran tomografi komputer terdapat perubahan mukosa pada daerah kompleks osteomeatal dan/ atau sinus dengan perlangsungan lebih dari 12 minggu (Fokken *et al.*, 2012).

Rinosinusitis kronis merupakan suatu penyakit yang menyerang sekitar 13-17% dari seluruh populasi dewasa di Amerika Serikat berdasarkan survey dari Badan Nasional Kesehatan Amerika Serikat tahun 2009 (Tan *et al.*, 2013). Penelitian terbaru di Sao Paulo



menemukan tingkat kejadian rinosinusitis kronis berdasarkan kriteria dari EPOS adalah sebesar 5,51 %. Prevalensi dari penggunaan kode ICD-9 untuk rinosinusitis kronis oleh dokter di Omlsted Minnesota Amerika Serikat sebesar 2% dari populasi (Bachert *et al*, 2014) .Di Korea berdasarkan survey populasi pada tahun 1991, penyakit Rinosinusitis kronis ditemukan hanya sekitar 1 %, namun meningkat menjadi 7% pada tahun 2011 (Tan *et al.*, 2013).

Di Indonesia, menurut catatan medik Rumah Sakit Dr. Sardjito selama 5 tahun (1999-2003) frekuensi rinosinusitis kronis sebesar 5,3% (3.526 pasien dari 66.595 pasien) dari seluruh pasien di Poliklinik T.H.T.K.L. Insidens kasus baru rinosinusitis pada pasien dewasa yang datang di Divisi Rinologi Departemen T.H.T.K.L Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo bulan Januari- Agustus 2005 adalah 300 pasien dengan presentasi kasus sebesar 69% (Winarti S, 2005). Sedangkan di Rumah Sakit Pendidikan Makassar periode tahun 2003-2007 jumlah kasus rinosinusitis yang tercatat sebesar 41,5% (Rahmy A , 2008).

Lebih dari sepuluh dekade, berbagai penelitian memaparkan bahwa etiologi dan patofisiologi dari rinosinusitis kronis sangat kompleks dan melibatkan berbagai faktor. Berbagai macam hipotesis

ogi dipaparkan bertujuan untuk menjelaskan spektrum klinis
lian rinosinusitis kronis. Hipotesis tersebut menggambarkan
ep bahwa rinosinusitis kronis merupakan disfungsi dari beberapa



faktor yang saling mempengaruhi antara karakteristik host individu dan faktor eksogen terhadap host. Enam hipotesis teori yang sering di diskusikan sebagai faktor etiologi dan patogenesis rinosinusitis adalah (1) hipotesis jamur, (2) hipotesis superantigen, (3) hipotesis biofilm, (4) hipotesis mikrobiom, (5) hipotesis *eicosainoid*, (6) hipotesis barrier imunitas (Lam *et al.*, 2015).

Pemahaman mengenai hubungan kompleks manusia dengan komunitas mikrobiom pada sinus paranasalis mulai mendapat perhatian pada beberapa tahun belakangan ini. Hampir sama dengan penelitian pada daerah traktus gastrointestinal, komunitas mikrobiom pada sinus paranasalis banyak memberikan kontribusi dalam mempertahankan keadaan sehat dari mukosa sinus paranasalis, dimana keadaan disbiosis —gangguan keseimbangan— akan berkontribusi pada terjadinya reaksi inflamasi. Konsep sederhana mengenai “host” yang berinteraksi dengan satu bakteri patogen telah digantikan oleh hubungan yang lebih kompleks antara komunitas mikrobiom dengan “host” (Ramakrishnan *et al.*, 2016).

Usaha untuk mengetahui dan menentukan komunitas mikroba atau mikrobiom pada kavitas sinonasal manusia, baik yang sehat ataupun dengan rinosinusitis kronis, dengan menggunakan metode kultur

independen maupun kultur independen telah dilakukan. Namun tidak terdapat pola konsisten yang muncul untuk melibatkan organisme tertentu sebagai penyebab penyakit, namun data menyebutkan bahwa



keadaan ketidakseimbangan atau disbiosis mikroorganisme dapat ditemukan pada pasien dengan rinosinusitis yang ditandai dengan terjadi penurunan keanekaragaman mikroba pada sinus paranasalis (Stevens *et al.*, 2015).

Sebelum era metode kultur independen banyak dilakukan, cara kultur konvensional telah menemukan bahwa *Staphylococcus* dengan koagulase-negatif dan *Staphylococcus aureus* sebagai patogen penting dalam patogenesis rinosinusitis kronis. (Chalermwatanachai T *et al.*, 2015). Teknik kultur dependen biasanya tidak dapat menggambarkan keragaman mikrobiota pada satu sampel, karena media kultur tidak mampu menyediakan kondisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan keseluruhan bakteri. Teknik ini kurang sensitif, lebih mahal, namun dapat digunakan untuk penentuan *in vitro* sensitivitas antibiotik patogen. (Sivasubramaniam , 2018).

Perkembangan teknik kultur independen secara molekular dapat lebih mendeteksi berbagai macam jenis bakteri, dan memperlihatkan lebih banyak keanekaragaman bakteri dibandingkan dengan kultur konvensional. Dengan demikian, etiologi dari rinosinusitis kronis lebih ke arah polimikroba dan bakteri anaerob mungkin lebih memegang peranan penting dari yang telah diduga. Namun bagaimanapun juga,

bakteri yang dideteksi dengan cara kultur konvensional masih memiliki peranan secara klinis. (Chalermwatanachai T *et al.*, 2015).



Mempelajari komunitas mikrobiom merupakan pendekatan yang berguna untuk mencari jawaban mengenai pertanyaan yang belum terpecahkan tentang rinosinusitis kronis, meningkatkan pengetahuan tentang proses inflamasi yang terjadi, beberapa penelitian telah dilakukan untuk menginvestigasi hubungan antara rinosinusitis kronis dan struktur mikroba lokal yang diisolasi dari sinus atau cavum nasi. Serta beberapa penelitian terakhir telah melakukan analisa genomik untuk mengevaluasi komunitas mikrobiom pada sinus dan cavum nasi, telah menemukan hubungan antara beberapa mikroorganisme tertentu dan rinosinusitis kronis (Mahdavinia *et al.*, 2016).

Studi terkait komunitas mikrobiom telah dilakukan oleh Cleland, 2016 di Australia dengan teknik amplifikasi *Polymerase Chain Reaction* + *Pyrosequencing* menemukan bahwa total 456 bakteri terdeteksi pada studi ini. *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis* merupakan spesies yang paling banyak terdeteksi (masing-masing 88%), diikuti oleh *Corynebacterium segmentosum* (71%), *Staphylococcus aureus* (71%), dan *Corynebacterium tuberculosteariticum* (65%) (Cleland *et al.*, 2016). Boase pada tahun 2013 di Australia juga melakukan studi dengan menggunakan analisa Ibis T5000-PCR dipasangkan dengan spektrometri ionisasi menemukan 79 % pasien rinosinusitis kronis memiliki lebih dari satu

bakteri pada mukosanya. *Staphylococcus aureus* adalah spesies yang banyak dideteksi (61%), *Staphylococcus epidermidis* (55%),



Nocardia Asteroides (24%) , *Haemophilus Influenza* (13%) dan *Pseudomonas Aerogenosa* (8%) (Boase *et al.*, 2013). Koeller tahun 2018 di Jerman menggunakan analisa mikrobiom dengan teknik 16s RNA gen amplicon mendeteksi spesien yang terbanyak adalah *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis*, *Corynebacterium* spp. dan *Staphylococcus aureus* (Koeller *et al.*, 2018).

Beberapa penelitian lanjut masih harus dilakukan untuk memahami peranan mikroba dan mikroorganisme dalam proses sehat dan sakit, sebelum memulai pemberian terapi pengobatan sebaiknya dipertimbangkan secara hati-hati dan rasional jenis terapi yang akan dapat memanipulasi komunitas mikrobiom mengingat mikrobiom memiliki peranan dalam keadaan sehat dari mukosa sinonasal. Pemberian terapi yang tepat guna, efektif dan sesuai ketentuan akan memberikan keadaan yang menguntungkan. Pemberian antibiotik terlalu awal atau terlalu sering akan menimbulkan efek negatif, walaupun dalam proses lambat, diluar gangguan awal terhadap komunitas mikrobiom (Ramakrishnan *et al.*, 2016).

Melakukan penelitian mengenai komunitas mikrobiom kemungkinan akan bermanfaat sebagai pendekatan untuk mencari jawaban mengenai patofisiologi rinosinusitis kronis, hubungan antara komunitas mikrobiom dan proses inflamasi, kemungkinan hubungan awal antara mikroba dan rinosinusitis kronis itu sendiri, serta



investigasi komunitas mikrobiom yang berhubungan dengan modalitas terapi. Disregulasi interaksi antara sistem kekebalan tubuh dan bakteri komensal akan memberikan kontribusi terhadap perkembangan dan keadaan kronis penyakit inflamasi (Chalermwatanachai *et al.* ,2016).

Sampai saat ini penulis belum menemukan laporan penelusuran publikasi yang terkait mengenai identifikasi mikrobiom pada pasien rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip berdasarkan pemeriksaan *Next Generation 16s Sequencing* di Asia Tenggara, Indonesia ,terkhusus di Makassar. Berdasarkan hal tersebut diatas mendorong penulis untuk meneliti tentang :

“IDENTIFIKASI MIKROBIOM PADA PASIEN RINOSINUSITIS KRONIS DENGAN DAN TANPA POLIP (TELAAH BERDASARKAN PEMERIKSAAN NEXT GENERATION 16S SEQUENCING) “

B. RUMUSAN MASALAH

Berdasarkan latar belakang masalah diatas dapat dirumuskan pertanyaan sebagai yaitu :

1. Bagaimana komunitas mikrobiom yang terdapat pada pasien rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip ?
2. Berapa presentase masing-masing komunitas mikrobiom yang dominan pada pasien rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip ?
3. Bagaimana kelimpahan komunitas mikrobiom pada pasien rinosinusitis kronik dengan dan tanpa polip ?



4. Bagaimana keragaman komunitas mikrobiom pasien rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip ?
5. Bagaimana perbandingan keragaman komunitas mikrobiom pasien rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip?

C. TUJUAN PENELITIAN

1. Tujuan Umum

Mengidentifikasi komunitas mikrobiom pada pasien dengan rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip.

2. Tujuan Khusus

- a. Mengetahui jenis komunitas mikrobiom pada pasien rinosinusitis kronis dengan polip.
- b. Mengetahui jenis komunitas mikrobiom pada pasien rinosinusitis kronis tanpa polip.
- c. Mengetahui presentase masing- masing komunitas mikrobiom yang dominan pada pasien rinosinusitis kronis dengan polip .
- d. Mengetahui presentase masing- masing komunitas mikrobiom yang dominan pada pasien rinosinusitis kronis tanpa polip nasi.
- e. Mengetahui kelimpahan relatif komunitas mikrobiom pada pasien rinosinusitis kronis dengan polip.
- f. Mengetahui kelimpahan relatif komunitas mikrobiom pada pasien rinosinusitis kronis tanpa polip.



- g. Mengetahui keragaman komunitas mikrobiom pada pasien rinosinusitis kronis dengan polip nasi.
- h. Mengetahui keragaman komunitas mikrobiom pada pasien rinosinusitis kronis tanpa polip nasi.
- i. Membandingkan keragaman komunitas mikrobiom pada pasien rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip.

D. HIPOTESIS PENELITIAN

Kelimpahan komunitas mikrobiom pada kelompok rinosinusitis kronis tanpa polip lebih besar dibandingkan kelimpahan pada kelompok rinosinusitis kronis dengan polip namun keragaman komunitas mikrobiom pada kelompok rinosinusitis kronis dengan polip lebih banyak dibandingkan pasien rinosinusitis kronis tanpa polip .

E. MANFAAT PENELITIAN

1. Hasil Penelitian ini diharapkan menjadi sumber informasi mengenai jenis spesies, presentase jumlah dan kelimpahan komunitas mikrobiom pada pasien rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip di Makassar.
2. Sebagai dasar acuan penelitian klinis lanjutan yang berhubungan komunitas mikrobiom pada pasien rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip di Makassar.



3. Hasil penelitian ini diharapkan dapat membantu dalam pemilihan antibiotik sebagai terapi medikamentosa pada pasien rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip di Makassar.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. ANATOMI HIDUNG DAN SINUS PARANASALIS

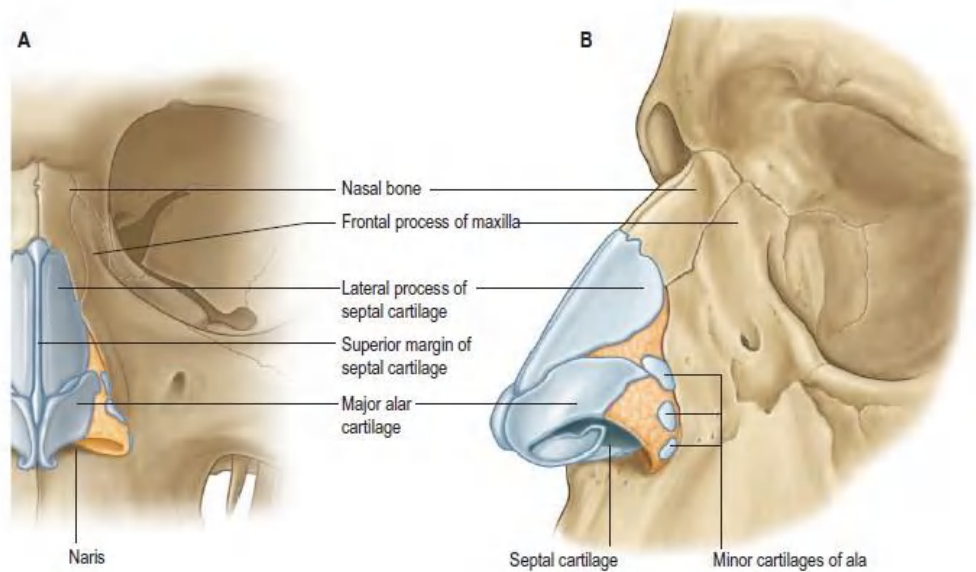
Anatomi Hidung

Hidung terdiri dari hidung bagian luar atau pyramid hidung dan rongga hidung. Struktur hidung luar dengan bagian-bagiannya dari atas ke bawah : 1). Pangkal Hidung (*bridge*), 2) batang hidung (dorsum nasi), 3). Puncak hidung (tip), 4). Ala Nasi, 5). Kolumela, 6). Lubang hidung (nares anterior). Hidung luar dibentuk oleh kerangka tulang dan tulang rawan yang dilapisi oleh kulit, jaringan ikat, dan beberapa otot kecil yang berfungsi untuk melebarkan atau menyempitkan lubang hidung. Kerangka tulang terdiri dari 1). Tulang hidung (os nasal), 2). Processus frontalis os maksilla dan 3). Proccesus nasalis os frontal ; sedangkan kerangka tulang rawan terdiri dari beberapa pasang tulang rawan yang terletak di bagian bawah hidung , yaitu : 1) . sepasang kartilago nasalis superior, 2) sepasang kartilago nasalis lateralis inferior yang disebut juga sebagai kartilago ala mayor dan 3). Tepi anterior kartilago septum (Soetjipto D, 2012).

Tiap kavum nasi mempunyai 4 buah dinding yaitu dinding medial, lateral, inferior dan superior. Dinding medial adalah septum. Septum dibentuk oleh tulang dan tulang rawan. Bagian tulang



adalah 1). Lamina perpendikularis os ethmoidalis, 2). Vomer, 3). Krista nasalis os maksila, 4). Krista nasalis os palatina. Bagian tulang rawan adalah 1). Kartilago septum (lamina kuadrangularis) dan 2). Kolumela (Soetjipto D , 2012 ; Leung *et al.* ,2014).



Gambar 1. Bagian Luar Hidung (Standing S, 2008)

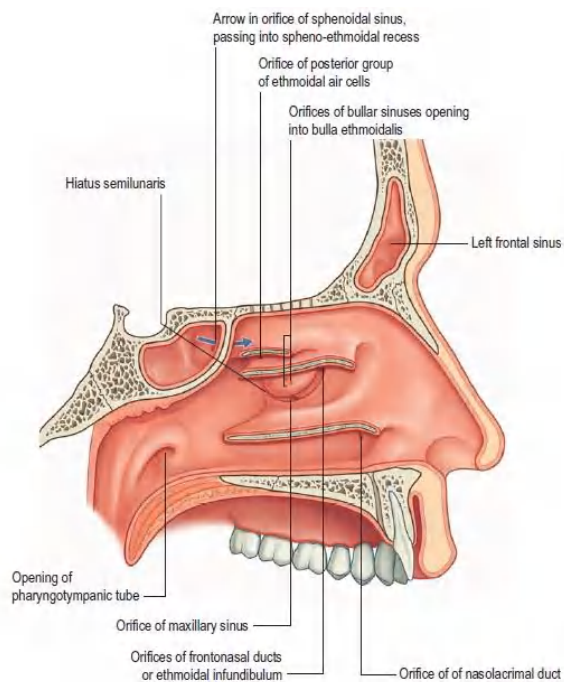
Meatus Inferior terletak diantara konka inferior dengan dasar hidung dan dinding lateral rongga hidung. Pada meatus inferior terdapat muara (ostium) dari duktus lakrimalis (Hwang *et al.*,2009) .

Meatus medius merupakan salah satu celah yang penting. Di sini terdapat muara sinus maksila, sinus frontal dan bagian anterior sinus etmoid. Di balik bagian anterior konka media yang letaknya menggantung, pada dinding lateral terdapat celah yang berbentuk

bulan sabit yang dikenal sebagai infundibulum. Ada suatu muara atau celah yang berbentuk bulan sabit yang menghubungkan meatus



medius dengan infundibulum yang dinamakan hiatus semilunaris. Dinding inferior dan medial infundibulum membentuk tonjolan yang berbentuk seperti laci dan dikenal sebagai prosesus uncinatus. Di atas infundibulum ada penonjolan hemisfer yaitu bula etmoid yang dibentuk oleh salah satu sel etmoid. Ostium sinus frontal, antrum maksila, dan sel-sel etmoid anterior biasanya bermuara di infundibulum. Sinus frontal dan sel-sel etmoid anterior biasanya bermuara di bagian anterior atas, dan sinus maksila bermuara di posterior muara sinus frontal (Hwang *et al.*, 2009).



Gambar 2. Struktur anatomi dinding lateral hidung (Standring S, 2008)

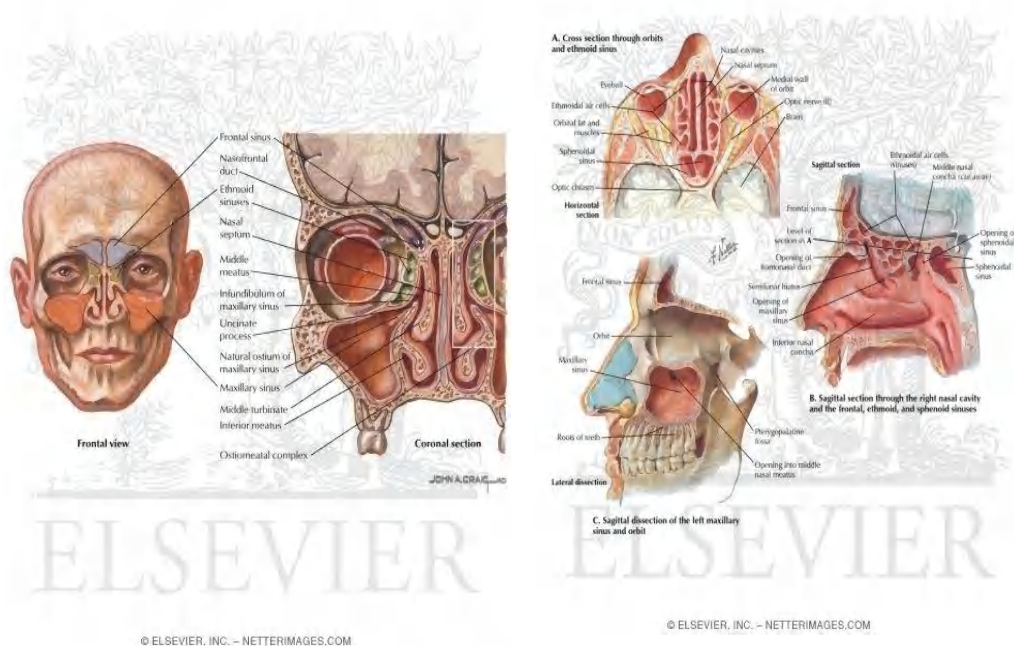
Meatus superior atau fisura etmoid merupakan suatu celah yang terletak di atas konka hidung. Meatus inferior terletak di antara septum dan massa lateral os etmoid di atas konka hidung. Meatus middle terletak di antara septum dan massa lateral os etmoid di atas konka hidung. Kelompok sel-sel etmoid posterior bermuara di sentral meatus superior.



superior melalui satu atau beberapa ostium yang besarnya bervariasi (Hwang *et al.*, 2009).

Anatomi Sinus Paranasalis

Terdapat delapan sinus paranasal, empat buah pada tiap-tiap sisi hidung ; sinus frontal kanan dan kiri, sinus etmoid kanan dan kiri (anterior dan posterior), sinus maksilla kanan dan kiri (antrum highmore) dan sinus sphenoid kanan dan kiri (Hwang *et al.*, 2009).



Gambar. 3 Anatomi Sinus Paranasalis (Elsevier Inc, 2015)

1. Sinus Frontal

Sinus frontal yang terletak di os frontal mulai terbentuk sejak bulan empat fetus, berasal dari sel-sel resesus frontal atau dari sel-sel



infundibulum etmoid. Bentuk dan ukuran sinus frontal sangat bervariasi tergantung pada derajat pneumatisasinya. seringkali juga sangat berbeda bentuk dan ukurannya dari sinus dan pasangannya, kadang-kadang juga ada sinus yang rudimenter. Bentuk sinus frontal kanan dan kiri biasanya tidak simetris, satu lebih besar dari pada lainnya dan dipisahkan oleh sekat yang terletak di garis tengah. Kurang lebih 15% orang dewasa hanya mempunyai satu sinus frontal dan kurang lebih 5% sinus frontalnya tidak berkembang (Hwang *et al.*, 2009 ;Leung *et al.*, 2014).

2. Sinus Sfenoid

Sinus sfenoid terbentuk pada janin berumur 3 bulan sebagai pasangan evaginasi mukosa di bagian posterior superior kavum nasi. Letaknya di dalam korpus os etmoid dan ukuran serta bentuknya bervariasi. Sepasang sinus ini dipisahkan satu sama lain oleh septum tulang yang tipis, yang letaknya jarang tepat di tengah, sehingga salah satu sinus akan lebih besar daripada sisi lainnya. Letak os sfenoid adalah di dalam os sfenoid di belakang sinus etmoid posterior. Sinus sfenoid dibagi dua oleh sekat yang disebut septum intersfenoid (Hwang *et al.*, 2009 ; Leung *et al.*, 2014).

Sinus Sfenoid banyak berperan penting dalam bidang neurovaskular. Arteri carotis interna berada di sebelah lateral dari sinus sfenoid, sehingga menyebabkan sinus cavernosus menghasilkan



penonjolan pada dinding lateral sinus sfenoid pada kurang lebih 65% individu (Hwang *et al.*, 2009 ; Leung *et al.*, 2014).

3. Sinus Maksilla

Sinus Maksilla atau disebut juga *Antrum Higmore* , merupakan sinus paranasal yang paling besar, berbentuk pyramid ireguler dengan dasar menghadap ke fossa nasalis dan puncaknya kearah apeks prosesus zigomatikus os maksilla. Dinding medial atau dasar antrum di bentuk oleh lamina vertikal os palatum, prosesus uncinatus, prosesus maksilaris konka inferior, dan sebagian kecil os lakrimalis. Dinding atas memisahkan rongga sinus dengan orbita. Dinding postero-inferior atau dasarnya biasa paling tebal dan dibentuk oleh alveolar os maksila atas dan bagian luar palatum durum. Dinding anterior berhadapan dengan fossa kanina. Ostium sinus maksila berada di sebelah superior dinding medial sinus dan bermuara ke hiatus semilunaris melalui infundibulum etmoid. Antrum mempunyai hubungan dengan infundibulum di meatus medius melalui lubang kecil, yaitu ostium maksila yang terdapat dibagian anterior atas dinding medial sinus. Ostium ini biasanya terbentuk dari membran. Jadi ostium tulangnya berukuran lebih besar dari pada lubang yang sebenarnya (Hwang *et al.*, 2009 ; Leung *et al.*, 2014).

4. Sinus Ethmoid

Dari semua sinus paranasal, sinus etmoid yang paling bervariasi akhir- akhir ini dianggap paling penting, karena dapat merupakan



fokus infeksi bagi sinus-sinus lainnya. Sinus etmoid sudah ada pada waktu bayi lahir kemudian berkembang sesuai dengan bertambahnya usia sampai mencapai masa pubertas. Pada orang dewasa bentuk sinus etmoid seperti piramid dengan dasarnya di bagian posterior (Hwang *et al.*, 2009 ; Leung *et al.*, 2014).

Sinus Ethmoid merupakan struktur yang penting pada hidung dengan anatomi yang kompleks. Sel-sel ethmoid atau labirin terletak di kiri-kanan kavum nasi kira-kira sebelah lateral di setengah atau sepertiga atas hidung dan di sebelah medial orbita. Dinding lateral dari sinus ethmoid, atau lamina papirasea, membentuk dinding tipis sebelah medial dari orbita. Sinus etmoid berongga – rongga terdiri dari sel-sel yang menyerupai sarang tawon, yang terdapat di dalam massa bagian lateral os etmoid, yang terletak di antara konka media dan dinding medial orbita Terdapat dua kelompok sinus ethmoidalis yaitu kelompok anterior dan posterior, dimana kelompok anterior bermuara ke meatus medius sedangkan kelompok posterior bermuara ke meatus superior. Sinus ethmoidalis anterior dipisahkan oleh sinus ethmoidalis posterior oleh lempeng tulang transversal yang tipis. Tempat perlekatan konka media pada dinding lateral hidung juga merupakan patokan letak perbatasan kelompok anterior dan posterior. Kelompok anterior terdapat di depan dan dibawahnya sedangkan kelompok

posterior ada diatas dan dibelakangnya. Pada pemeriksaan, ukuran dan letak kelompok tersebut dapat berbeda jauh, biasanya kelompok



posterior lebih sedikit jumlahnya dibandingkan kelompok anterior namun ukurannya lebih besar (Hwang *et al.*, 2009; Leung *et al.*, 2014).

5. Kompleks Ostiomeatal (KOM)

Kompleks Ostiomeatal (KOM) merupakan celah pada dinding lateral hidung yang dibatasi oleh konka media dan lamina papirasea. Struktur anatomi penting yang membentuk KOM adalah prosesus uncinatus, infundibulum ethmoid, hiatus semilunaris, bulla ethmoid, agger nasi, dan resesusus frontal. KOM merupakan unit fungsional yang merupakan tempat ventilasi dan drainase dari sinus-sinus yang letaknya di anterior. Jika terjadi obstruksi pada celah sempit ini, maka terjadi perubahan patologis yang signifikan pada sinus -sinus terkait (Soetjipto D, 2012).

B. FISILOGI HIDUNG DAN SINUS PARANASALIS

Berdasarkan teori struktural , teori revolusioner dan teori fungsional, fungsi fisiologis hidung dan sinus paranasalis adalah : 1). Fungsi respirasi untuk mengatur kondisi udara (*air conditioning*), penyaring udara, humidifikasi, dan penyeimbang dalam pertukaran tekanan dan mekanisme imunologik lokal; 2). fungsi penghidu karena terdapatnya kosa olfaktorius dan reservoir udara untuk menampung stimulus penghidu; 3) fungsi fonetik yang berguna untuk resonansi suara, bantu proses bicara dan mencegah hantaran suara sendiri melalui



konduksi tulang; 4). Fungsi statis dan mekanis untuk meringankan beban kepala, proteksi terhadap trauma dan pelindung panas; 5). Refleks nasal (Soetjipto ,2012 ;Suh, 2012).

Tabel 1. Fungsi hidung dan sinus paranasalis	
Filtrasi	<ul style="list-style-type: none"> Menyaring bahan partikulat Transpor organism asing, iritan dan allergen Melindungi dari partikel yang besar agar tidak mencapai saluran nafas bawah
Menghangatkan	<ul style="list-style-type: none"> Meningkatkan temperatur inspirasi, pada udara dingin menghantarkan udara hangat ke saluran nafas bawah
Humidifikasi	<ul style="list-style-type: none"> Meningkatkan kelembapan udara inspirasi, pada udara kering Menghantarkan udara yang lembap ke saluran nafas bawah Mucociliary clearance Pergerakan mucus blanket melalui sinus dan hidung Transpor mucus blanket ke faring
Ventilasi	<ul style="list-style-type: none"> Meningkatkan tekanan oksigen dalam sinus Memungkinkan terdapatnya lingkungan yang normal bagi epitel respiratori

Tabel.1 dikutip dari Krouse JH *et al.*, 2006

Sistem respirasi manusia dibedakan menjadi saluran pernafasan atas dan bawah. Pada saluran pernafasan atas, udara di filtrasi, dihangatkan dan dilembabkan oleh kavum nasi, yang dikelilingi oleh struktur kavitas berbentuk lingkaran yang berisi udara disebut sinus paranasalis (Al-Hadad *et al.*, 2013).



C. BARIER EPITEL MUKOSA HIDUNG DAN SINUS PARANASALIS

Mukosa sinonasal dilapisi oleh epitel kolumnar *pseudostratified* bersilia. Epitel respirasi terdiri atas beberapa macam sel yang bervariasi yaitu sel bersilia (<75%), sel goblet yang mensekresi mukus (<20%), dan sel basal (<5%). Sel respirasi bersilia ditemukan pada sepanjang traktus respirasi kecuali daerah vestibulum nasi, dinding posterior orofaring, daerah laring, dan cabang terminal dari bronkus. Kira-kira terdapat 50-200 silia pada daerah permukaan apikal sel epitel yang bergerak terkoordinasi . Dalam kondisi normal, seluruh selaput lendir sinus dibersihkan dalam 10 menit. Berdasarkan penelitian, gerakan silia berfrekuensi sekitar 700-800 gerak/ menit, dengan transpor mukosiliar sekitar 1 cm / menit. Sel tidak bersilia memiliki karakteristik mikrovili yang melapisi daerah apeks dari permukaan sel. Fungsi sel basal belum diketahui, namun dapat dianggap sebagai sel pluripotent . Sel goblet menghasilkan glikoprotein yang bertanggung jawab terhadap ketebalan dan kekentalan mukus yang bergantung terhadap rangsang saraf simpatis dan parasimpatis. Sekitar 20-40 ml mucus dihasilkan oleh 160 cm² dari mukosa hidung normal setiap hari (Hwang *et al.*, 2009).

Frekuensi gerakan silia dapat bervariasi bergantung pada keadaan kimia, termal, mekanik, dan rangsangan hormonal. Selain itu, perubahan pH berdampak pada frekuensi gerakan silia. Gangguan pembersihan mukosiliar dapat menyebabkan stasis lendir, yang dalam



kondisi yang tertentu dapat menyebabkan terjadi pertumbuhan bakteri dan infeksi. Lendir yang dikeluarkan oleh sel goblet terdiri dari air, glikoprotein, imunoglobulin, dan leukosit. Patogen dan partikel aerosol lebih besar dari 0,5-1 μm terperangkap di lapisan gel lendir dan akhirnya dibawa ke daerah posterior ke nasofaring dan orofaring untuk ditelan. Di dalam sinus, selaput lendir diangkut menuju ostium sinus alami, meskipun terdapat ostium aksesori. Bersihan mukosiliar bertugas untuk membawa partikel yang terperangkap termasuk patogen keluar dari rongga hidung dan sinus. Lendir juga memainkan peran penting di penciuman. Zat udara olfaktan larut dalam hidung mukosa yang melapisi epitel olfaktorius sebelum respon penghidu dimulai (Suh *et al.*, 2012).

Lapisan mukus pada traktus respiratorius terdiri dari dua lapis, yaitu lapisan permukaan mukus (gel) di bagian luar dan lapisan encer di dalam (sol, serous, atau perisilier) berada pada dasar dimana silia berada. Konsep lapisan ini sudah diketahui sejak lima puluh tahun yang lalu. Lapisan permukaan akan terganti setiap 10-20 menit saat keadaan istirahat. Selaput lendir ini akan terus disekresi, dibuang, dan diganti. Proses pergantian yang cepat ini, termasuk dalam fungsi barier pada selaput lendir. Mikroorganisme dan partikel akan terperangkap dalam lapisan lendir dan dibuang melalui proses ini. Sel goblet yang

produksi glikoprotein bertanggung jawab terhadap viskositas dan elastisitas lapisan gel. Lapisan sol merupakan lapisan tipis, memiliki



viskositas rendah yang membungkus silia yang membantu silia agar dapat bergerak bebas. Lapisan lendir di daerah luar yang lebih kental disebut lapisan gel terdapat pada daerah atas pada silia hidung. Apabila terjadi perubahan viskositas sekret pada lapisan mukus, yang berubah menjadi lebih kental seperti gel, pada saat proses inflamasi di sinus maka akan menyebabkan gangguan pergerakan silia. Sitokin dan mediator peradangan lain akibat masuknya bakteri patogen pada traktus respirasi akan berdampak negatif pada fungsi silia dan menyebabkan terjadinya siklus inflamasi dan disfungsi dari silia (Mustafa *et al.*, 2015 ;Patel *et al.* ,2014).

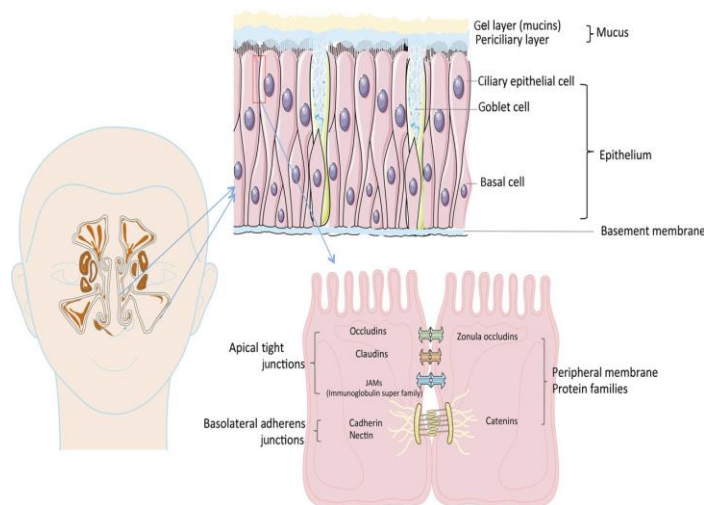
Produksi mukus pada saluran pernafasan dipengaruhi oleh berbagai stimulus, seperti virus , enterotoksin bakteri, alergen, dan mediator inflamasi. Oleh karena itu gangguan produksi mukus akan terjadi pada semua keadaan inflamasi saluran pernafasan atas, seperti infeksi virus akut, infeksi bakteri, rhinitis alergi, dan rinosinusitis kronis. Peningkatan produksi mukus, akan meningkatkan kemampuan pembersihan mikroba, namun produksi mukus yang berlebihan akan menyebabkan obstruksi dan merubah proses bersihan mukosiliar menjadi sesuatu yang patologis (Zhang *et al.*, 2016).

Fungsi barrier pada mukosa respirasi diatur oleh pertemuan antara beberapa epitel sel termasuk *apical tight junction* (TJs) dan *adherens junction* (AJs). Struktur multiprotein dari TJs dan AJs ini akan membangun hubungan antar sel dan polaritas sel, membentuk barrier



mekanik yang efektif dan sulit ditembus. TJs sangat penting dalam mempertahankan integritas epitel, lebih lanjut juga memiliki peran dalam mekanisme transduksi sinyal yang meregulasi proliferasi, diferensiasi, ekspresi dan morfogenesis dari sel epitel. Sedangkan AJs penting dalam mempertahankan perlekatan antar sel. Perlekatan antar epitel yang lemah akan memudahkan penetrasi alergi inhalan, bakteri, dan virus pada daerah subepitel (Zhang *et al.*, 2016).

Mukosa pada saluran nafas bagian atas merupakan lapisan terluar dari tubuh manusia yang bersentuhan langsung dengan udara dan partikel di dalamnya, dan merupakan garis pertama pertahanan tubuh. Merupakan bagian dari barrier fisik dan bersihan mukosiliar, terdiri dari berbagai macam sistem imunitas *innate* seperti mikrobiom saluran nafas atas, protein antimikroba, sel limfoid, sitokin dan kemokin epitel dan sistem imun adaptif yang berfungsi untuk proteksi (Zhang *et al.*, 2016).



Bar 4. Barrier epitel mukosa sinus paranasalis (Zhang *et al.*, 2016)



Mikrobiom saluran pernafasan , dalam keadaan normal, saat ini dikenal sebagai salah satu bagian garis pertama pertahanan, melindungi lapisan permukaan mukosa dari infeksi. Sel epitel dipertimbangkan sebagai bagian integral dari sistem imunitas *innate* dengan jalan menyediakan barier fisik termasuk bersihan mukosiliar, dan juga memproduksi agen antimikroba, DAMPs (*Danger Associated Molecular Patterns*) berperan dalam pengaturan antigen spesifik melalui jalur pengenalan reseptor (PRR) (Zhang *et al.*, 2016).

Sebagai konsekuensinya, apabila terjadi perubahan homeostasis dari sistem pertahanan ini, akan memberikan peran penting dalam proses inflamasi pada saluran nafas bagian atas. Secara umum dipercaya bahwa kehadiran mikroorganisme pada permukaan saluran nafas akan mengganggu kesehatan, namun pernyataan ini sangat berdasar pada hasil kultur bakteri. Perkembangan terkini mengenai kultur independen mengidentifikasi bahwa mikrobiota manusia memiliki peran penting dalam kesehatan, hal ini sangat kontras dengan pemahaman lalu. Semakin banyak keanekaragaman bakteri yang ada pada permukaan saluran nafas , maka saluran nafas akan menjadi sehat. Lingkungan mikrobiota yang sehat akan tidak hanya memberikan batasan ruang terhadap bakteri patogen, namun juga akan mensekresi agen antimikroba yang memiliki kemampuan

eliminasi bakteri patogen. Hidung bukan merupakan daerah steril bakteri , namun memiliki koloni bakteri yang tidak berbahaya, yang



berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri patogen, namun saat barrier epitel rusak, maka bakteri patogen akan dapat membentuk struktur biofilm dan melekat pada lapisan epitel, kemudian akan melepaskan bakteri patogen dengan ukuran sangat kecil, akan masuk ke dalam sel melalui lapisan barrier yang rusak dan tinggal di intra mukosa dan seluler (Zhang *et al.*, 2016).

Pada traktus respiratorius yang sehat, sel epitel berikatan kuat untuk membentuk barrier fisik terhadap patogen. Bakteri patogen yang terinhalasi terperangkap dalam mukus saluran nafas atas, dan di buang oleh sistem transport mukosiliar. Gerakan silia membawa patogen kearah nasofaring dan orofaring, yang kemudian akan dikeluarkan dengan dibatukkan atau ditelan. Dalam keadaan paparan kronik terhadap patogen, sel epitel akan mensekresi mediator inflamasi seperti sitokin (IL-1 β , IL-6, TNF α), dan kemokin (IL-8, MIP-1, MCP-1, RANTES) (Stevens *et al.*, 2015)

D. RINOSINUSITIS KRONIS

Rinosinusitis adalah peradangan pada mukosa hidung dan sinus paranasalis. Berdasarkan lama terjadinya proses inflamasi, rinosinusitis di klasifikasikan menjadi tiga yaitu rinosinusitis akut (< 4 minggu), subakut (4-12 minggu), dan kronik (>12 minggu) (Al-Hadad, 2013).



Patogenesis dari rinosinusitis melibatkan tiga elemen kunci yaitu : ostium sinus yang menyempit, disfungsi dari sistem mukosilier hidung, dan viskositas dari sekret sinus. Penyempitan ukuran dari ostium sinus paranasal menyebabkan terjadi obstruksi. Faktor predisposisi terjadinya obstruksi pada ostium sinus adalah hal-hal yang menyebabkan mukosa uedema dan hal-hal yang menyebabkan timbulnya sumbatan secara mekanik. Oleh karena itu, infeksi virus saluran nafas atas dan inflamasi akibat alergi menjadi penyebab tersering dan terpenting. Saat terjadi penyumbatan pada ostium sinus, terjadi peningkatan tekanan pada daerah sinus. Oksigen berkurang pada daerah tertutup ini, tekanan pada sinus menjadi negatif dibandingkan tekanan atmosfer. Tekanan negatif ini, dapat menyebabkan masuknya bakteri kedalam sinus saat bernafas. Saat terjadi penyumbatan ostium, sekresi mukus oleh mukosa terus berlangsung, yang menyebabkan terjadi akumulasi cairan di sinus. Kompleks Ostiomeatal memiliki peran penting dalam terjadinya rinosinusitis kronik, penelitian terkini, mencari pembuktian hipotesis tersebut. Chandra dkk melakukan suatu penelitian retrospektif dimana mereka menemukan bahwa lebih dari 35 % pasien yang didiagnosa menderita rinosinusitis kronis tidak memperlihatkan manifestasi obstruksi dari KOM secara radiologik, namun demikian, obstruksi dari

dapat dihubungkan dengan keparahan penyakit (Mustafa *et al.*, ; Patel *et al.* ,2014).



Rinosinusitis kronis dikarakteristikan dengan inflamasi persisten , gangguan respon imun interaksi host-mikroba yang bersama-sama akan menyebabkan gangguan fungsi *barrier epitel*, penyembuhan luka yang lambat, remodeling jaringan, dan gejala klinis. Permukaan mukosa memiliki beberapa respon imunitas untuk mempertahankan homeostasis, yang terbagi menjadi respon imun *innate* dan adaptif banyak faktor host memiliki dampak terhadap respon imun yang selanjutnya akan menyebabkan seseorang menderita rinosinusitis kronis (Vickery *et al.*, 2017).

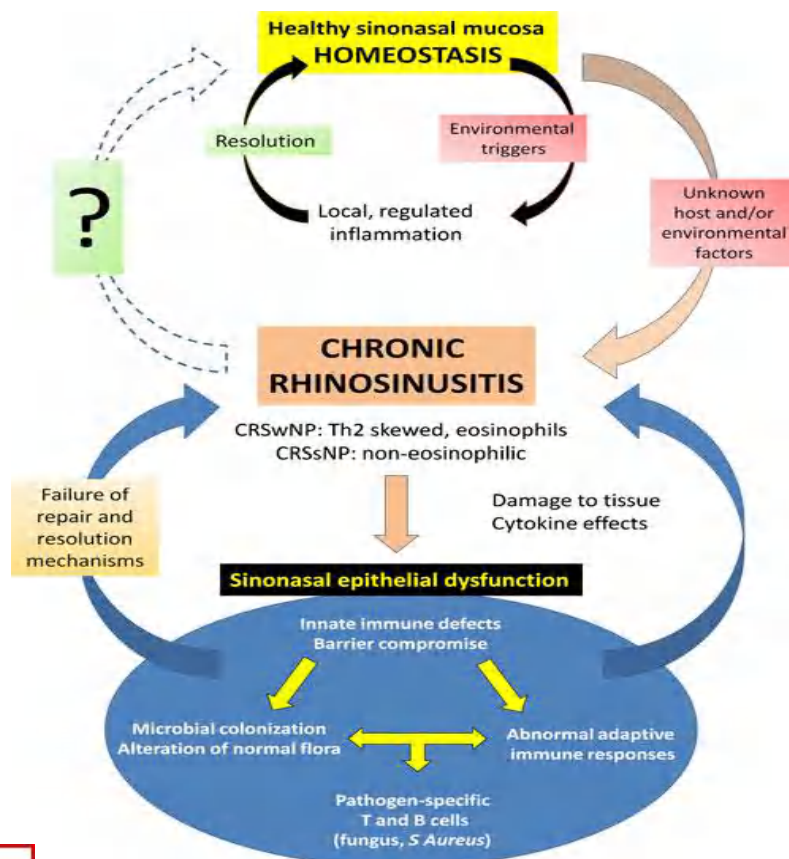


Fig. 5 Faktor yang mendasari patofisiologi dari Rinosinusitis kronis (Lee, 2011)



Gangguan fungsi dari sistem mukosilier disebut sebagai prekursor dalam patogenesis dari rinosinusitis kronis. Saat terjadi infeksi, maka baik struktur dan fungsi dari sistem mukosiliar terganggu. Bentuk dismorfik dari silia melibatkan gangguan mikrotubuler selama fase akut (7 hari). Terdapat jumlah sel silia yang berkurang secara progresif diobservasi sepanjang perjalanan penyakit. Bersihan mukosiliar, yang dihitung dengan rasa dan warna, menjadi lebih lambat secara signifikan sepanjang fase akut, hal ini dapat mengurangi fungsi pembersihan dan menyebabkan sekret tertumpuk di sinus. Kualitas dan karakteristik dari sekret sinus juga memiliki peranan dalam patogenesis dari sinusitis (Mustafa *et al.*, 2015 ; Patel *et al.*, 2014).

Faktor Host (Sistemik)	Faktor Host (Lokal)	Faktor Lingkungan
<ul style="list-style-type: none"> ○ Alergi ○ Immunodefisiensi ○ Gangguan Mukosiliar ○ Kistik Fibrosis ○ Penyakit Granulomatous ○ GERD ○ Intoleransi Aspirin 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Anatomi ✓ Neoplasma ✓ Disfungsi Mukosiliar yang didapat ✓ Riwayat Trauma atau operasi 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Mikroorganisme (bakteri, jamur, virus) ▪ Bahan kimia berbahaya ▪ Obat –obatan

Tabel.2 Faktor yang berperan dalam rinosinusitis kronis (Cain *et al.* ,.2013)

Patofisiologi rinosinusitis kronis diungkapkan lebih kompleks dari dulu pernah diperkirakan, paradigma mengenai penatalaksanaan sinusitis kronis yang dianggap sebagai akibat dari infeksi yang



lama sudah mulai ditinggalkan. Pendapat mengenai peradangan sebagai patogenesis dari rinosinusitis kronis sudah mulai meningkat, dengan berbagai macam teori yang merujuk pada satu kesimpulan tentang inflamasi yang terjadi pada mukosa. Inflamasi pada sinus paranasal dapat disebabkan oleh berbagai macam etiologi, termasuk faktor bakteri, faktor lingkungan, dan faktor host seperti abnormalitas struktur anatomi, genetik, fisiologi dan imunitas *innate* (Patel *et al.*, 2014).

Menurut Konsensus Internasional, *European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps* tahun 2012, definisi dari Rinosinusitis pada orang dewasa adalah suatu proses inflamasi dari hidung yang ditandai dengan gejala yang berlangsung antara 8-12 minggu dengan sedikitnya dua gejala seperti hidung tersumbat/ obstruksi/ kongesti, adanya sekret hidung (anterior / posterior *nasal drip*), nyeri wajah / tekanan daerah sinus, dan/ atau penurunan atau hilangnya daya penghidu. Dan salah satu temuan endoskopi : 1) polip nasi, dan /atau 2) sekret mukopurulen yang berasal dari meatus nasi media, dan/atau 3) edema / obstruksi mukosa terutama pada meatus nasi media, dan/ atau gambaran tomografi komputer terdapat perubahan mukosa pada daerah kompleks osteomeatal dan/ atau sinus (Bachert *et al.* 2014 ; Fokken *et al.*, 2012).



Task Force” yang merupakan suatu kelompok kerja yang dibentuk American Association Otolaryngology Head and Neck Surgery

(AAO-NHS) pada tahun 1996 menghasilkan suatu definisi rinosinusitis kronis berdasarkan gejala dan tanda untuk menegakkan diagnosis rinosinusitis dengan kategori mayor dan minor seperti yang terlihat pada tabel 3 berikut (Busquets *et al.*, 2006).

Tabel 3. Gejala dan Tanda yang berhubungan dengan Diagnosis Rinosinusitis Kronis

Gejala Mayor	Gejala Minor
<ul style="list-style-type: none"> • Rinore (Purulen, Sereus) • Obstruksi Nasi • Nyeri Wajah • Sekret Purulen di rongga Hidung (Rinoskopi Anterior) • Post Nasal Drip • Gangguan Penghidu (Hiposmia/ Anosmia) • Demam (akut) 	<ul style="list-style-type: none"> • Sakit Kepala • Halitosis • Rasa Lelah • Nyeri Gigi • Batuk • Rasa penuh / Nyeri di telinga • Demam (Non Akut)

Penegakan diagnosis penyakit pada sinus paranasalis harus didukung dengan pemeriksaan secara objektif karena dapat memberikan gejala yang tidak spesifik dan sama dengan beberapa penyakit yang lain (sebagai contoh : infeksi pernafasan bagian atas, rhinitis alergi, migrain), tetapi kebalikannya, bila tidak terdapat gejala,

diagnosis rinosinusitis kronis berdasarkan hasil radiologi tidak dapat dilakukan karena anomali radiologi hasil CT scan pada orang normal memiliki insiden yang tinggi. Oleh karena itu adanya gejala dan hasil



positif pada pemeriksaan objektif dibutuhkan untuk penegakan diagnosis rinosinusitis kronis. Sebagai tambahan, pemeriksaan endoskopi hidung meningkatkan akurasi diagnostik dari pemeriksaan CT scan sebagai kriteria standar pada diagnosa rinosinusitis kronis (Bachert *et al.*, 2014).

Diagnosa Rinosinusitis kronis dapat ditegakkan berdasarkan anamnesis, pemeriksaan fisis, dan pemeriksaan penunjang (Busquets *et al.*, 2006).

Anamnesa :

Anamnesa yang cermat dan teliti sangat diperlukan terutama dalam menilai gejala yang telah disebutkan diatas. Hal ini penting terutama pada rinosinusitis kronis yang disebabkan oleh faktor lain selain inflamasi, seperti infeksi, latar belakang alergi, atau kemungkinan terdapat kelainan anatomi rongga hidung, riwayat pengobatan sebelumnya dan adanya penyakit sistemik yang bias mempengaruhi perkembangan rinosinusitis kronis (Mulyarjo, 2004).

Pemeriksaan Fisis :

a. Rinoskopi Anterior :

Terdapat sekret purulen di meatus medius atau meatus superior. Evaluasi ada tidak polip yang menyertai rinosinusitis kronis (Soetjipto, 2012).



b. Rinoskopi Posterior :

Merupakan suatu teknik pemeriksaan untuk melihat rongga hidung bagian posterior dan nasofaring dengan demikian kelainan patologi dan rinore posterior (*post nasal drip / secretion*) dapat terlihat secara jelas (Mulyarjo, 2004).

c. Pemeriksaan Nasoendoskopi :

Pemeriksaan ini dapat menunjukkan kelainan yang tidak dapat terlihat dengan rinoskopi anterior , seperti : sekret purulen minimal di meatus medius atau superior, polip kecil, ostium asesorius, udem prosseus uncinatus, konka bulosa, konka paradoksikal, spina septum, dan lain-lain (Busquets *et al.*, 2006).

Pemeriksaan Penunjang :

a. Pemeriksaan Trans-Illuminasi

Merupakan pemeriksaan sederhana untuk menilai adanya keadaan patologi di sinus maksilla dan sinus frontal. Syarat melakukan pemeriksaan transluminasi adalah dilakukan di ruangan yang cenderung gelap. Pemeriksaan ini dapat memperkuat diagnosa rinosinusitis jika terdapat perbedaan hasil transluminasi antara kedua sinus (kanan dan kiri) baik pada sinus maksila dan frontal (Bernninger, 2006).



b. Radiologi :

Foto Polos posisi Water's , Postero Anterior, dan Lateral umumnya hanya mampu menilai kondisi sinus- sinus yang besar seperti sinus maksila dan frontal. Kelainan akan terlihat perselubungan , batas udara- cairan atau penebalan mukosa (Bernninger , 2006).

CT-Scan (*Computed Tomography Scanning*) Sinus Paranasalis Potongan Koronal dan Axial, mampu menilai kelainan anatomi hidung dan sinus paranasalis, terdapat ada atau tidaknya kelainan patologi dalam hidung, sinus paranasalis dan kompleks ostiomeatal secara keseluruhan dan perluasannya (Bernninger, 2006).

MRI (*Magnetic Resonance Imaging*), merupakan modalitas yang lebih baik untuk melihat massa jaringan lunak tapi kurang begitu baik untuk menunjukkan gambaran tulang. Pada pemeriksaan penunjang rinosinusitis kronis, modalitas MRI jarang digunakan (Mulyarjo ,2004 dan Soetjipto,2012).

Rinosinusitis kronis dikategorikan berdasarkan ada atau tidaknya polip hidung (rinosinusitis kronis tanpa polip hidung ,CRSsNP; atau rinosinusitis kronis dengan polip hidung, CRSwNP) walaupun keduanya memberikan gejala terdapat sekret mukopurulen dan hidung buntu, CRSsNP lebih sering disertai dengan nyeri / nyeri tekan/



rasa penuh pada daerah wajah sedangkan CRSwNP memberikan gejala hiposmia (Bachert *et al.*, 2014).

Tujuan utama dari pengobatan rinosinusitis kronis adalah meredakan gejala dan mencegah komplikasi. Rinosinusitis kronis dibedakan menjadi dua jenis yaitu yang dapat dikendalikan dan sulit untuk diobati. Rinosinusitis kronis yang dapat dikendalikan didefinisikan sebagai suatu tahap penyakit dimana pasien tidak memiliki gejala, atau gejala yang di derita tidak mengganggu, atau memiliki mukosa hidung yang sehat atau hampir sehat dan hanya membutuhkan terapi lokal. Sedangkan rinosinusitis kronis yang sulit untuk diobati adalah pasien yang memiliki gejala persisten walaupun telah diberikan terapi yang sesuai (baik secara medikamentosa dan terapi). Walau mayoritas dari pasien dengan rinosinusitis kronis dapat dikendalikan, namun terdapat beberapa pasien yang tidak memberikan perbaikan dengan pengobatan dan operasi yang maksimal. Pasien yang tidak mencapai level yang dapat dikendalikan walaupun telah menjalani operasi yang adekuat, pemberian steroid intranasal dan telah diberikan terapi antibiotik dan kortikosteroid lebih dari dua kali dalam satu tahun terakhir dapat digolongkan menjadi rinosinusitis kronis yang sulit untuk diobati. Penggolongan ini dapat disebut juga sebagai penyakit saluran nafas bagian atas yang kronik dan berat (disebut juga sebagai Chronic Upper Airway Disease / SCUAD) yang



mempunyai kebutuhan terapi lebih agresif (Bachert *et al.*, 2014 ; Fokken *et al.*, 2012).

Sangat penting untuk mengetahui faktor penyebab yang mendasari obstruksi drainase sinus, dan gangguan ventilasi. Kemungkinan alergi pada daerah hidung harus dipertimbangkan. Pemeriksaan kultur bakteri dan tes sensitivitas akan membantu dalam memilih antibiotik yang tepat. Penatalaksanaan awal rinosinusitis kronis meliputi pengobatan konservatif, pemberian antibiotik, dekongestan, antihistamin, dan cuci hidung (Dhingra , 2014).

Terapi konservatif pada rinosinusitis kronis tanpa polip nasi di level 1 b adalah (a) pemberian terapi antibiotik (lebih dari 12 minggu) , biasanya makrolid (b) kortikosteroid topikal intranasal (c) cuci hidung. Sedangkan terapi rinosinusitis kronis dengan polip nasi adalah (a) kortikosteroid intranasal topikal (tetes lebih baik dibanding spray) (b) kortikosteroid sistemik: 1mg/kg pada dosis awal, setelah itu di *tapering off* selama 10 hari (c) cuci hidung, dan (d) pemberian terapi antibiotik (lebih dari 12 minggu) , biasanya makrolid (Chan ,2016).

Bila pengobatan konservatif gagal, dapat dilakukan terapi operatif, yaitu mengangkat mukosa yang patologik dan membuat drainase dari sinus yang terkena. Bedah Sinus Endoskopik Fungsional (BSEF) merupakan operasi terkini untuk sinusitis kronik yang memerlukan

polip nasi. Tindakan ini telah menggantikan hampir semua jenis bedah



sinus terdahulu karena memberikan hasil yang lebih memuaskan tindakan , tidakan lebih ringan dan tidak radikal (Soetjipto ,2012).

Indikasi BSEF berupa : sinusitis kronis yang tidak membaik setelah terapi adekuat ; sinusitis kronis disertai kista atau kelainan yang ireversibel ; polip ekstensif, adanya komplikasi sinusitis serta sinusitis jamur (Soetjipto ,2012).

E. BAKTERIOLOGI

Seperti halnya traktus pencernaan, rongga hidung memiliki flora normal yang berfungsi mempertahankan lingkungan kondusif untuk sistem respirasi yang sehat. Dalam rongga hidung banyak di dapati bakteri dari traktus respiratori, yang dapat dengan mudah mengkontaminasi sekret yang berasal dari sinus paranasal. Pada penelitian yang lampau, mengenai bakteri penyebab sinusitis, spesimen dari sekret sinus yang berasal dari pungsi antrum maxilla dilakukan untuk mengurangi resiko kontaminasi yang berasal dari rongga hidung. Infeksi sendiri di definisikan sebagai jumlah koloni bakteri paling kurang 10^4 jumlah unit koloni yang ditemukan per milimeter (CFU/ml) dari sekret yang diaspirasi (Mustafa *et al.*, 2015 ; Stevens *et al.*,2015) .

Rinosinusitis kronis lebih merupakan penyakit inflamasi faktorial, daripada sebuah proses infeksi bakteri persisten. Kombinasi dari bakteri aerob dan anaerob dideteksi merupakan kaitan dari rinosinusitis kronis. Penelitian prospektif pada orang



dewasa dengan rinosinusitis kronis yang memiliki hasil positif terhadap kultur bakteri, Spesies *Staphylococcus* dengan koagulase-negatif adalah bakteri aerob yang paling sering ditemukan pada beberapa penelitian, seringkali juga ditemukan bersamaan dengan *Staphylococcus aureus* (termasuk *S. Aureus* resisten methicillin – MRSA) dan *Streptococcus viridans*. Di beberapa penelitian, bakteri gram negatif dari saluran cerna juga dapat di temukan pada hasil kultur seperti *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, spesies *Enterobacter*, dan *Escherichia coli* (Mustafa et al ., 2015 ; Hamilos et al ., 2013).

Walaupun peranan bakteri secara pasti dalam terjadinya rinosinusitis kronis belum dapat dijelaskan, namun terlihat bahwa bakteri memegang peranan penting dalam patogenesis rinosinusitis kronis, baik sebagai faktor penyebab maupun sebagai faktor pemicu. Nadel dkk, melakukan evaluasi terhadap 507 kultur dengan bantuan endoskopik terhadap 265 pasien, didapati hasil *Staphylococcus aureus* (31,3%), *Staphylococcus* dengan koagulase-negatif (44,2%), dan bakteri gram negatif sebanyak 34,3% meliputi *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Escherichia coli* dan *Serratia marcescens*. Kingdom dan Swain menganalisa 182 hasil kultur dengan 257 bakteri yang terisolasi terhadap 101 pasien saat operasi

; hasil tes mikrobiologi memberikan hasil yang serupa , bakteri paling sering ditemukan adalah *Staphylococcus* dengan



koagulase-negatif (45%), bakteri gram negatif (25%), dan *Staphylococcus aureus* (24%). Analisa perbandingan antara operasi sinus pertama maupun operasi sinus revisi tidak memperlihatkan adanya perbedaan hasil dalam jenis dan tipe bakteri. Leah dkk, melakukan penelitian terhadap 21 sampel pasien rinosinusitis kronis dan mendapati seluruh subjek memiliki hasil kultur bakteri positif, dengan nilai rata-rata 2,8 bakteri terisolasi dari masing-masing subjek, sekitar 75% adalah *Staphylococcus* dengan koagulase-negatif, *Staphylococcus aureus* (50%) dan *Propionibacterium acnes* (30%) (Manes *et al.*, 2012 ; Feazel *et al.*, 2012).

QingHua Liu dkk, melakukan penelitian terhadap 285 pasien di China, 165 pasien diantaranya adalah rinosinusitis kronis dengan polip nasi, 76 pasien rinosinusitis tanpa polip nasi, dan 44 orang sebagai kontrol (pasien yang dilakukan operasi dengan abnormalitas struktur hidung tanpa rinosinusitis). Kultur bakteri aerob dan anaerob yang didapat dari 285 pasien, spesies bakteri aerob yang paling sering ditemukan pada ketiga grup pasien adalah *Staphylococcus* dengan koagulase-negatif, *Streptococcus* (21/165), *Corynebacterium* (17/165), *Staphylococcus Aureus* (13/165), *Haemophilus Influenzae* (10/165) adalah bakteri terbanyak selanjutnya yang ditemukan pada hasil kultur pasien rhinosinusitis kronis dengan polip nasi. Dan jenis

eri yang ditemukan pada hasil kultur pasien rhinosinusitis kronis a polip nasi dan grup kontrol tidak banyak berbeda, *Streptococcus*



(8/76, 2/44), *Corynebacterium* (2/76, 5/44), *Staphylococcus Aureus* (3/76, 3/44), dan *Hemophilus Influenzae* (2/76, 1/44), bila dibandingkan dengan jumlah bakteri anaerob yang di isolasi pada kultur maka di dapatkan hasil yang sangat kontras , hanya tiga, lima dan dua bakteri anaerob yang dapat diisolasi dari ketiga grup pasien tersebut (Liu *et al.*, 2014).

Sebelum era metode kultur independen banyak dilakukan, cara kultur konvensional telah menemukan bahwa *Staphylococcus* dengan koagulase-negatif dan *Staphylococcus aureus* sebagai patogen penting dalam patogenesis rinosinusitis kronis. Perkembangan teknik kultur independen secara molekular dapat lebih mendeteksi berbagai macam jenis bakteri, dan memperlihatkan lebih banyak keanekaragaman bakteri dibandingkan dengan kultur konvensional. Dengan demikian, etiologi dari rinosinusitis kronis lebih ke arah polimikroba dan bakteri anaerob mungkin lebih memegang peranan penting dari yang telah diduga. Namun bagaimanapun juga, bakteri yang dideteksi dengan cara kultur konvensional masih memiliki hubungan secara klinis (Chalerwatanachai *et al.*, 2015).

F. MIKROBIOM

Mikrobiom adalah material genetik dari mikroba (bakteri) yang ada dalam tubuh manusia (komensal, simbiosis, dan patogen). Usaha untuk mengetahui dan menentukan komunitas mikroba atau mikrobiom



pada kavitas sinonasal manusia, baik yang sehat ataupun dengan rinosinusitis kronis, dengan menggunakan metode kultur independen telah dilakukan. Namun tidak terdapat pola konsisten yang muncul untuk melibatkan organisme tertentu sebagai penyebab penyakit tersebut, namun data menyebutkan bahwa keadaan ketidakseimbangan atau disbiosis mikroorganisme dapat ditemukan pada pasien dengan rinosinusitis yang ditandai dengan terjadi penurunan keanekaragaman mikroba pada sinus paranasalis (Stevens *et al.*, 2015).

Mikrobiom atau komunitas mikrobiom merupakan keseluruhan mikroorganisme baik yang dapat dideteksi dengan kultur maupun yang tidak dapat dideteksi dengan kultur yang terdapat pada daerah spesifik seperti daerah gastrointestinal dan mukosa hidung dan paranasalis. Analisa mikrobiom manusia merupakan hal yang baru, hal ini menjadi mungkin dengan ditemukannya metode kultur independen (Wilson *et al.*, 2014).

Mikrobiom merupakan komunitas mikrobiota yang beragam, memiliki hubungan simbiosis dengan manusia. Secara anatomis, rongga hidung bertugas untuk menyaring udara inspirasi, menghangatkan dan melembabkannya, sehingga tidak mengherankan

memiliki koloni bakteri yang melimpah. Pemahaman mengenai hubungan kompleks manusia dengan komunitas mikroba pada daerah paranasalis mulai mendapat perhatian pada beberapa tahun



belakangan ini. Hampir sama dengan penelitian pada daerah traktus gastrointestinal, komunitas mikroba pada sinus paranasalis banyak memberikan kontribusi dalam mempertahankan keadaan sehat dari mukosa sinus paranasalis, dimana keadaan disbiosis —gangguan keseimbangan—akan berkontribusi pada terjadinya reaksi inflamasi. Bagaimanapun juga, hal ini masih membutuhkan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui dengan jelas peranan bakteri dan mikroorganisme lain dalam keadaan sehat dan sakit, sebagai persiapan awal yang teliti untuk mempersiapkan terapi rasional dengan tujuan untuk memanipulasi keberadaan komunitas mikrobiom (Ramakrishnan *et al.*, 2016).

Efek kausal penting dari disbiosis komunitas mikroba dalam proses inflamasi lokal dan sistemik telah diilustrasikan melalui studi ekstensif dari epitelium usus pada gangguan alergi dan inflamasi. Mikrobiota usus komensal meningkatkan perkembangan dan pematangan imunologi, homeostasis imun langsung, dan mempengaruhi kerentanan terhadap penyakit inflamasi dan atau alergi. Mikrobiom komensal yang stabil dan beragam memiliki kontribusi terhadap pertahanan *barrier epitelial*, mengsekresi protein antimikroba, menghasilkan lipid ,terlibat dalam perkembangan imunitas bawaan dan adaptif termasuk produksi imunoglobulin ,induksi sel T regulator ,metabolisme nutrisi, dan dapat menstimulasi pembentukan mukus dan sel-sel epitelial, yang akan membantu terjadinya homeostasis dengan



menekan pertumbuhan bakteri patogen. Oleh karena itu, keberadaan konsorsium mikroorganisme komensal yang beragam dan sehat akan memiliki banyak fungsi menguntungkan untuk sinus, serta memiliki fungsi penting untuk eksklusi mikroba patogen. Mikroba komensal dapat bersaing dengan mikroba / bakteri patogen dengan bertindak sebagai kompetitif langsung yang aktif. Sebagai contoh, korelasi negatif antara *Staphylococcus epidermidis* dan *S. aureus* telah diamati di rongga hidung. Strain tertentu dari *S. epidermidis* menghasilkan protease serine yang secara langsung menghambat pembentukan biofilm bakteri *S. aureus*. Yan *et al.* tahun 2013, mengidentifikasi *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* sebagai prediktor negatif *S. aureus* dalam rongga sinusal dan menunjukkan efek antagonis in vitro menggunakan uji co-kultur bakteri. Demikian pula, Bessesen dkk pada tahun 2015, mengamati hubungan negatif antara *S. aureus* resisten methicillin dan berbagai mikroorganisme, termasuk *Streptococcus mitis*, di nares anterior pasien rawat inap (Ramakrishnan *et al.*, 2015).

Beberapa filum bakteri memiliki jumlah dominan pada individu sehat, misalnya filum *Actinobacteria*, spesies *P. Acnes* adalah bakteri yang paling melimpah pada individu sehat. *P. Acnes* memiliki kemampuan mendorong pembentukan Th1 dan sel Treg dan

mengurangi gejala dermatitis, dengan cara memproduksi asam lemak rantai pendek yang bersifat imunomodulator, hasil metabolitnya yaitu



asam propionic tidak hanya bersifat mengurangi inflamasi , namun juga menghambat pertumbuhan *S. aureus*. (Chalerwatanachai *et al.*, 2018).

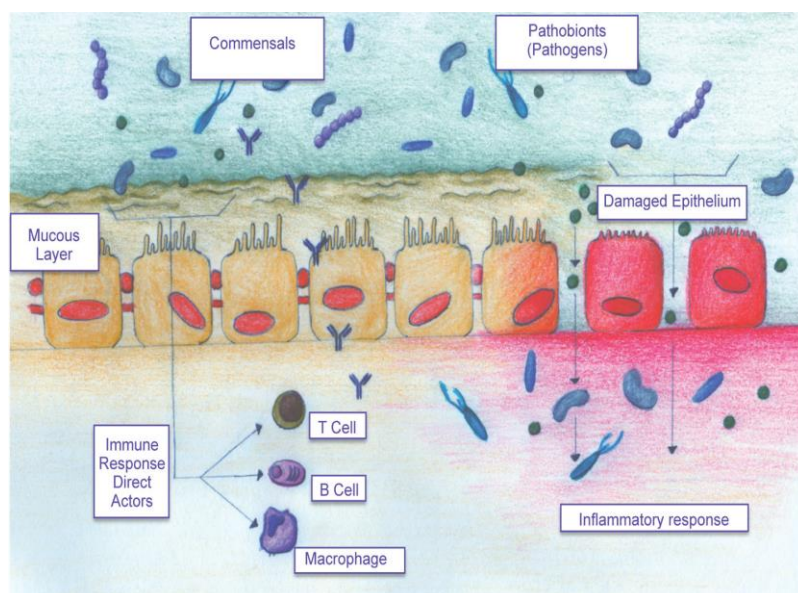
Penelitian awal yang menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* untuk menganalisa fragmen spesifik 16s RNA (DNA) dan coding rRNA pada rinosinusitis kronis mengalami hambatan pada jumlah primer yang masih kurang berkaitan dengan flora bakteri pada traktus respirasi bagian atas. Sejak tahun 2010, metode analisa mikrobiom telah semakin maju, mampu mendeteksi beberapa bakteri secara simultan (Mahdavinia *et al.*, 2016).

Identifikasi mikrobiom dilakukan dengan menggunakan metodologi kultur independen (qPCR dan 16s sRNA sekuensing gen) untuk identifikasi bakteri patogen pada pasien dengan rinosinusitis kronis. Koloni bakteri yang paling sering ditemukan adalah *Staphylococcus* koagulase-negatif (100%), *Corynebacterium* spp (85,7%), *P. Acnes* (76,2 %), dan *Staphylococcus aureus* (66,7%), sedangkan pendekatan lain alih-alih menggunakan metode 16s RNA, dilakukan metode *Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism* (T-RFLP) mendeteksi genum *Pseudomonas*, *Citrobacter*, *Haemophilus*, *Propionibacterium*, *Staphylococcus* dan *Streptococcus*, dengan *Pseudomonas Aeroginosa* merupakan bakteri yang paling banyak terdeteksi (Chalerwatachai *et al.*, 2014). Bagaimanapun juga

perlu ditentukan apakah perubahan pada mikrobiom hidung berhubungan dengan penyakit inflamasi kronis atau merupakan



penyebab terjadinya inflamasi kronis pada hidung. Produk yang dihasilkan bakteri merupakan pemicu utama terjadinya inflamasi. Molekul bakteri permukaan memicu pengeluaran reseptor yang biasa ditemukan pada sel inflamasi imunitas *innate* seperti makrofag, dan sel dendritik. Perubahan mikrobiom yang terjadi pada pasien dengan rinosinusitis kronis dengan polip nasi, termasuk terdapat peningkatan koloni *Stafilokokus aureus*, dan penurunan keanekaragaman mikroba, perubahan ini ditemukan bersamaan dengan hilangnya integritas epitel, penurunan produksi agen antimikroba, penurunan jumlah kelenjar mukosa pada keadaan polip nasi akan menciptakan lingkungan potensial memicu invasi mikroorganisme melewati barrier mukosa (Mahdavinia *et al.*,2016).



Gambar 6. Gambaran interaksi host-mikrobiom, dengan hipotesa terjadinya inflamasi kronis pada fungsi barrier mukosa dan memicu terjadinya inflamasi pada rinosinusitis kronis (Lee *et al.*, 2016).



Diagnostik molekuler secara jelas telah memperlihatkan mikrobiom yang kaya dan beragam pada mukosa sinus, dimana mikroorganisme tersebut memiliki peran dalam mempertahankan keadaan sehat atau merupakan bakteri patogen masih belum jelas. Namun, terlihat bahwa rinosinusitis kronis memiliki karakteristik adanya gangguan pada komunitas mikroba, dimana terjadi penurunan dalam jumlah dan perubahan komposisi bakteri. Berdasarkan penemuan ini, patogenesis dari rinosinusitis kronis memiliki keterlibatan penyakit yang berasal dari infeksi oleh patogen spesifik, ke dalam situasi kompleks melibatkan gangguan terhadap mikrobiom (Lee *et al.*, 2016).

Interaksi mikroba dengan host mereka dapat terjadi secara mutualistik dan antagonistik. Interaksi ini melibatkan konsumsi nutrisi dan sekresi agen antimikroba. Faktor apapun yang mengganggu ekosistem ini (misalnya, infeksi virus), kemungkinan akan mengganggu homeostasis imunitas dan menciptakan lingkungan yang mendukung perkembangan rinosinusitis kronis. Walaupun belum jelas, implikasi klinis yang dapat mengurangi keanekaragaman mikrobiota sinus, dan apakah gangguan tersebut meningkatkan kerentanan terhadap infeksi. Beberapa mekanisme penyakit akibat gangguan mikrobiom telah didalilkan. Kehadiran patogen yang diketahui dalam komunitas bakteri tertentu tidak selalu menunjukkan patogenisitas. Dalam survei yang

akan pada sinus subjek kontrol penelitian, patogen potensial yang
nya terkait dengan rinosinusitis kronis terdeteksi di daerah



meatus medius pasien sehat tanpa rinosinusitis kronis, meskipun dengan jumlah sedikit. Temuan ini mendukung konsep bahwa keanekaragaman dalam komunitas yang sehat akan memberikan proteksi dan gangguan atau disbiosis mikrobiom normal merupakan persyaratan penting untuk timbulnya penyakit (Lee *et al.*, 2016).

Mekanisme pertahanan oleh mikrobiom terhadap penyakit telah di paparkan, hipersekresi lendir dan hiperplasia sel goblet merupakan respon tidak spesifik, namun penelitian ini menunjukkan bahwa, mikrobiom memiliki peranan dalam melawan patogen dengan memodulasi epitel sinus (Lee *et al.*, 2016).

Beberapa bakteri komensal telah terbukti memberi perlindungan pada mukosa sinus, yang berkontribusi untuk pertahanan host .Penelitian oleh Abreu *et al.* co-instilasi *L. sakei* dengan *C. Tuberculostearicum* menghambat proses hiperplasia sel goblet dan hipersekresi musin yang diinduksi oleh bakteri atau virus patogen, bahkan dalam keadaan keanekaragaman mikrobiom yang berkurang. Mekanisme bagaimana bakteri tersebut memberikan perlindungan terhadap mukosa masih dalam penyelidikan. Mikrobiom yang kaya spesies dapat mencegah kolonisasi patogen potensial dan membatasi fluktuasi mikrobiota inti. Terdapat teori bahwa bakteriosin dan asam laktat diuraikan oleh probiotik *L. Sakei* ini dapat menghambat patogen

embang biak melalui inhibisi kompetitif. *P. acnes*, diidentifikasi 80% pasien kontrol, dapat mengeluarkan bakteriosin, yang tidak



hanya memiliki sifat antibakteri dan antijamur tetapi juga memodulasi respon imun *innate* sebagai respon terhadap infeksi Hal ini mendorong hipotesis bahwa pasien yang memiliki mikrobiom sinonasal yang lebih kaya dan lebih padat akan lebih tidak rentan terhadap infeksi (Lee *et al.*, 2016).

Di dalam rongga sinus, terdapat banyak respon imun intrinsik dan adaptif terlibat dalam pertahanan host. Bersihan mukosiliar secara terus menerus mengeluarkan patogen dari saluran sinonasal dan mengandung zat antimikroba, termasuk surfaktan, defensin, enzim, inhibitor protease, dalam spektrum luas. Sintesis dari molekul efektor imunitas *innate* dirangsang oleh aktivasi reseptor TLR (*Toll-Like Receptor*) yang diekspresikan oleh sel dendritik dan sel epitel. Gangguan mekanisme kekebalan tubuh bawaan telah dikemukakan berkontribusi pada peradangan persisten yang terlihat pada rinosinusitis kronis. Jenis dan tingkat keparahan rinosinusitis kronis juga terbukti berkaitan oleh jalur imunogenik Th1 dan Th2, dengan dominasi yang terakhir ditemukan berhubungan dengan polip nasi (Lee *et al.*, 2016).

Berkurangnya keragaman bakteri dapat meningkatkan inisiasi peradangan sinus melalui peningkatan kerentanan terhadap patogen atau berefek langsung pada homeostasis imun mukosa. Peradangan

dapat membahayakan barier epitel dan memicu kolonisasi patogen. Imunitas *innate*, imunitas yang didapat, integritas mukosa,



penyembuhan luka, dan interaksi host-mikroba lainnya dapat terganggu akibat ketidakseimbangan mikroba. Mikrobiom tidak hanya penting untuk perlawanan terhadap patogen tetapi juga berfungsi dalam perlawanan penyakit melalui efek pengaturan sistem kekebalan host. Mempertahankan homeostasis komunitas mikroba flora normal dapat menjadi bagian integral dari pemeliharaan status kesehatan umum dan mencegah infeksi pada sinus (Lee *et al.*, 2016).

G. KULTUR INDEPENDEN BAKTERI

Secara prinsip, teknik pendekatan analisa bakteri pada manusia terbagi menjadi : (a) teknik kultur dependen bakteri dan (b) teknik kultur independen bakteri. Metode kultur dependen melibatkan isolasi dan kultur mikroorganisme dengan terlebih dahulu melalui proses identifikasi bakteri berdasarkan morfologi, biokimia, atau karakteristik genetik. Metode ini menghabiskan waktu oleh karena proses kultur panjang dan hasil yang bias. Sebagai tambahan, teknik kultur dependen tidak dapat menyediakan refleksi mengenai keanekaragaman mikroba pada sampel(Boase *et al.*, 2013).

Meskipun teknik kultur dependen telah menjadi andalan dalam diagnostik mikroba pada penyakit rinosinusitis kronis, diperkirakan diatas 70 % spesies bakteri tidak dapat di tumbuhkan akibat kondisi

ingkungan mikro yang dibutuhkan untuk bakteri bertumbuh tidak dapat diaplikasi dengan baik dalam laboratorium. Organisme yang memiliki



hubungan komensalisme dengan sistem imun host mungkin tidak dapat bertumbuh dengan baik setelah dilepaskan dari mukosa tubuh. Sehingga dilaporkan 10-45% spesimen yang berasal dari pasien rinosinusitis kronis tidak dapat bertumbuh pada pemeriksaan kultur dependen(Lee *et al.*, 2016).

Sejak tahun 1980an , aplikasi metode deteksi molekular atau disebut juga metode kultur independen sudah mulai diterapkan pada pemeriksaan mikroba. Metode kultur ini mampu mendeteksi DNA atau RNA bakteri tanpa harus melalui proses kultur (Chalerwatachai *et al.*, 2014).

Perkembangan identifikasi mikroorganisme penyebab infeksi dengan metode berbasis molekular memberikan kontribusi yang sangat penting di bidang mikrobiologi. Identifikasi dengan analisis sekuensing gen 16S rRNA dinilai memberikan hasil yang sangat akurat dan dapat dijadikan sebagai metode diagnosis dalam aplikasi klinis. Analisis sekuensing dinilai dapat menjawab berbagai permasalahan yang berkaitan dengan identifikasi berbasis mikrobiologi konvensional. (Rinanda T, 2011).

Hauser tahun 2015 dengan teknik 16s rRNA *sequencing* menemukan *Corynebacterium* dan *P. Acnes* adalah spesies terbanyak.

Ramakrishnan, 2013 dengan teknik qPCR dan 16s *sequencing*

menemukan *S. epidermidis* dan *P. acnes* adalah spesies terbanyak,

ra tahun 2013 dengan teknik 16S rRNA *sequencing*, ELISA, dan



flow cytometry menemukan terjadi kelimpahan keanekaragaman bakteri pada pasien rinosinusitis kronis. Abreu tahun 2012 dengan teknik qPCR, 16S rRNA PhyloChip menemukan tidak ada perbedaan spesies yang berarti antara pasien rinosinusitis kronis dan kontrol , namun keanekaragaman menurun pada pasien rinosinusitis kronis, serta terjadi peningkatan jumlah spesies *C. tuberculosteariticum* pada pasien rinosinusitis kronis. Stressman tahun 2011 menggunakan teknik 16S rRNA *sequencing*, TRFLP menemukan terdapat 48 spesies bakteri terdeteksi , didominasi oleh *P. acnes* dan *S. aureus*. Feazel tahun 2012 menggunakan teknik 16S rRNA *sequencing* menemukan terdapat peningkatan kelimpahan *S.aureus* pada pasien rinosinusitis kronis (Lee JT *et al.*, 2016).

NEXT GENERATION 16S AMPLICON SEQUENCING

Metode generasi kedua atau *Next Generation Sequencing* mulai muncul pada pertengahan hingga akhir 1990 serta awal tahun 2000 , namun teknik ini secara komersial mulai diperkenalkan pada tahun 2005. Terdapat tiga klasifikasi besar pada pemeriksaan NGS ini yaitu : *Pyrosequencing*, *Reversible Terminator Sequencing* , dan *Amplicon Sequencing*. *Amplicon sequencing* merupakan teknik yang paling

digunakan saat ini untuk melakukan investigasi secara dalam tentang mikrobiom region sinonasal. (Halderman *et al.*,



Pengenalan NGS (*Next Generation Sequencing*) selama satu dekade terakhir telah menyediakan pendekatan bagi para peneliti mengenai pemeriksaan molekular non-target yang dapat memberikan karakteristik terhadap keseluruhan ekologi mikrobial spesimen. (Bardy *et al.*, 2016). Pemeriksaan genomik dengan menggunakan *Next Generation Sequencing* yaitu pemeriksaan sekuensing DNA yang dilakukan secara paralel pada saat yang bersamaan. Platform pemeriksaan *Next Generation Sequencing* mampu melakukan sekuensing terhadap jutaan fragmen DNA secara paralel. Analisa bioinformatika dengan menggunakan fragmen ini mampu memetakan individu dengan membaca referensi genom tersebut (Behjati *et al.*, 2013).

Pada prinsipnya, pemeriksaan *Sanger* sekuensing dan *Next Generation Sequencing* memiliki teknologi yang serupa. Dalam teknik pemeriksaan *Next Generation Sequencing* dan *Sanger* Sekuensing, DNA polimerasi menambahkan fluorens nukleotida satu persatu ke dalam template DNA yang tumbuh. Setiap nukleotida akan diidentifikasi dengan tag fluorens nya. Perbedaan penting antara sekuensing *Sanger* dan *NGS* adalah volume sekuensingnya. Metode *sanger* hanya mengurutkan fragmen DNA tunggal pada suatu waktu , *NGS* secara paralel akan mengurutkan jutaan fragmen secara

amaan dalam satu kali putaran pemeriksaan , proseskeluaran juga diterjemahkan ke urutan ratusan hingga ribuan gen pada



satu waktu. NGS juga menawarkan kemampuan untuk mendeteksi spesies varian baru atau langka (Illumina, 2016).

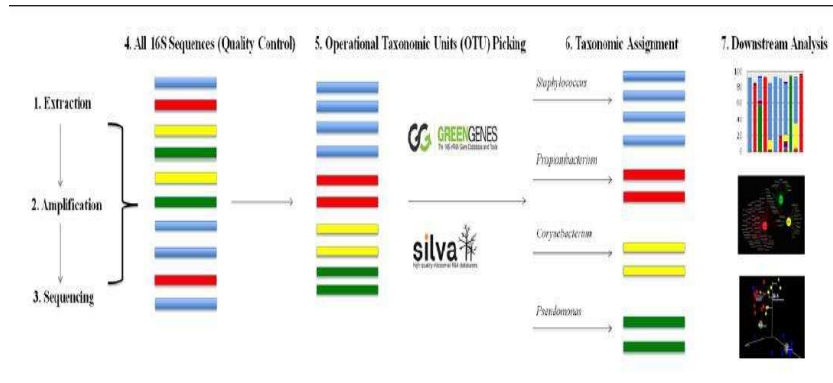
Salah satu penanda yang sering digunakan dalam pemeriksaan NGS (Amplicon sequencing) adalah gen 16 Svedberg ribosomal RNA yang lebih dikenal dengan 16s RNA, dimana gen 16s rRNA ini relatif mudah dilakukan *sequencing*, bersifat stabil dan lestari terhadap gen bakteri. Terdapat 9 wilayah dari gen 16s ini (V1 hingga V9) dengan total panjang 1500 basepair. Pemilihan wilayah ini disesuaikan dengan tujuan penelitian, penggunaan kombinasi wilayah gen 16 s akan memberikan akurasi yang lebih baik, perkiraan keragaman spesies yang lebih banyak, dan meningkatkan identifikasi domain bakteri spesifik. Keuntungan menggunakan gen 16s RNA adalah telah terdapat hasil sekuensing untuk spesies bakteri dalam jumlah besar dan tersimpan dalam database *RDP*, *SILVA* dan *GreenGenes*. (Halderman *et al.*, 2017)

Sekuensing *amplicon* 16s merupakan teknologi NGS (*Next Generation Sequencing*) yang mengolah suatu primer universal yang memiliki target gen 16 s RNA, mempunyai kemampuan mendeteksi keseluruhan bakteri. Gambar 7 menyediakan gambaran langkah-langkah dalam prosedur sekuensing 16S, dari proses persiapan sampel klinis hingga analisa data. Perbandingan urutan sekuensing

16s antara sampel klinis dan data akhir ditujukan untuk



pendekatan non-target dalam identifikasi komunitas polimikroba yang ada dalam spesimen sampel (Bardy *et al.*, 2016).

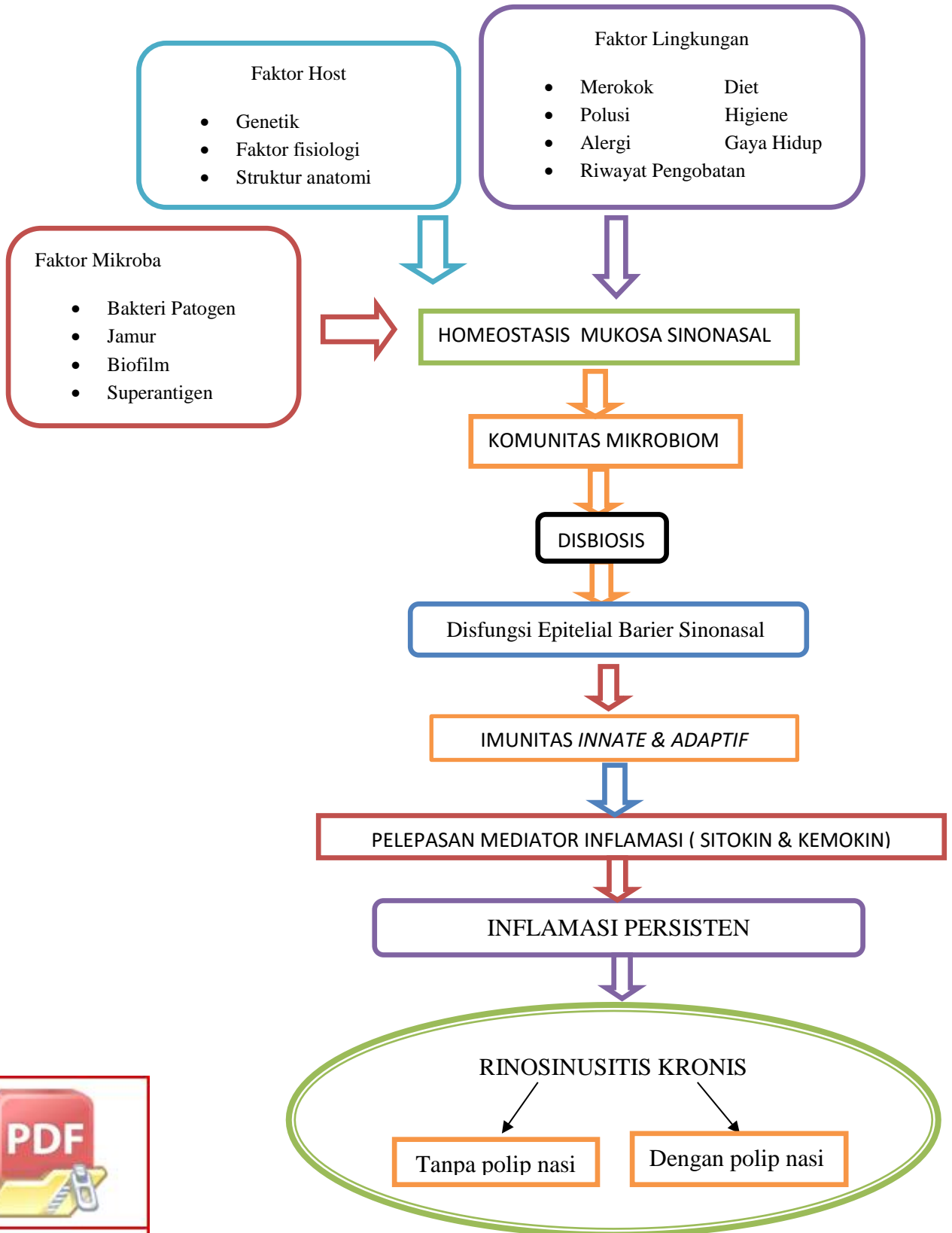


Gambar 7. (Langkah 1) DNA diekstraksi dari spesimen klinis (cairan, jaringan, swab). (Langkah 2) PCR dengan universal primer mengamplifikasi salinan gen 16s dari seluruh bakteri. (Langkah 3) Dilakukan sekuensing Amplicon terhadap NGS Platform. (Langkah 4) dilakukan *Quality Control* (Langkah 5) Sekuens di golongan kedalam OTUs (*Operational Taxaonomic Units*) menurut ambang persamaan yang ditentukan (Langkah 6) dilakukan penentuan taxon OTUs terhadap level gen berdasarkan database sekuensing 16s (Langkah 7) dilakukan analisa terhadap kelimpahan dan keanekaragaman spesies (Bardy *et al.*, 2016).

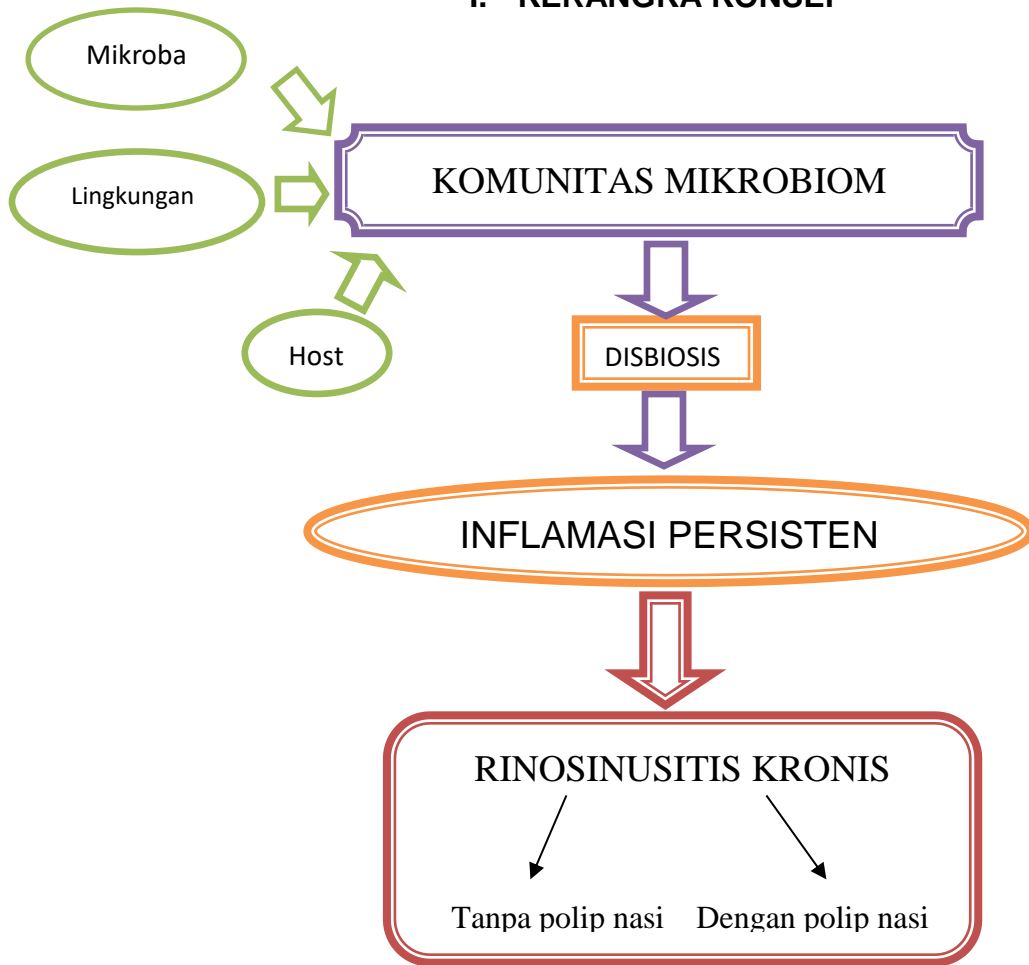
Data yang diperoleh dari pemeriksaan NGS (*Next Generation Sequencing*) akan mengarah terhadap hipotesis rinosinusitis kronis mengenai mikrobiom, melengkapi pengetahuan mengenai imunitas barrier, superantigen dan biofilm tentang keterlibatan bakteri dalam patogenesis rinosinusitis kronis. Teori ini berkaitan dengan keadaan disbiosis struktur normal komunitas mikroba mukosa sinonasal, yang bertanggung jawab terhadap inisiasi terjadinya rinosinusitis kronis (Bardy *et al.*, 2016).







H. KERANGKA TEORI



I. KERANGKA KONSEP



KETERANGAN :

-  Variabel Independen
-  Variabel Antara
-  Variabel Dependen
-  Variabel Moderator



Optimization Software:
www.balesio.com

BAB III

METODE PENELITIAN

A. DESAIN PENELITIAN

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *case control* untuk mengidentifikasi komunitas mikrobiom pada pasien rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip berdasarkan pemeriksaan genom bakteri dengan teknik *Next Generation 16s Sequencing*.

B. TEMPAT DAN WAKTU PENELITIAN

Penelitian ini akan dilaksanakan di RS. Dr. Wahidin Sudirohusodo dan RS. Universitas Hasanuddin dimulai bulan Januari 2019 sampai Maret 2019.

C. POPULASI PENELITIAN

Populasi adalah pasien rinosinusitis kronis yang memenuhi kriteria Inklusi yang menjalani Bedah Sinus Endoskopik Fungsional (BESF) di RS. Dr. Wahidin Sudirohusodo dan rumah sakit jejaringnya.



D. SAMPEL DAN CARA PENGAMBILAN SAMPEL

Sampel pada penelitian ini adalah pasien rinosinusitis kronis. Pengambilan Sampel dilakukan dengan cara *Consecutive Sampling*, yaitu semua subjek yang datang secara bersamaan dan berurutan di RS. Dr. Wahidin Sudirohusodo dan RS Universitas Hasanuddin, memenuhi kriteria inklusi serta bersedia menjalani operasi Bedah Sinus Fungsional Endoskopik (BSEF) dimasukkan dalam penelitian sampai jumlah subjek yang di perlukan terpenuhi.

E. BESAR SAMPEL

Jumlah sampel ditentukan berdasarkan tabel Wilcoxon Rank Sum untuk kelompok pasien rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip nasi dengan minimal jumlah sampel masing – masing lima sampel.

Pada penelitian ini jumlah sampel adalah 20 sampel, terdiri dari 10 sampel rinosinusitis kronis tanpa polip dan 10 sampel rinosinusitis kronis dengan polip nasi.

KRITERIA INKLUSI DAN EKSKLUSI

1. Kriteria Inklusi

- a. Pasien rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip berdasarkan kriteria *European Position Paper on*



Rhinosinusitis and Nasal Polyps 2012 yang dikonfirmasi CT
Scan Sinus Paranasalis

- b. Usia 18 tahun ke atas
- c. Bersedia menjalani Operasi Bedah Sinus Endoskopik Fungsional
- d. Bersedia ikut dalam penelitian dan memberikan persetujuan secara tertulis (Informed Consent) dan menandatangani surat persetujuan tindakan medis
- e. Tidak dibatasi ras, suku, dan jenis kelamin

2. Kriteria Eksklusi

- a. Pasien Immunodefisiensi Sindrom
- b. Memiliki riwayat penyakit sistemik yang berat
- c. Tumor Sinonasal
- d. Memiliki riwayat operasi hidung atau sinus paranasalis sebelumnya
- e. Pasien Rinitis Atrofikans

F. IZIN PENELITIAN DAN ETHICAL CLEARANCE

Permintaan izin dari pasien yang memenuhi kriteria untuk dijadikan
objek penelitian dengan mengisi lembar *informed consent* dan
pastikan memenuhi persyaratan etik untuk dilaksanakan dari Komisi
Penelitian Biomedis pada manusia Fakultas Kedokteran Universitas



Hasanuddin ,dengan nomer rekomendasi : 14/UN4.6.4.5.31/PP36-KOMETIK/2019 dan nomor protokol UH18120957.

G. BAHAN DAN CARA PENELITIAN

1. Alat Penelitian

- Lembar *Informed Consent*
- Alat diagnostik THT
- Satu set alat operasi BSEF dan endoskop
- Rak tabung sengkeli
- Cawan petri
- Pipet
- Pinset
- Sentrifuge
- Waterbath
- BSC Tipe II
- Tabung 1,7 μ L mikrosentrifuge
- *96-well 0,2 ml skirtless PCR plates*
- Mikropipet (1000 ul, 100ul, 20ul,10ul)
- Tabung ependorf
- Transfer swab Tips (1000 ul,100 ul,20 ul,10 ul)
- Mesin PCR (Biorad)



- *Magnetics stand-96*
- *96-well thermal cycler*
- *Fluorometer for quantitation with dsDNA binding dyes*
- *TruSeq Index Plate Fixture Kit*
- *Microplate Sentrifuge*
- *2100 Bioanalyzer Dekstop System*
- *Tips (100 ul,20 ul,10 ul)*
- *Tabung PCR*
- *Gel DOC*
- *Next Generation 16 S Amplicon Sequencing kit (50.000 raw tags)*
- *ZymoBIOMICS™ DNA Miniprep kit*
- *Erlenmeyer*
- *GelasUkur*
- *Mikroskop*

2. **Bahan Penelitian**

- a. *Medium transport DNA/RNA Shield™*
- b. *Sampel jaringan yang berasal dari prosesus uncinatus*

Amplicon Primer (V3-V4).V3 :Pro 314F,V4: Pro 515F ,Pro 806R
Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix (New England Biolabs)



- e. Reagen *MiSeq Kit V3* (600 Cycle)
- f. Ion Plus Fragmen Library Kit 48 rxns
- g. *Ampure XP Beads*
- h. *Fresh 80 % EtOH*
- i. RSB
- j. KAPA HiFi Hotstart ReadyMix (2x)
- k. Agencourt AMPure XP 60 ml kit
- l. Microseal 'A' adhesive seals
- m. Microseal 'B' adhesive seals
- n. Nextera XT Index Kit
- o. PhiX Cintrol Kit v3
- p. Tris -HCL 10 mM, pH 8,5
- q. PCR grade water
- r. Extraction Kit
- s. Enzim PCR (Go taq Master Mix Green dan Hot Star Taq DNA polymerase)
- t. RNase Free water
- u. DNA yang telah diekstraksi
- v. Master Mix Green
- . Nuclease Free water
- DNA Leader / Marker (~460 bp)



H. PROSEDUR PENELITIAN

1. Anamnesis

Anamnesis mengenai gejala hidung berupa adanya sekret hidung (*anterior* dan *posterior nasal drip*), hidung tersumbat, nyeri wajah/ tekanan daerah sinus, berkurangnya atau hilangnya penciuman,serta mengenai riwayat alergi.

2. Pemeriksaan Fisis THT

Pemeriksaan T.H.T.K.L: Otoskopi, rinoskopi anterior untuk menyingkirkan adanya sinekia, rinitis atrofi, septum deviasi berat, dan tumor kavum nasi, faringoskopi, dan nasoendoskopi (bila diperlukan).

3. Pemeriksaan Penunjang

Dilakukan pemeriksaan CT scan sinus paranasalis potongan koronal tanpa kontras.

4. *Informed Consent*

Bila memenuhi kriteria inklusi , akan dimasukkan sebagai sampel penelitian dan dilakukan *informed consent* untuk kemudian ditandatangani

pasien.



5. Operasi Bedah Sinus Endoskopi Fungsional

Dilakukan operasi bedah sinus endoskopik fungsional untuk pengambilan sampel pada daerah Kompleks Ostiometal (jaringan prosesus uncinatus) untuk selanjutnya dilakukan pemeriksaan patologi anatomi untuk pasien dengan rinosinusitis kronis dengan polip dan pemeriksaan mikrobiom dengan menggunakan *Next Generation 16S Sequencing*.

6. Pemeriksaan Histopatologi

Prosedur Pewarnaan Hematoksilin Eosin

Jaringan dalam bentuk blok parafin dikumpulkan, kemudian didinginkan kembali dalam lemari es dan dipotong menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4 μ . Kaca objek dioles dengan albumin untuk merekatkan sediaan yang telah dipotong. Selanjutnya jaringan potongan mikrotom dimasukkan ke dalam *water bath* (<60°C). Potongan di *water bath* diambil dengan kaca objek tadi. *Slide* dibiarkan kering, kemudian diletakkan di atas *slide warmer* (<60°C) selama 15 menit, selanjutnya siap diwarnai.

Proses pewarnaan:



Slide yang berisi jaringan hasil blok parafin tadi direndam xylo selama 5 menit yang dilakukan 2 kali pada 2 wadah.

- 2) Rendam dalam larutan alkohol 95% selama 2 menit, dilakukan 2 kali pada 2 wadah.
- 3) Rendam dalam larutan alkohol 70% selama 2 menit.
- 4) Bilas dengan air mengalir selama 5 menit.
- 5) Rendam larutan *Hematoxyllin Mayer* selama 15 menit
- 6) Bilas dengan air mengalir sampai berwarna biru.
- 7) Rendam dalam larutan eosin 1% selama 5 menit.
- 8) Rendam dalam larutan alkohol 70% selama 2-5 menit.
- 9) Rendam dalam larutan alkohol 95% selama 2-5 menit, dilakukan 2 kali pada 2 wadah.
- 10) Rendam dalam carbol xylol selama 5 menit
- 11) Rendam dalam larutan xylol selama 2-5 menit.
- 12) *Slide* dikeringkan, ditetesi entelan lalu ditutup dengan kaca penutup.
- 13) *Slide* siap untuk dievaluasi di bawah mikroskop.

7. Pemeriksaan *Next Generation 16 S Amplicon Sequencing*

Jaringan Prosesus *Uncinatus* di masukkan dalam tabung ependorf yang berisi medium transport *DNA/ RNA Shield™*, untuk menjaga integritas genetik, ekspresi profil sampel, dan mencegah kontaminasi sel selanjutnya diantar ke Laboratorium HUM RC RSP Lantai 6 untuk dilakukan penyimpanan sampel di suhu -20° hingga jumlah sampel



mencukupi , kemudian *Raw Sampel* akan dikirim ke Laboratorium Genetika Sience di Jakarta untuk isolasi DNA dan kontrol kualitas sampel. Proses pemeriksaan *Next Generation 16S Sequencing* akan dilakukan di Laboratorium NovogeneAIT di Singapura.

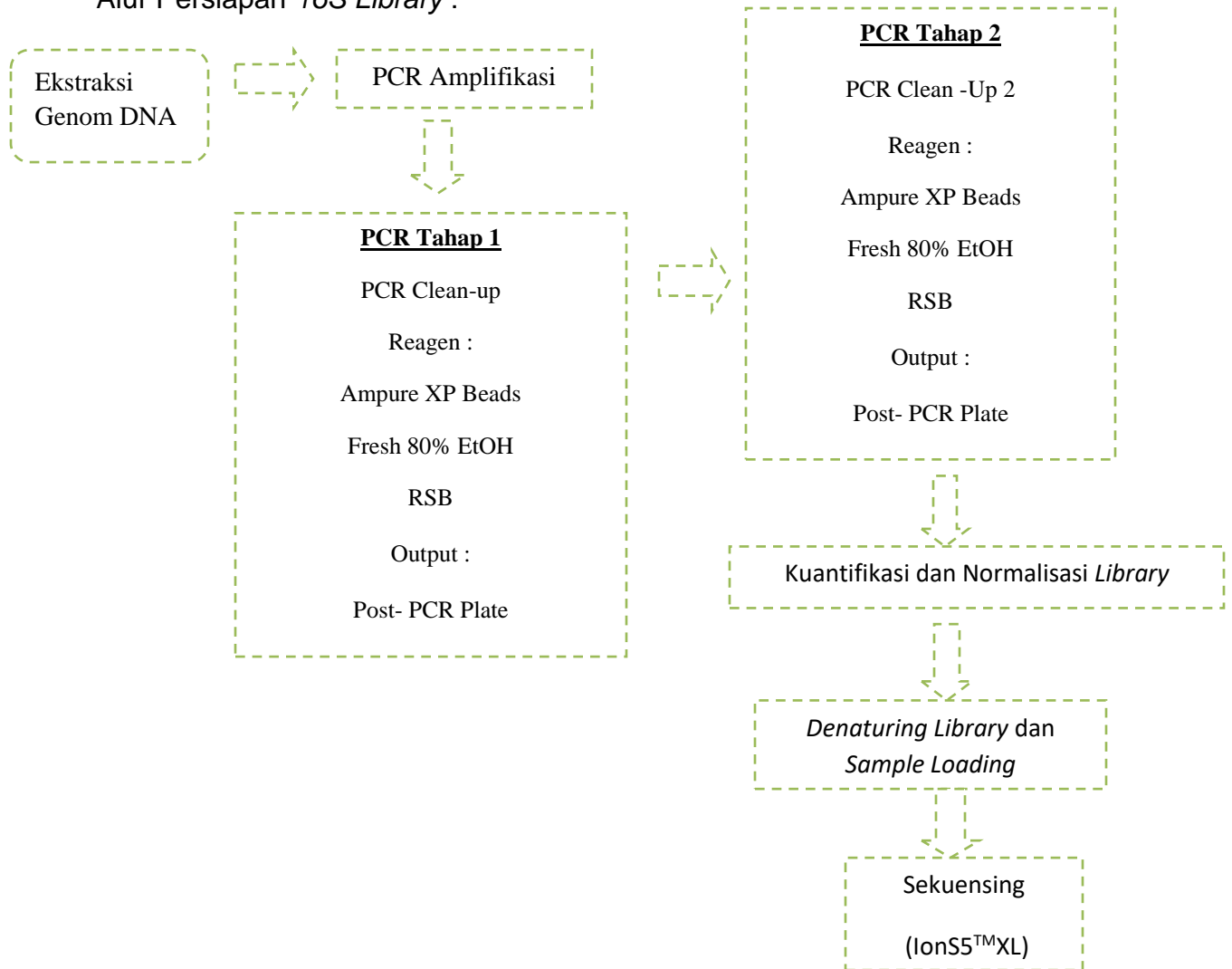
a. Pemeriksaan *Next Generation 16S Amplicon Sekuensing*

Analisa mikrobiom dilakukan dengan *Next Generation 16S Amplicon Sequencing* dilakukan di Laboratorium NovogeneAIT di Singapura . dilakukan prosedur sekuensing untuk mengkonfirmasi identitas genetik bakteri yang selanjutnya dianalisis dengan menggunakan *Uparse Software*, dilakukan analisa keanekaragaman *alpha* dan *beta* kemudian dibandingkan dengan data pada “Bank Gen” pada data base SILVA dan UNITE dengan metode *Basic local alignment search tool (BLAST)*.

Alur kerja pemeriksaan *Next Generation 16S Amplicon Sequencing*, adalah :



Alur Persiapan 16S Library :



- PCR Amplicon

Tahap ini menggunakan proses *polymerase chain reaction* (PCR) untuk mengamplifikasi templat DNA dengan primer spesifik.

Prosedur :



1. Menyiapkan primer (Pro 341F dan Pro 806R), 2x KAPA HiFi Hotstart ReadyMix, dan DNA
 2. Lakukan penyegelan pada plate PCR, lakukan pemeriksaan PCR dengan suhu putaran :
 - 95 °C selama 3 menit
 - 25 siklus : 95°C selama 30 detik, 55° C selama 30 detik, dan 72° C selama 30 detik.
 - 72°C selama 5 menit
 - Dipertahankan pada suhu 4°C
 3. (Pilihan) Lakukan running pada 1 µl hasil produk PCR pada Bioanalyzer DNa 1000 Chip untuk memverifikasi ukuran. Menggunakan pasangan primer V3 dan V4 sesuai protocol. Ukuran yang diharapkan pada ambang pemeriksaan *Bioanalyzer* setelah proses PCR amplicon adalah ~550bp.
- *PCR Clean-Up*

Tahap ini menggunakan *beads* AMPure XP untuk memurnikan amplicon 16S V3 dan V4 dari spesies primer bebas dan primer dimer

Prosedur :



1. Lakukan sentrifus pada plate PCR amplicon 1000 x g pada suhu 20°C selama 1 menit untuk mengambil kondensasi, lepaskan segel secara perlahan.
2. Lakukan *vortex beads AMPure XP* selama 30 detik untuk memastikan beads sudah merata.
3. Tambahkan 20 µl *beads AMPure XP* pada plate PCR amplicon
4. Lakukan penyegelan pada plate, putar dengan kecepatan 1800 rpm selama 2 menit
5. Inkubasi pada suhu ruang selama 5 menit
6. Tempatkan plate pada stan magnetik hingga supernatant jernih.
7. Buang supernatant dengan menggunakan pipet
8. Lakukan pencucian pada *beads* dengan etanol 80%
9. Lakukan pencucian ulang dengan etanol 80%
10. Keringkan *beads* dengan selama 10 menit
11. Tambahkan 52.5µl dari 10mM Tris ph 8,5 pada plate PCR amplicon
12. Lakukan penyegelan pada plate, putar dengan kecepatan 1800 rpm selama 2 menit , pastikan beads terpecah
13. Inkubasi pada suhu ruang selama 2 menit



14. Tempatkan plate pada stan magnetic hingga supernatant jernih

15. Pindahkan 50µl supernatant dari plate PCR amplicon ke plate PCR 96 lubang yang baru.

- PCR Indeks

Tahap ini melekatkan dua indeks dan adaptor sekuensing illumina menggunakan indeks kit Nextera XT

Prosedur :

1. Pindahkan 5 µl kedalam plate 96 lubang yang baru. Sisa 45µl tidak akan digunakan pada protokol ini dan dapat disimpan untuk keperluan lain.
2. Atur indeks primer 1 dan 2 pada rak.
3. Tempatkan plate PCR dengan 96 lubang dengan produk DNA PCR pada *TruSeq Index Plate Fixture*.
4. Menyiapkan masing-masing sampel DNA, primer indeks 1 dan 2 , 2x KAPA HiFi HotStart ReadyMix dan *PCR Grade Water*.
5. Campur sampel dengan menggunakan pipet dengan melepas dan mengisap selama 10 kali
6. Tutup plate dengan Microseal A



7. Sentrifus plate pada 1.000 xg pada suhu 20 °C selama 1 menit
8. Lakukan prosedur PCR dengan suhu :
 - 95 °C selama 3 menit
 - 8 siklus : 95°C selama 30 detik, 55°C selama 30 detik, dan 72°C selama 30 detik
 - 72° C selama 5 menit
 - Pertahankan pada suhu 4°C
- PCR *Clean –Up 2*

Tahap ini menggunakan beads AMPure untuk membersihkan hasil final *library* sebelum proses kuantifikasi

Prosedur :

1. Lakukan sentrifus Indeks plate PCR pada 280xg pada suhu 20°C selama 1 menit untuk kondensasi.
2. Lakukan *vortex beads AMPure XP* selama 30 detik untuk memastikan beads sudah merata.
3. Tambahkan 56µl beads AMPure XP ke dalam masing – masing Plate PCR Indeks
4. Lakukan penyegelan pada plate, putar dengan kecepatan 1800 rpm selama 2 menit
5. Inkubasi pada suhu ruang selama 5 menit



6. Tempatkan plate pada stan magnetik selama 2 menit hingga supernatant bersih
 7. Buang supernatant dengan menggunakan pipet
 8. Lakukan pencucian pada *beads* dengan etanol 80%
 9. Lakukan pencucian ulang dengan etanol 80%
 10. Keringkan *beads* selama 10 menit
 11. Tambahkan 27,5 μ l dari 10 mM Tris PH 8,5 kedalam lubang plate indeks PCR
 12. Lakukan penyegelan pada plate, putar dengan kecepatan 1800 rpm selama 2 menit
 13. Inkubasi pada suhu ruang selama 2 menit
 14. Tempatkan plate pada stan magnetic selama 2 menit atau sampai supernatant jernih
 15. Pindahkan 25 μ l supernatant dari plate PCR indeks ke plate PCR 96 lubang yang baru.
- Proses *Denaturing Library* dan *Loading* sampel *MiSeq*

Dalam persiapan generasi kluster dan sekuensing, *library* yang dikumpulkan dilakukan denaturasi dengan NaOH, dilakukan dilusi dengan buffer hibridisasi, kemudian memanaskan denaturasi sebelum proses sekuensing. Tiap kali proses harus



mencakup 5% PhiX sebagai kontrol internal terhadap keanekaragaman *library* yang kurang.

Denaturasi DNA

Prosedur:

1. Lakukan pencampuran volume DNA final yang dikumpulkan dan dilakukan dilusi 0,2N NaOH pada tabung mikrosentrifus.
2. Simpan dilusi 0,2N NaOH untuk mempersiapkan kontrol PhiX setelah 12 jam.
3. Lakukan prosedur vortex secara singkat untuk pencampuran solusi sampel, kemudian sentrifus pada 280xg dengan suhu 20° C selama 1 menit.
4. Inkubasi pada suhu ruangan selama 5 menit untuk proses denaturasi DNA menjadi rantai tunggal
5. Tambahkan DNA Denaturasi (10µl) dan 990µl HT1 *pre-chilled* kedalam tabung
6. Tempatkan hasil HT1 di tempat dingin (es) sambil menunggu proses dilusi akhir.

Dilusi DNA Denaturasi

Prosedur :



1. Lakukan prosedur dilusi sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan
2. Balikkan beberapa kali untuk proses pencampuran dan lakukan proses sentrifus DNA
3. Simpan hasil denaturasi dan dilusi dalam es

Denaturasi dan Dilusi Kontrol PhiX

Menggunakan prosedur dibawah ini untuk proses denaturasi dan dilusi 10nM PhiX *library* dengan konsentrasi yang sama dengan konsentrasi yang sama dengan *library amplicon*. Hasil akhir pencampuran setidaknya memiliki konsentrasi 5% PhiX.

1. Lakukan pencampuran volume 10nM PhiX *library* (2µl) dan 10 mM Tris pH 8,5 (3 µl) untuk dilusi PhiX *library* 4nM.
2. Lakukan pencampuran volume 4nM PhiX dan 0.2 N NaOH kedalam mikrosentrifus.
3. Lakukan prosedur *vortex* secara singkat untuk mencampur solusi 2nM PhiX *library*.
4. Inkubasi selama 5 menit pada suhu ruang untuk denaturasi PhiX *library* ke dalam rantai tunggal.



5. Tambahkan volume *pre-chilled* HT1 kedalam tabung denaturasi yang berisis larutan PhiX denaturasi untuk menghasilkan 20 pm PhiX *library*.
6. Dilusi 20pM denaturasi PhiX *library* sehingga memiliki konsentrasi yang sama dengan *library amplicon*
7. Balikkan beberapa kali untuk pencampuran dan sentrifus solusi DNA
8. Simpan hasil denaturasi dan delusi PhiX dalam es.

Kombinasi *Library Amplicon* dan Kontrol PhiX

1. Lakukan pencampuran volume denaturasi kontrol *library* PhiX (30µL) dengan *amplicon library* (570µl) pada tabung mikrosentrifus
2. Atur kombinasi sampel dan kontrol PhiX pada es, sampai akan dilakukan pemanasan campuran denaturasi sebelum loading kedalam wadah reagen MiSeq V3
3. Dengan blok panas, inkubasi library campuran dan control PhiX kedalam tabung dengan suhu 96°C selama 2 menit
4. Setelah inkubasi, balikkan tabung 1-2 kali untuk proses pencampuran dan simpan dalam wadah air dingin.
5. Simpan tabung selama 5 menit dalam wadah tersebut
6. Sampel siap untuk dianalisa dengan Software Uparse.



b. Persiapan Sekuensing

1. Ekstraksi Genom DNA

Total genom DNA dari sampel diekstraksi dengan menggunakan metode CTAB/SDS. Konsentrasi DNA dan kemurniannya di onitor pada 1 % gel agarose. Berdasarkan konsentrasinya, DNA didilusi ke dalam 1 ng/μL menggunakan air steril.

2. Generasi Amplicon

16srRNA diamplifikasi menggunakan primer spesifik (16S V4 : 515F-608R) dengan *barcode*. Keseluruhan reaksi PCR dilakukan dengan Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix (New England Biolabs).

3. Kualifikasi dan kuantifikasi produk PCR

Campur produk PCR dengan 1x loading buffer (mengandung SYB Green) dengan volume yang sama dan dilakukan elektroforesis 2% gel agarose untuk deteksi, sampel dengan pita terang antara 400-450bp akan dipilih untuk langkah selanjutnya.

4. Purifikasi dan pencampuran produk PCR

Library yang dihasilkan oleh Ion Plus Fragmen Library Kit 48 rxns untuk Thermofisher diukur dengan Qubit dan Q-PCR lalu disekuensing dengan IonS5™XL (Thermofisher).



c. Analisa Data Sekuensing

Data hasil DNA sekuensing dalam bentuk data BioInformatics kemudian dianalisis dengan menggunakan *software Uparse (Uparse v7.0.1001)*. Software Mothur dilakukan pada data basis SILVA untuk kluster OUT dan anotasi spesies.

IDENTIFIKASI DAN KLASIFIKASI VARIABEL PENELITIAN

Dalam penelitian ini, beberapa variabel dapat diidentifikasi berdasarkan peran dan skalanya :

1. Variabel Dependen adalah Mikrobiom
2. Variabel Independen adalah Rinosinusitis Kronis dengan dan tanpa polip nasi
3. Variabel Antara adalah disbiosis dan inflamasi
4. Variabel Moderator adalah Faktor Lingkungan dan Host.

I. DEFINISI OPERASIONAL

a. Rinosinusitis kronis adalah peradangan hidung dan sinus paranasalis lebih dari kurun waktu 12 minggu dengan karakteristik dua atau lebih gejala berupa hidung tersumbat/ obstruksi/ kongesti atau adanya sekret

(anterior/ posterior nasal drip) dengan atau tanpa : 1) Nyeri wajah/ an daerah sinus. 2) berkurang atau hilangnya penciuman , dan atau bahan tomografi computer (CT scan sinus paranasalis) didapatkan



adanya gambaran penebalan mukosa dengan densitas isodens, perselubungan atau fluid level, obstruksi ostium sinus serta perubahan mukosa pada daerah kompleks ostiomeatal dan atau sinus.

b. Rinosinusitis kronis dengan polip (CRSwNP) adalah rinosinusitis kronis yang dengan pemeriksaan rinoskopi anterior, CT scan sinus paranasalis potongan koronal dan konfirmasi pemeriksaan patologi anatomi terdapat jaringan polip baik di cavum nasi maupun sinus paranasalis.

c. Rinosinusitis kronis tanpa polip (CRSSNP) adalah rinosinusitis kronis yang dengan pemeriksaan rinoskopi anterior, CT scan sinus paranasalis potongan koronal tidak terdapat jaringan polip baik di cavum nasi maupun sinus paranasalis.

d. Bedah Sinus Endoskopi Fungsional (BSEF) adalah teknik operasi pada sinus paranasalis dengan menggunakan endoskop yang bertujuan memulihkan "*mucociliary clearance*" dalam sinus.

e. Prosesus Unsinatus adalah tulang tipis ,merupakan salah satu struktur pembentuk KOM (Kompleks Ostiomeatal), berbentuk seperti sabit.

f. Pemeriksaan Histopatologi adalah pemeriksaan dari jaringan polip yang diambil pada kompleks ostiomeatal, di mana jaringan akan dilakukan

pemeriksaan dan pemotongan makroskopis, diproses sampai siap jadi *slide* atau preparat yang kemudian dilakukan pembacaan di mikroskopis untuk penentuan diagnosis. Pemeriksaan ini



dilakukan untuk memastikan diagnosa rinosinusitis kronis dengan polip nasi.

g. Media transport DNA/ RNA shield TM adalah media yang digunakan untuk membawa sampel ke laboratorium untuk menjaga integritas genetik, ekspresi profil sampel, dan mencegah kontaminasi kuman selama proses penyimpanan dan pengiriman sampel. Sampel selanjutnya akan disimpan pada laboratorium HUM RC RSP lantai 6 dengan suhu penyimpanan - 20^o, setelah jumlah sampel memenuhi, selanjutnya *raw* sampel akan dikirim ke Laboratorium Genetika Science di Jakarta.

h. Kultur Independen adalah aplikasi metode deteksi molekular untuk mendeteksi DNA atau RNA bakteri tanpa harus melalui proses kultur. Dalam penelitian ini kultur independen dilakukan dengan teknik *Next Generation 16S Amplicon Sequencing*.

i. Pemeriksaan *Next Generation 16S Amplicon Sequencing* adalah pemeriksaan metagenomik yang dilakukan dengan menganalisa prokariotik gen 16S ribosomal RNA (16SrRNA) dilakukan di Laboratorium NovogenAIT di Singapura.

j. *Sekuensing* adalah pengurutan DNA adalah proses atau teknik penentuan urutan basa nukleotida pada suatu molekul DNA. Urutan

but dikenal sebagai sekuens DNA, yang merupakan informasi paling dasar suatu gen atau genom karena mengandung instruksi yang diperlukan untuk pembentukan tubuh makhluk hidup.



k. Mikrobiom adalah materi genetik bakteri yang dideteksi pada pasien rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip dengan menggunakan pemeriksaan *Next Generation 16S Sequencing*.

l. Komunitas Mikrobiom adalah kelompok populasi mikrobiom bakteri dari sejumlah spesies yang berbeda pada proses usinus sampel pasien rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip .

m. Kelimpahan Mikrobiom adalah jumlah atau banyaknya bakteri pada proses usinus dalam suatu komunitas pada sampel yang diperiksa dengan menggunakan pemeriksaan *Next Generation 16S Sequencing*.

n. Keragaman Mikrobiom adalah jumlah total spesies dari berbagai macam bakteri yang berbeda dalam suatu komunitas yang diperiksa dengan menggunakan pemeriksaan *Next Generation 16S Sequencing*.
Terdiri atas keragaman alpha yaitu keragaman intra kelompok dan keragaman beta yaitu keragaman antar kelompok.

o. *Operational Taxonomy Unit* adalah suatu kelompok kluster organisme yang memiliki kesamaan gen secara taksonomi pada proses sekuensing DNA dengan pemeriksaan NGS.

p. Indeks Shannon adalah indeks dari keragaman alpha yang digunakan untuk menilai keragaman intra kelompok rinosinusitis dengan dan tanpa

dilakukan analisa dengan menggunakan program QIIMEversi 1.7.0.

Indeks Chao1 adalah indeks dari keragaman alpha yang digunakan

untuk menilai kekayaan spesies intra kelompok rinosinusitis dengan dan



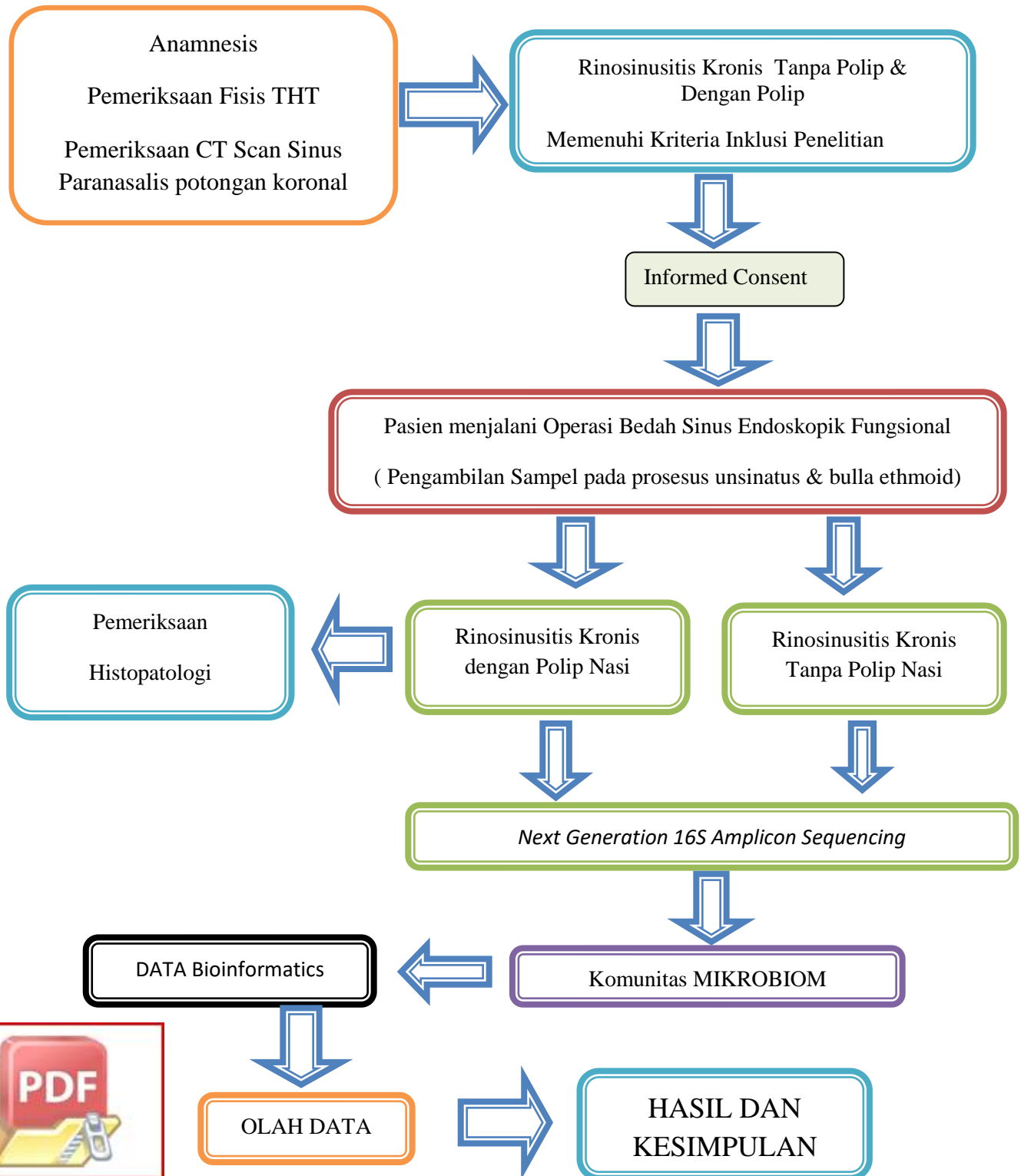
tanpa polip, dilakukan analisa dengan menggunakan program QIIMEversi 1.7.0.

J. PENGOLAHAN DAN ANALISIS DATA

Data *Bioinformatics* yang diperoleh dari hasil penelitian dilakukan pengolahan data dengan menggunakan beberapa software, analisa sekuensing komunitas mikrobiom menggunakan Software Uparse (Uparse v7.0.1001), Analisa OTU (*Operational Taxonomy Unit*) diskriming dengan software Mothur yang dicocokkan dengan database dari SILVA. Analisa keragaman Alpha menggunakan program QIIME (versi 1.7.0) dan di sajikan dengan menggunakan Software R. Analisa keragaman Beta menggunakan program QIIME (versi 1.7.0) dan di sajikan dengan menggunakan Software R dalam bentuk tabel dan grafik yang disertai penjelasan. Keseluruhan analisa sampel pada pemeriksaan Next Generation 16S Sequencing dilakukan dilaboratorium Novogene AIT Singapura dengan nomor analisa hasil H101SC19020094 .



K. ALUR PENELITIAN



L. BIAYA PENELITIAN

Biaya Penelitian dan pemeriksaan ditanggung kepada peneliti sendiri dan tidak dibebankan kepada pasien.



BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. HASIL PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo dan RS Universitas Hasanuddin, selama periode waktu Januari 2019 – Maret 2019. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi komunitas mikrobiom pada pasien dengan rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip pada dua puluh orang pasien. Sepuluh pasien yang menderita rinosinusitis kronis dengan polip dan sepuluh pasien yang menderita rinosinusitis kronis tanpa polip .

Semua pasien pada kedua kelompok dilakukan pemeriksaan *Next Generation 16s sequencing* dan pemeriksaan patologi anatomi pada pasien rinosinusitis kronis dengan polip. Total terdapat dua puluh sampel dilakukan pemeriksaan mikrobiom dengan *Next Generation 16s Sequencing* untuk kedua kelompok penelitian dan sepuluh sampel kelompok rinosinusitis kronis dengan polip untuk pemeriksaan patologi anatomi.



1. Karakteristik Sampel Penelitian

Tabel 4. Karakteristik umur, jenis kelamin pasien rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip

Variabel	n (20)	%
Kelompok Umur :		
18 - 28 tahun	10	50
29 - 39 tahun	6	30
40-50 tahun	1	5
>50 tahun	3	15
Jenis Kelamin :		
Laki-Laki	9	45
Perempuan	11	55
Jenis Rinosinusitis kronis :		
Rinosinusitis kronis tanpa polip	10	50
Rinosinusitis kronis dengan polip	10	50

Berdasarkan Tabel 4 menunjukkan bahwa umur sampel bervariasi antara 18 hingga 62 tahun dengan sampel terbanyak pada kelompok umur 18-28 tahun sebanyak 10 sampel (50%) disusul kelompok umur 29-39 tahun sebanyak 6 sampel (30%), kelompok umur > 50 tahun sebanyak 3 sampel (15 %), dan kelompok umur 40-50 tahun sebanyak 1 sampel (5%) .

Jenis kelamin terbanyak pada penelitian ini adalah perempuan yaitu sebanyak 11 sampel (55 %) dan laki-laki sebanyak 9 sampel (45 %).

dan berdasarkan jenis rinosinusitis didapatkan rinosinusitis kronis



tanpa polip nasi sebanyak 10 (50%) dan rinosinusitis kronis dengan polip nasi sebanyak 10 (50 %)

2. Hasil Pemeriksaan Histopatologi

Tabel 5. Hasil Pemeriksaan Histopatologi pasien rinosinusitis kronis dengan Polip

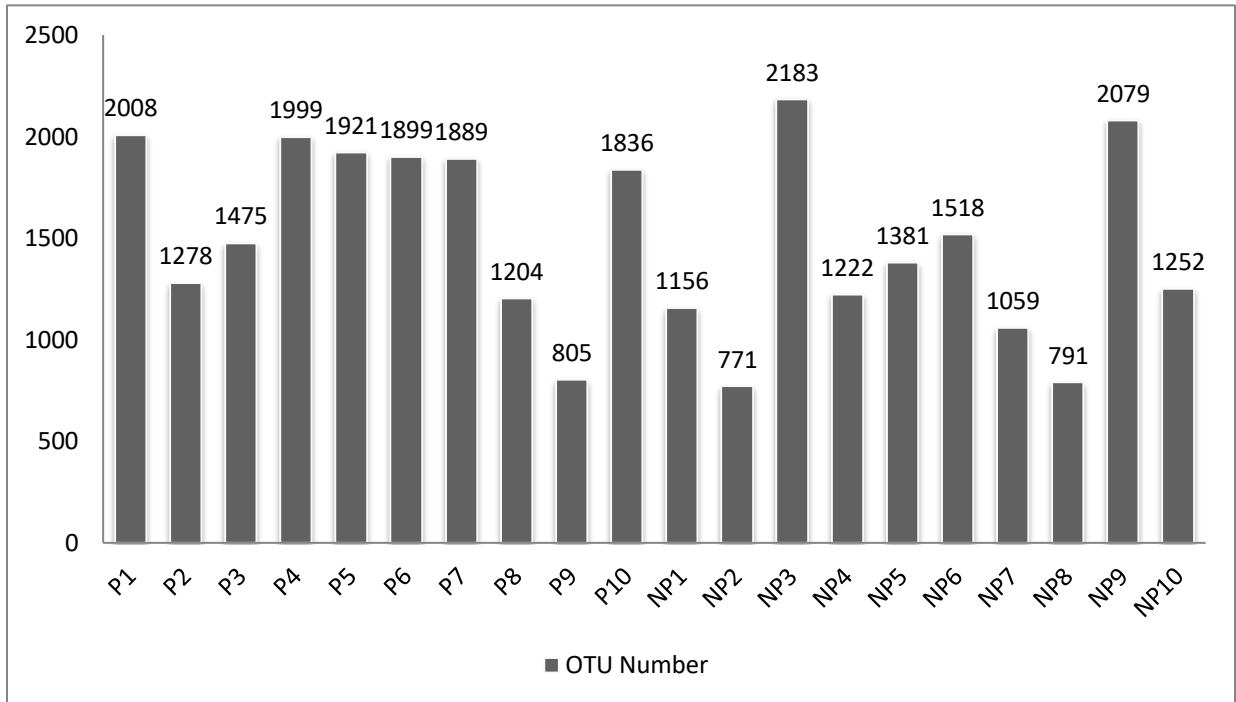
Hasil Patologi Anatomi	N	%
Polip Neutrofil	7	70
Polip Eosinofil	3	30
Total	10	100

Dari tabel 5 diatas menunjukkan bahwa hasil histopatologi terbanyak pada sampel penelitian kelompok rinosinusitis dengan polip adalah polip Neutrofil sebanyak 7 pasien (70%) disusul oleh polip Eosinofil sebanyak 3 pasien (30%).



3. Analisa mikrobiom dengan *Next Generation 16S Sequencing*

a. Identifikasi jumlah OTU (*Operation Taxonomy Unit*) pada rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip



Grafik.1 Identifikasi jumlah OTU (*Operation Taxonomy Unit*) pada sampel rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip

Pada pemeriksaan *Next generation 16s sequencing* untuk mengidentifikasi spesies, keseluruhan hasil pembacaan efektif yang memiliki kesamaan sekuensing diatas 97% dikelompokkan dalam satu OTU (*Operation Taxonomy Unit*). Grafik 1 diatas menunjukkan jumlah OTU yang

pada masing-masing sampel yaitu Sampel P1 (2008 OTU), Sampel P2 (1278 OTU), Sampel P3 (1475 OTU), Sampel P4 (1999 OTU), Sampel P5 (1921 OTU), Sampel P6 (1899 OTU), Sampel P7 (1889 OTU), Sampel P8 (1204 OTU), Sampel P9 (805 OTU), Sampel P10 (1836 OTU), Sampel NP1 (1156 OTU), Sampel NP2 (771 OTU), Sampel NP3 (2183 OTU), Sampel NP4 (1222 OTU), Sampel NP5 (1381 OTU), Sampel NP6 (1518 OTU), Sampel NP7 (1059 OTU), Sampel NP8 (791 OTU), Sampel NP9 (2079 OTU), Sampel NP10 (1252 OTU).



P5 (1921 OTU), Sampel P6 (1899 OTU), Sampel P7 (1899 OTU), Sampel P8 (1204 OTU), Sampel P9 (805 OTU), Sampel P10 (1836 OTU), Sampel NP1 (1156 OTU), Sampel NP2 (771 OTU), Sampel NP3 (2183 OTU), Sampel NP4 (1222 OTU), Sampel NP 5 (1381 OTU), Sampel NP6 (1518 OTU), Sampel NP7 (1059 OTU), Sampel NP 8 (791 OTU), Sampel NP 9 (2079 OTU) dan Sampel NP 10 (1252 OTU). Jumlah OTU pada pemeriksaan *Next Generation 16S sequencing* bervariasi dari 771 OTU pada sampel NP2 hingga 2183 OTU pada sampel NP3 dengan nilai rata-rata OTU 1486.

b. Komunitas Filum dominan, pohon taksonomi dan presentase mikrobiom bakteri pada rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip

Tabel 6. Kluster filum dominan bakteri pada rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip

Kelompok	Filum
CRS _w NP	<i>Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes Fusobacteria, Proteobacteria</i>
CRS _s NP	<i>Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes Fusobacteria, Proteobacteria</i>

Tabel 6 menunjukkan bahwa pada kelompok pasien rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip memiliki kluster filum dominan yang sama

Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes Fusobacteria, dan
acteria.



- Kingdom
- Phylum
- Class
- Order
- Family
- Genus
- Species

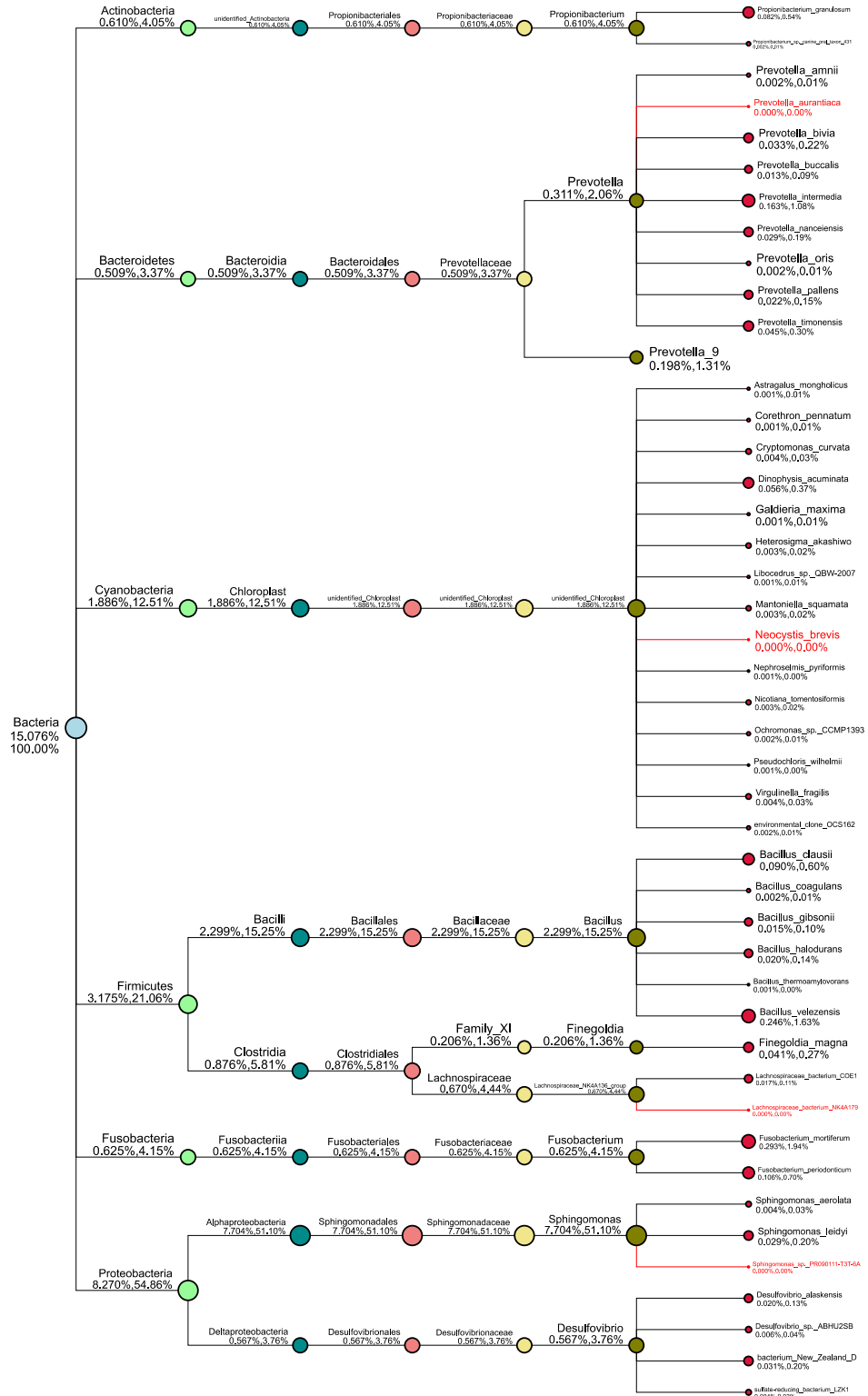
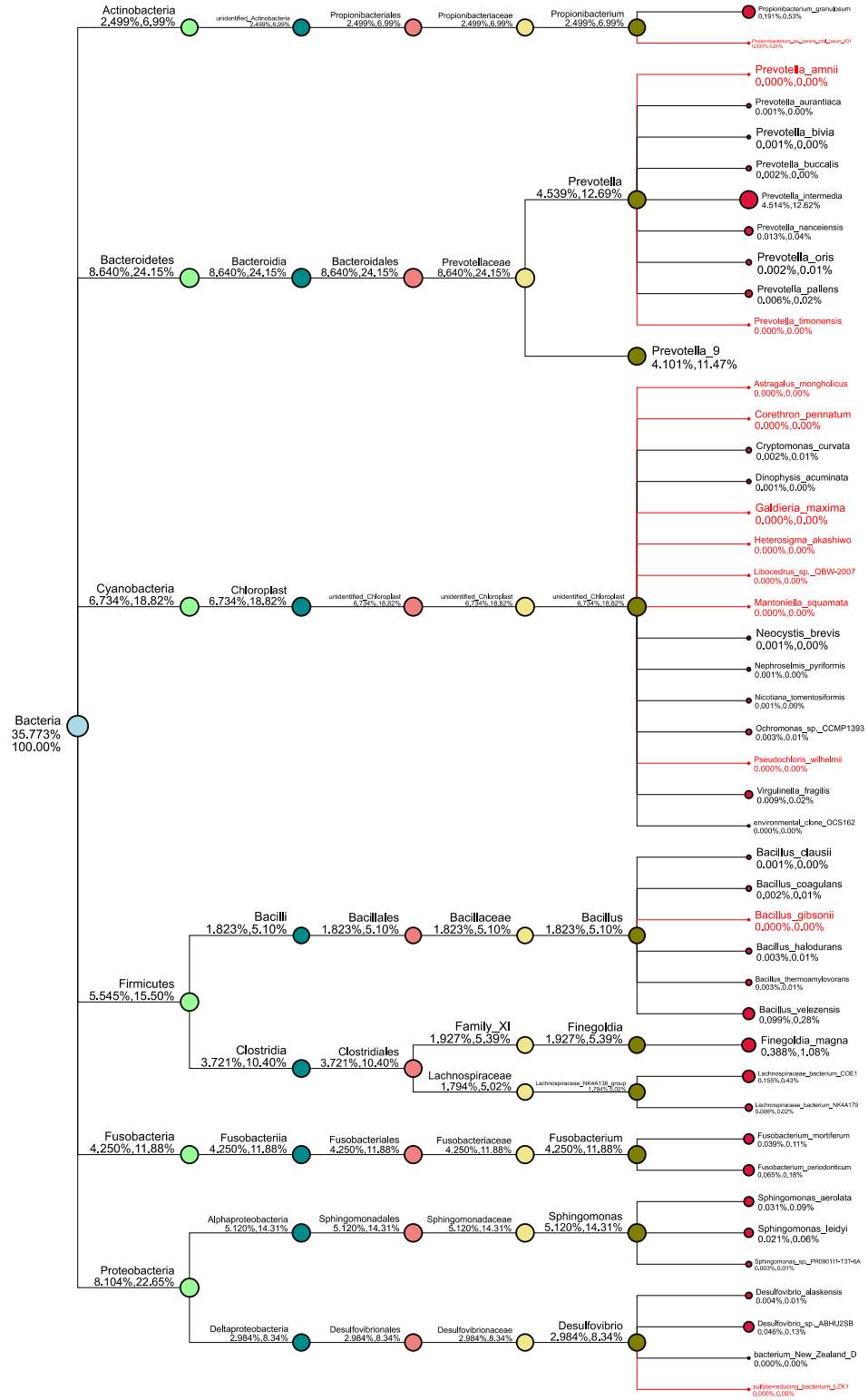
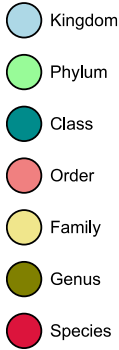


Figure 8. Pohon taksonomi mikrobiom pada rinosinusitis kronis dengan polip





9. Pohon taksonomi mikrobiom pada rinosinusitis kronis tanpa polip



Gambar 8 dan gambar 9 menunjukkan gambar pohon taksonomi pada kelompok pasien rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip dimana kedua kelompok memiliki OTU (*Operation Taxonomy Unit*) filum bakteri dominan yang sama, hanya presentase masing-masing dari filum bakteri yang berbeda (dipaparkan pada tabel 7, tabel 8 dan grafik 2).

Berdasarkan urutan taksonomi, kelimpahan OTU (*Operation Taxonomy Unit*) yang dominan yaitu Filum *Actinobacteria*, ordo *Propionibacteriales*, famili *Propionibacteriaceae*, genus *Propionibacterium*. Filum *Bacteroidetes*, ordo *Bacteroidales*, famili *Prevotellaceae*, genus *Prevotella* dan *Prevotella_9*.

Filum *Cyanobacteria*, ordo *Unidentified Chloroplast*, famili *Unidentified Chloroplast*, genus *Unidentified Chloroplast*.

Filum *Firmicutes*, ordo *Bacillales* dan *Clostridiales*, famili *Bacillaceae*, *Family IX* dan *Lachnospiraceae*, genus *Bacillus*, *Fingoldia*, dan *Lachnospiraceae_NK4A136*.

Filum *Fusobacteria*, ordo *Fusobacteriales*, famili *Fusobacteriaceae*, genus *Fusobacterium*.

Filum *Proteobacteria*, ordo *Alphaproteobacteria* dan *Betaproteobacteria*, famili *Sphingomonadaceae* dan *Desulfovibrionaceae*, genus *Sphingomonas*, dan *Desulfovibrio*.

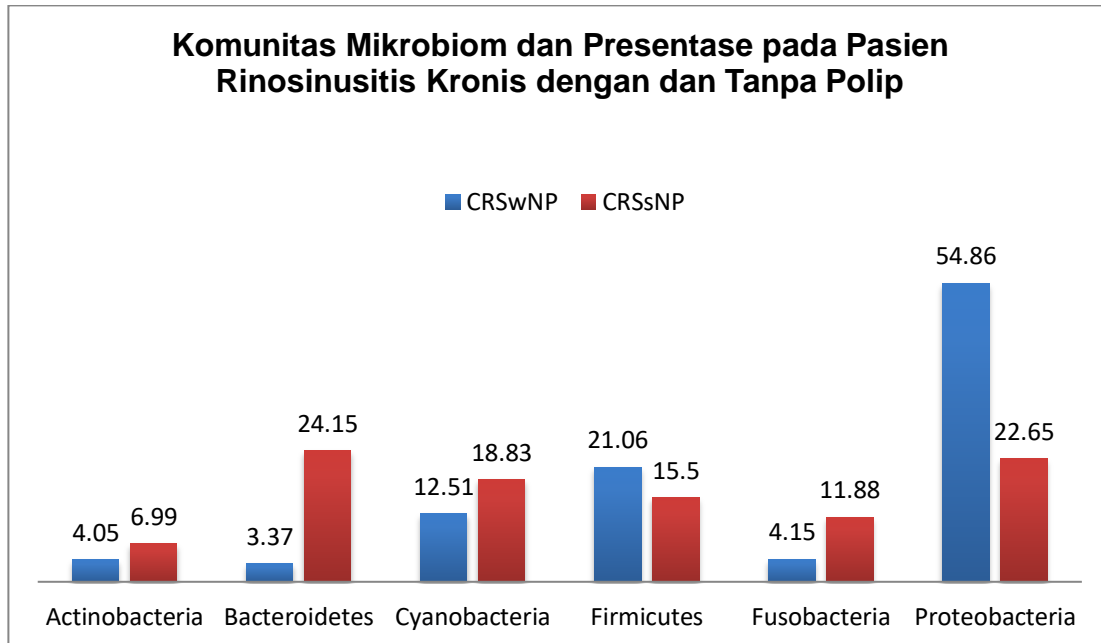


Gambar 10 menunjukkan distribusi 100 genus bakteri teratas pada rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip diantaranya genus *Propionibacterium*, *Prevotella*, *Prevotella_9*, *Unidentified Chloroplast*, *Bacillus*, *Finexgoldia*, *Lachnospiraceae_NK4A136*, *Fusobacterium*, *Sphingomonas*, *Desulfovibrio*, *Alistipes*, *Bacteroides*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Faecalibacterium*, *Haemophilus*, *Helicobacter*, *Bradyrhizobium*, *Rhizobium*, *Escherichia_Shigella*, *Moxarella*, *Pseudomonas*, dan *Stenotrophomonas*.

Tabel 7. Komunitas filum dominan mikrobiom dan presentase pada rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip.

Filum	RSK tanpa polip	Filum	RSK dengan Polip
<i>Bacteroidetes</i>	24,15 %	<i>Proteobacteria</i>	54,86%
<i>Proteobacteria</i>	22,65%	<i>Firmicutes</i>	21,06%
<i>Cyanobacteria</i>	18,83%	<i>Cyanobacteria</i>	12,51%
<i>Firmicutes</i>	15,50 %	<i>Fusobacteria</i>	4,15%
<i>Fusobacteria</i>	11,88%	<i>Actinobacteria</i>	4,05%
<i>Actinobacteria</i>	6,99 %	<i>Bacteroidetes</i>	3,37%
Total	100 %	Total	100%





Grafik. 2 Presentase komunitas filum dominan mikrobiom pada rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip

Dari tabel 7 dan grafik 2 diatas menunjukkan , filum bakteri dominan pada pasien rinosinusitis kronis tanpa polip yaitu *Bacteroidetes* (24,15%), *Proteobacteria* (22,65%), *Cyanobacteria* (18,83%), *Firmicutes* (15,50%), *Fusobacteria* (11,88%), dan *Actinobacteria* (6,99%).

Sedangkan filum bakteri dominan pada pasien rinosinusitis kronis dengan polip yaitu *Proteobacteria* (54,86%), *Firmicutes* (21,06%), *Cyanobacteria* (12,51%), *Fusobacteria* (4,15%), *Actinobacteria* (4,05%), dan *Bacteroidetes* (3,37%).



Tabel 8. Perbandingan komunitas dominan filum bakteri komensal dan patogen pada rinosinusitis kronis tanpa polip

	Bacteroidetes	Firmicutes	Actinobacteria	Jumlah
Filum bakteri komensal	24,15 %	15,5%	6,99%	46,64 %
	Proteobacteria	Cyanobacteria	Fusobacteria	
Filum bakteri patogen	22,65%	18,83%	11,88%	53,36 %
	Total			100 %

Tabel 8 menunjukkan komunitas filum bakteri komensal yang dominan pada rinosinusitis tanpa polip yaitu *Bacteroidetes* 24,15%, *Firmicutes* 15,5%, dan *Actinobacter* 6,99% Sedangkan komunitas filum bakteri patogen yang dominan pada rinosinusitis tanpa polip yaitu *Proteobacteria* 22,65%, *Cyanobacteria* 18,83%, dan *Fusobacteria* 11,88%.

Tabel 9. Perbandingan komunitas dominan filum bakteri komensal dan patogen pada rinosinusitis kronis dengan polip

	Firmicutes	Actinobacteria	Bacteriodetes	Jumlah
Filum bakteri komensal	21,06 %	4,05%	3,37%	28,48 %
	Proteobacteria	Cyanobacteria	Fusobacteria	
Filum bakteri Patogen	54,86%	12,51%	4,15%	71,52 %
	Total			100 %



Tabel 9 menunjukkan komunitas filum bakteri komensal yang dominan pada rinosinusitis dengan polip yaitu *Firmicutes* 21,06%, *Actinobacter* 4,05%, dan *Bacteroidetes* 3,37%. Sedangkan komunitas filum bakteri komensal yang dominan pada rinosinusitis dengan polip yaitu *Proteobacteria* 54,86%, *Cyanobacter* 12,51%, dan *Fusobacteria* 4,15%.

Tabel 10. Proporsi perbandingan filum bakteri komensal dan patogen pada rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip

Filum	RSK tanpa polip	RSK dengan polip	Jenis Bakteri
<i>Actinobacteria</i>	6,99 %	4,05 %	Komensal
<i>Bacteroidetes</i>	24,15 %	3,37 %	Komensal
<i>Cyanobacteria</i>	18,82 %	12,51 %	Patogen
<i>Firmicutes</i>	15,50 %	21,06 %	Komensal
<i>Fusobacteria</i>	11,88 %	4,15 %	Patogen
<i>Proteobacteria</i>	22,65 %	54,86 %	Patogen
Jumlah	100 %	100%	

Pada tabel 10 diatas menunjukkan proporsi perbandingan filum bakteri komensal dan patogen pada rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip

pada tabel bahwa filum *Actinobater* pada kelompok rinosinusitis kronis polip sebesar 6,99 % dan pada kelompok rinosinusitis kronis dengan



polip sebesar 4,05%. Filum *Bacteroidetes* pada kelompok rinosinusitis kronis tanpa polip sebesar 24,15% dan pada kelompok rinosinusitis kronis dengan polip sebesar 3,37%. Filum *Cyanobacteria* pada kelompok rinosinusitis kronis tanpa polip sebesar 18,82% dan pada kelompok rinosinusitis kronis dengan polip sebesar 12,51%. Filum *Firmicutes* pada kelompok rinosinusitis kronis tanpa polip sebesar 15,50% dan pada kelompok rinosinusitis kronis dengan polip sebesar 21,06%. Filum *Fusobacteria* pada kelompok rinosinusitis kronis tanpa polip sebesar 11,88% dan pada kelompok rinosinusitis kronis dengan polip sebesar 4,15%. Filum *Proteobacteria* pada pada kelompok rinosinusitis kronis tanpa polip sebesar 22,65% dan pada kelompok rinosinusitis kronis dengan polip sebesar 54,86%.



Tabel 11. Presentase kelimpahan mikrobiom pada OTU (*Operation Taxonomy Unit*) atau phylotipe yang dominan diklasifikasikan berdasarkan urutan Filum, Ordo, Famili dan Genus pada rinosinusitis kronis tanpa polip

Fillum	Kelas	Ordo	Famili	Genus
Actinobacteria (6,99%)	Unidentified _Actinobacteria (6,99%)	Propiobacteriales (6,99%)	Propionibacteriaceae (6,99%)	Propionibacterium (6,99%)
Bacteroidetes (24,15%)	Bacteroidia (24,15%)	Bacteroidales (24,15%)	Prevotellaceae (24,15%)	Prevotella (12,69%) Prevotella_9 (11,47%)
Cyanobacteria (18,82%)	Chloroplast (18,82%)	Unidentified _Chloroplast (18,82%)	Unidentified _Chloroplast (18,82%)	Unidentified _Chloroplast (18,82%)
Firmicutes (15,50%)	Bacilli (5,10%)	Bacillales (5,10%)	Bacillaceae (5,10%)	Bacillus (5,10%)
	Clostridia (10,40%)	Clostridiales (10,40%)	Family_XI (5,39%) Lachnospiraceae (5,02%)	Finegoldia (5,39%) Lachnospiraceae_NK4A136_group (5,02%)
Fusobacteria (11,88%)	Fusobacteriia (11,88%)	Fusobacteriales (11,88%)	Fusobacteriaceae (11,88%)	Fusobacterium (11,88%)
Proteobacteria (22,65%)	Alphaproteobacteria (14,31%)	Sphingomonadales (14,31%)	Sphingomonadaceae (14,31%)	Sphingomonas (14,31%)
	Deltaproteobacteria (8,34%)	Desulfovibrionales (8,34%)	Desulfovibrionaceae (8,34%)	Desulfovibrio (8,34%)

Dari tabel 11 menunjukkan komposisi bakteri dominan pada pasien rinosinusitis kronis tanpa polip yaitu Filum *Bacteroidetes* (24,15%), kelas *Bacteroidia*, ordo *Bacteroidales*, famili *Prevotellaceae*, genus *Prevotella* (12,69%) dan *Prevotella_9* (11,47%).

Filum *Proteobacteria* (22,65%), kelas *Alphaproteobacteria* (14,31%) dan *Deltaproteobacteria* (8,34%) , ordo *Sphingomonadales* (14,31%), dan *vibrionales* (8,34%), famili *Sphingomonadaceae* (14,31%) dan



Desulfovibrionaceae (8,34%), genus *Sphingomonas* (14,31%), dan *Desulfovibrio* (8,34%).

Filum *Cyanobacteria* (18,83%), kelas *Chloroplast* (18,83%), ordo *Unidentified Chloroplast* (18,83%), famili *Unidentified Chloroplast* (18,83%), genus *Unidentified Chloroplast* (18,83%).

Filum *Firmicutes* (15,50%) , kelas *Bacili* (5.10%) dan *Clostridia* (10.40%), ordo *Bacillales* (5.10%) dan *Clostridiales* (10.40%), famili *Bacillaceae* (5.10%), *Family IX* (5.39%) dan *Lachnospiraceae* (5.02%) , genus *Bacillus* (5.10%), *Finegoldia* (5.39%) dan *Lachnospiraceae_NK4A136* (5.02%) .

Filum *Fusobacteria* (11,88%) , kelas *Fusobacteriia* (11,88%), ordo *Fusobacteriales* (11,88%), famili *Fusobacteriaceae* (11,88%), genus *Fusobacterium* (11,88%).

Filum *Actinobacteria* (6,99%), kelas *Unidentified Actinobacteria* (6,99%), ordo *Propionibacteriales* (6,99%), famili *Propionibacteriaceae* (6,99%), genus *Propionibacterium* (6,99%).



Tabel 12. Presentase kelimpahan mikrobiom pada OTU (*Operation Taxonomy Unit*) atau phylotipe yang dominan diklasifikasikan berdasarkan urutan Filum, Ordo, Famili dan Genus pada rinosinusitis kronis dengan polip

Fillum	Kelas	Ordo	Famili	Genus
Actinobacteria (4,05%)	Unidentified _Actinobacteria (4,05%)	Propiobacteriales (4,05%)	Propionibacteriaceae (4,05%)	Propionibacterium (4,05%)
Bacteroidetes (3.37%)	Bacteroidia (3.37%)	Bacteroidales (3.37%)	Prevotellaceae (3.37%)	Prevotella (2,06%) Prevotella_9 (1,31%)
Cyanobacteria (12.51%)	Chloroplast (12.51%)	Unidentified _Chloroplast (12.51%)	Unidentified _Chloroplast (12.51%)	Unidentified _Chloroplast (12.51%)
Firmicutes (21.06%)	Bacilli (15.25%)	Bacillales (15.25%)	Bacillaceae (15.25%)	Bacillus (15.25%)
	Clostridia (5.81%)	Clostridiales (5.81%)	Family_XI (1,36%) Lachnospiraceae (4,44%)	Fingoldia (1,36%) Lachnospiraceae_NK4A136 _group (4,44%)
Fusobacteria (4.15%)	Fusobacteriia (4.15%)	Fusobacteriales (4.15%)	Fusobacteriaceae (4.15%)	Fusobacterium (4.15%)
Proteobacteria (54.86%)	Alphaproteobacteria (51.10%)	Sphingomonadales (51.10%)	Sphingomonadaceae (51.10%)	Sphingomonas (51.10%)
	Deltaproteobacteria (3.76%)	Desulfovibrionales (3.76%)	Desulfovibrionaceae (3.76%)	Desulfovibrio (3.76%)

Dari tabel 12 menunjukkan komposisi bakteri dominan pada pasien rinosinusitis kronis dengan polip yaitu Filum *Proteobacteria* (54,86%) , kelas *Alphaproteobacteria* (51.10%) dan *Deltaproteobacteria* (3.76%), ordo *Sphingomonadales* (51.10%), dan *Desulfovibrionales* (3.76%), famili *Sphingomonadaceae* (51.10%) dan *Desulfovibrionaceae* (3.76%), genus *Sphingomonas* (51.10%) dan *Desulfovibrio* (3.76%).

... ilum *Firmicutes* (21,06%), kelas *Bacilli* (15.25%) dan *Clostridia* ordo *Bacillales* (15.25%) dan *Clostridiales* (5.81%), famili



Bacillaceae (15.25%) , *Family IX* (1,36%) dan *Lachnospiraceae* (4,44%) ,
genus *Bacillus* , *Finegoldia* (1,36%) dan *Lachnospiraceae_NK4A136* (4,44%).

Filum *Cyanobacteria* (12,51%) kelas *Chloroplast* (12,51%), ordo
Unidentified Chloroplast (12,51%), famili *Unidentified Chloroplast* (12,51%),
genus *Unidentified Chloroplast* (12,51%).

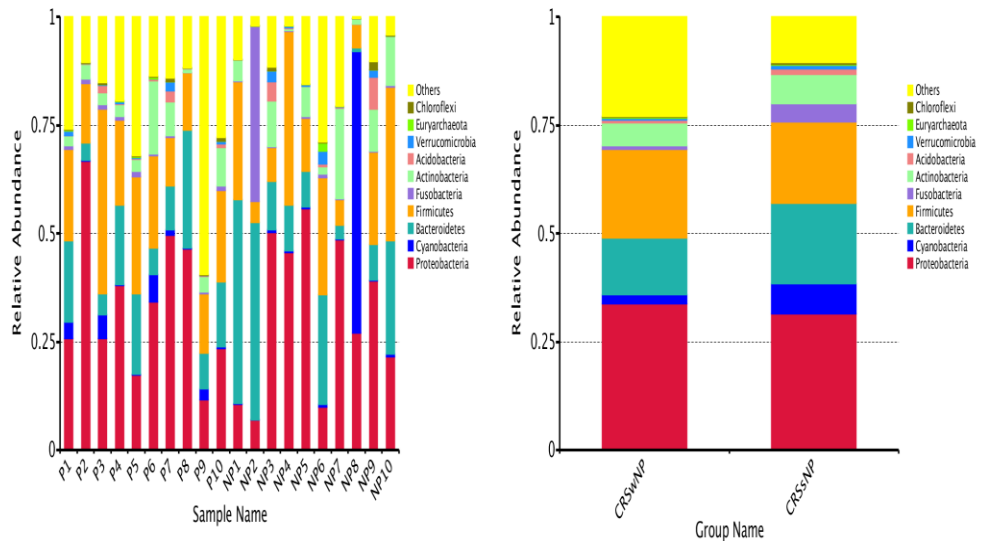
Filum *Fusobacteria* (4,15%) kelas *Fusobacteriia* (4,15%), ordo
Fusobacteriales (4,15%), famili *Fusobacteriaceae* (4,15%), genus
Fusobacterium (4,15%).

Filum *Actinobacteria* (4,05%) kelas *Unidentified Actinobacteria*
(4,05%), ordo *Propionibacteriales* (4,05%), famili *Propionibacteriaceae*
(4,05%), genus *Propionibacterium* (4,05%).

Filum *Bacteroidetes* (3,37%) , kelas *Bacteroidia* (3,37%), ordo
Bacteroidales (3,37%), famili *Prevotellaceae* (3,37%), genus *Prevotella*
(2,06%) dan *Prevotella_9* (1,31%) .



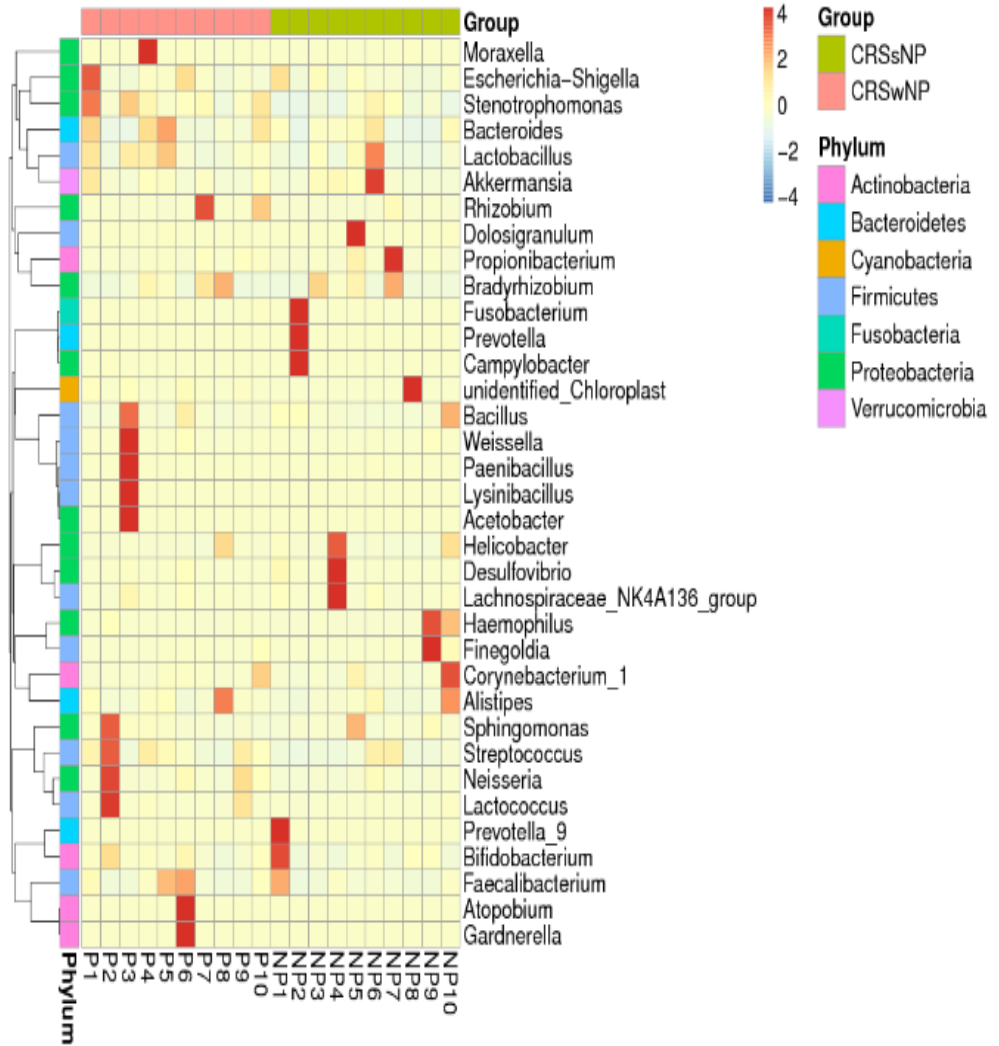
c. Kelimpahan relatif mikrobiom pada rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip



Grafik 3. Distribusi kelimpahan relatif dari 10 spesies terbanyak pada rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip

Pada grafik 3 diatas, menunjukkan kelompok pasien rinosinusitis kronis tanpa polip memiliki kelimpahan relatif komunitas mikrobiom bakteri lebih banyak dibandingkan kelompok rinosinusitis kronis dengan polip .





Grafik 4. Kelimpahan dan keragaman Filum dan Genus berdasarkan Heatmap pada masing-masing sampel pasien rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip



Grafik 4 diatas menunjukkan kelimpahan dan keragaman filum dan genus berdasarkan heatmap pada masing-masing sampel rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip.

Tabel 13. Kelimpahan dan keragaman Genus berdasarkan Heat Map pada masing-masing sampel pasien rinosinusitis kronis dengan polip

Genus	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
<i>Moraxella</i>				+4						
<i>E.Shigella</i>	+3					+2				
<i>Stenotrophomonas</i>	+2		+2	+1						+2
<i>Bacterioides</i>	+2			+2	+3					+2
<i>Lactobacillus</i>	+2		+1	+2	+2					
<i>Akkermansia</i>	+1									
<i>Rhizobium</i>							+4			+2
<i>Dolosigranulum</i>										
<i>Propionibacterium</i>										
<i>Bradyrhizobium</i>							+1	+3		
<i>Fusobacterium</i>										
<i>Prevotella</i>										
<i>Campylobacter</i>										
<i>Unidentified</i>							+1			
<i>_Chloroplast</i>										
<i>Bacillus</i>			+3							
<i>Weisella</i>			+4							
<i>Paenibacillus</i>			+4							
<i>Lysinibacillus</i>			+4							
<i>Acetobacter</i>			+4							
<i>Helicobacter</i>								+2		
<i>Desulfovibrio</i>										
<i>Lachnospiraceae_NK4A136_group</i>										
<i>Haemophilus</i>										
<i>Fingoldia</i>										
<i>Corynebacterium_1</i>										+1
<i>Alistipes</i>								+3		
<i>Sphingomonas</i>		+3								
<i>Streptococcus</i>	+1	+3		+1					+1	
<i>Neisseria</i>		+4							+1	
<i>Lactococcus</i>		+4							+1	
<i>Prevotella_9</i>										
<i>Bifidobacterium</i>		+1								
<i>Faecalibacterium</i>	+1				+2	+3				
<i>Atopobium</i>						+4				
<i>Gardnerella</i>						+4				



Pada tabel 13 menunjukkan kelimpahan sampel berdasarkan genus pasien rinosinusitis kronis dengan polip yaitu pada sampel P1 terdapat genus bakteri *E. Shigella*, *Stenotrophomonas*, *Bacteroides*, *Lactobacillus*, *Akkermansia*, *Streptococcus*, dan *Faecalibacterium*, sampel P2 terdapat genus bakteri *Sphingomonas*, *Streptococcus*, *Neisseria*, *Lactococcus*, dan *Bifidobacterium*, sampel P3 terdapat genus bakteri *Stenotrophomonas*, *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Weisella*, *Paenibacillus*, *Lysinibacillus*, dan *Acetobacter*, sampel P4 terdapat genus bakteri *Moraxella*, *Stenotrophomonas*, *Bacteroides*, dan *Lactobacillus*, sampel P5 terdapat genus bakteri *Bacteroides*, *Lactobacillus*, dan *Faecalibacterium*, sampel P6 terdapat genus bakteri *E. shigella*, *Faecalibacterium*, *Atopobium*, dan *Gardnerella*, sampel P7 terdapat genus bakteri *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, dan *Unidentified Chloroplast*, sampel P8 terdapat genus bakteri *Bradyrhizobium*, *Helicobacter* dan *Alistipes*, sampel P9 terdapat genus bakteri *Streptococcus*, *Neisseria*, dan *Lactococcus*. Sedangkan sampel P10 terdapat genus bakteri *Stenotrophomonas*, *Bacteroides*, dan *Corynebacterium_1*



Tabel 14. Kelimpahan dan keragaman Genus berdasarkan Heat Map pada masing-masing sampel pasien rinosinusitis kronis tanpa polip

Genus	NP1	NP2	NP3	NP4	NP5	NP6	NP7	NP8	NP9	NP10
Moraxella										
E. Shigella	+2									
Stenotrophomonas						+1				
Bacterioides						+2				
Lactobacillus						+3				
Akkermansia						+4				
Rhizobium										
Dolosigranulum					+4					
Propionibacterium					+1		+4			
Bradyrhizobium			+2		+1		+3			
Fusobacterium		+4								
Prevotella		+4								
Campylobacter		+4								
Unidentified _Chloroplast								+4		
Bacillus										23
Weisella										
Paenibacillus										
Lysinibacillus										
Acetobacter										
Helicobacter				+3						+1
Desulfovibrio				+4						
Lachnospiraceae_NK4A136_group				+4						
Haemophilus									+3	+2
Finegoldia								+4		
Corynebacterium_1					+1	+1				+4
Alistipes										+3
Sphingomonas					+2					
Streptococcus							+1	+1		
Neisseria										
Lactococcus										
Prevotella_9	+4									
Bifidobacterium	+3									
Faecalibacterium	+2									
Atopobium										
Gardnerella										

Tabel 14 menunjukkan kelimpahan genus pada sampel pasien

rinosinusitis kronis tanpa polip nasi yaitu pada sampel NP1 terdapat genus

E. Shigella, *Prevotella_9*, *Bifidobacterium*, dan *Faecalibacterium*,



sampel NP2 terdapat genus *Fusobacterium*, *Prevotella*, dan *Campylobacter*, sampel NP3 terdapat genus bakteri *Bradyrhizobium*, sampel NP4 terdapat genus bakteri *Helicobacter*, *Desulfovibrio*, dan *Lachnospiraceae*_ NK4A136 grup, sampel NP5 terdapat genus *Dosigranulum*, *Propionibacterium*, *Sphingomonas*, *Corynebacterium_1*, *Streptococcus* dan *Bradyrhizobium*, sampel NP6 terdapat genus *Stenotrophomonas*, *Bacteroides*, *Lactobacillus*, dan *Akkermansia*, sampel NP7 terdapat genus *Propionibacterium*, *Bradyrhizobium*, dan *Streptococcus*, sampel NP8 terdapat genus bakteri *Unidentified_Chloroplast*, sampel NP9 terdapat genus bakteri *Haemophilus*, dan *Finegoldia*, sedangkan pada NP10 terdapat genus bakteri *Bacillus*, *Helicobacter*, *Haemophilus*, *Corynebacterium_1*, dan *Alistipes*.

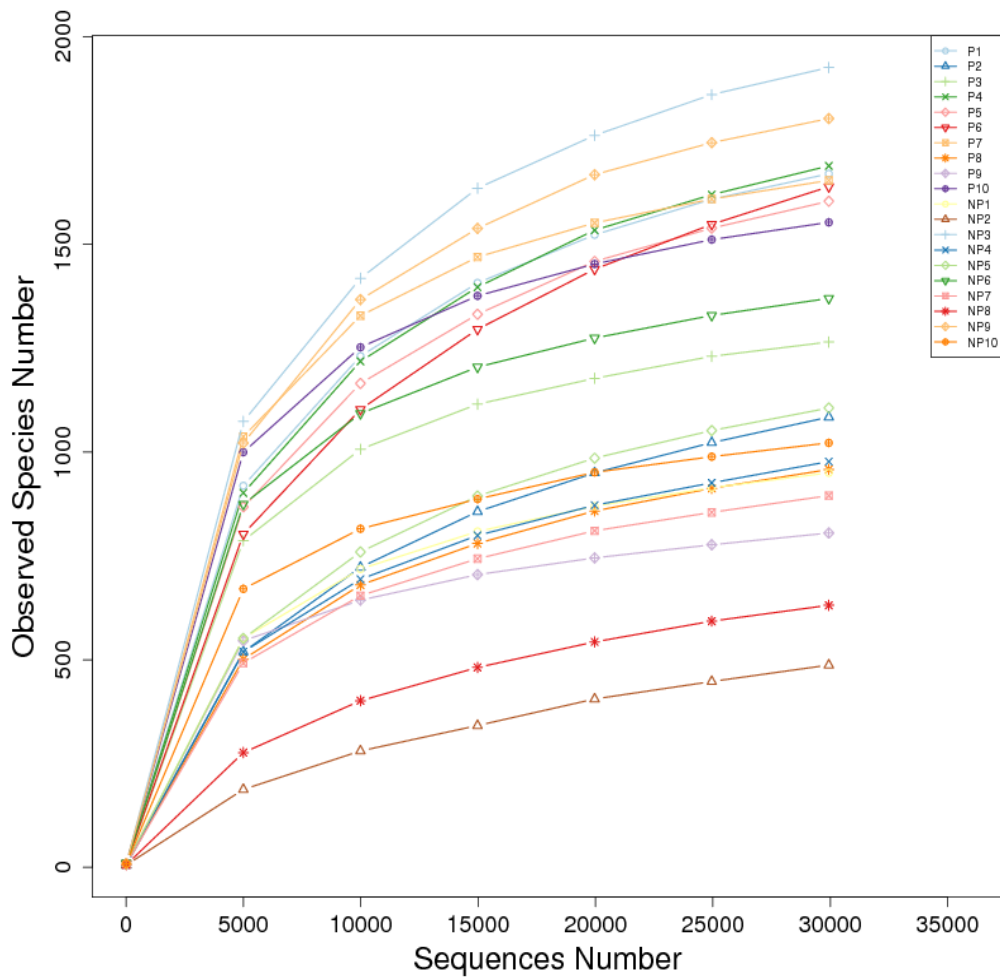


d. Keragaman komunitas mikrobiom pada rinosinusitis kronis

dengan dan tanpa polip

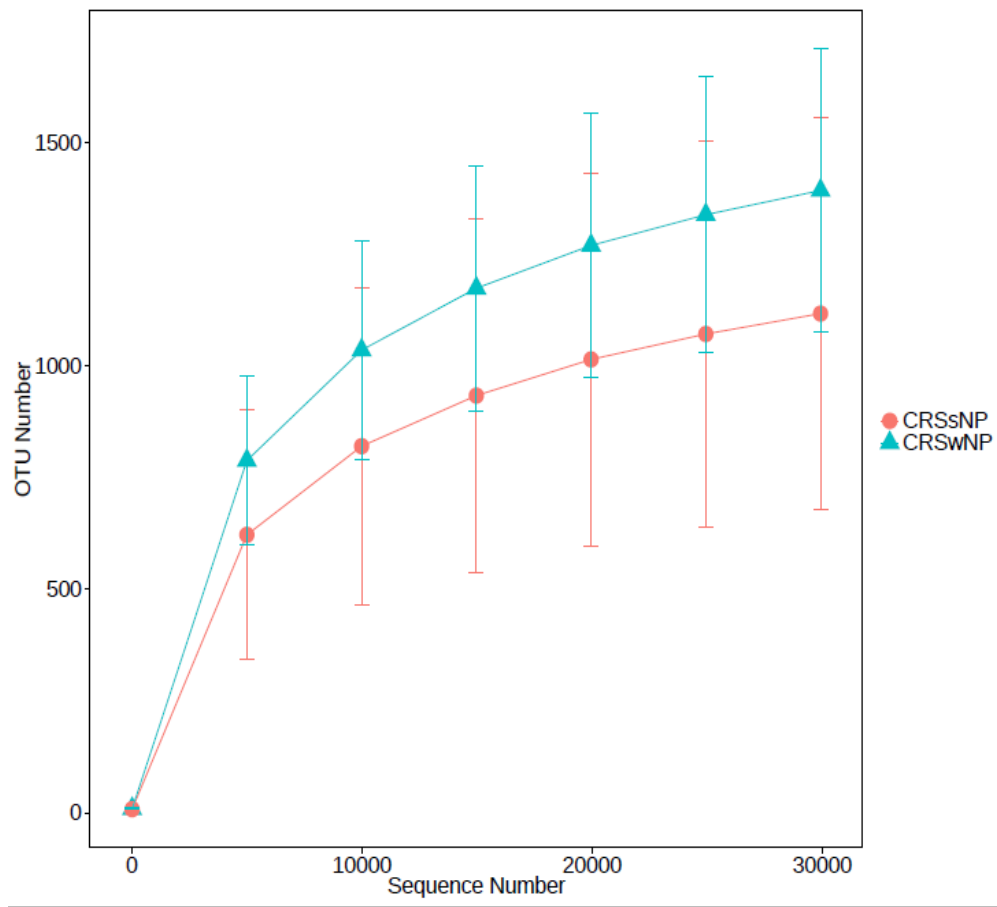
a. Keragaman Alpha

❖ Kurva Rarefaction



5. Kurva *Rarefaction* pada spesies yang terobservasi dan kelompok rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip (a) Kurva *Rarefaction* pada kelompok spesies yang diobservasi





Grafik 5. Kurva *Rarefaction* pada spesies yang terobservasi dan kelompok rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip (b) Kurva *Rarefaction* pada kelompok rinosinusitis dengan dan tanpa polip

Pada Grafik 5 (a) dan (b) kurva *rarefaction* menunjukkan pola grafik plateau yang memiliki arti proses sekuensing telah dilakukan secara baik untuk menilai keragaman komunitas bakteri dari keseluruhan sampel. Telah dilakukan proses sekuensing sebanyak 29.938 kali pada masing-masing penelitian.



Pada grafik 5 (b) terlihat pada kelompok rinosinusitis kronis dengan polip nasi memiliki jumlah OTU dan jumlah spesies yang terobservasi yang lebih beragam dibanding kelompok rinosinusitis kronis tanpa polip nasi.

❖ Indeks Keragaman Alpha

Tabel 15. Indeks Shannon, Indeks Chao1, Keragaman *Phylogenetic* ,dan Indeks Spesies terobservasi pada rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip

Indeks Keragaman	p-value
Observed Species	0,147
Shannon	0,135
Chao 1	0,124
<i>Keragaman Phylogenetic</i>	0,04185

Tabel 15 menunjukkan indeks keragaman alpha pada penderita rinosinusitis kronis tanpa polip dan rinosinusitis kronis dengan polip . Bahwa nilai p pada indeks keragaman alpha yaitu indeks Shannon dengan nilai p (0,135) >0.05, indeks Chao1 dengan nilai p (0,124) >0.05, indeks spesies terobservasi dengan nilai p (0,147) >0,05 dan indeks keragaman *phylogenetic* dengan nilai p (0,04) < 0,05.

Berdasarkan indeks Chao1 dan indeks spesies terobservasi dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan kekayaan keragaman spesies dalam kelompok pasien rinosinusitis kronis dengan polip dan tidak



terdapat perbedaan kekayaan keragaman dalam kelompok pasien rinosinusitis kronis tanpa polip.

Berdasarkan indeks Shannon terlihat bahwa kekayaan keragaman dan distribusi mikrobiom tidak signifikan berbeda dalam kelompok rinosinusitis dengan polip nasi dan dalam kelompok rinosinusitis kronis tanpa polip nasi.

Tetapi bila di tinjau dari indeks keragaman *phylogenetic* maka terdapat perbedaan keragaman mikrobiom dalam kelompok rinosinusitis kronis dengan dan terdapat keragaman mikrobiom dalam kelompok rinosinusitis tanpa polip.

b. Keragaman Beta

❖ Anosim (Analysis of Similarity)

Tabel.16 Analisa Anosim (Analysis of Similarity)

Grup	R-Value	P-Value
CRSwNP- CRSsNP	-0,02	0.461

Pada tabel 16 terlihat nilai r (-0,002) dan nilai p (0,461) > 0.05 . Nilai r positif menunjukkan bahwa variasi antar kelompok signifikan berbeda, sedangkan nilai r yang negatif menunjukkan variasi intra grup dibanding

antar grup tidak terdapat perbedaan yang signifikan . Pada tabel 17 terlihat nilai r negatif (-0,002) menjelaskan bahwa pada kedua



kelompok rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip variasi intra grup lebih besar dibanding variasi antar grup.



B. PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan pada 20 pasien yang menderita rinosinusitis kronis (RSK), dimana kelompok pasien rinosinusitis kronis dengan polip terdiri dari atas 10 pasien dan kelompok pasien rinosinusitis kronis tanpa polip terdiri atas 10 pasien yang telah memenuhi kriteria penelitian di RSUP DR. Wahidin Sudirohusodo dan RS. Pendidikan Universitas Hasanuddin yang dilakukan pada periode Januari- Maret 2019.

1. Karakteristik Sampel Penelitian

Pada penelitian ini dapat dilihat bahwa sebagian besar rinosinusitis kronis berada pada usia muda dan produktif yaitu dibawah 40 tahun. Sampel terbanyak pada kelompok umur 18-28 tahun sebanyak 10 sampel (50%) disusul kelompok umur 29-39 tahun sebanyak 6 sampel (30%) , kelompok umur >50 tahun sebanyak 3 sampel (15 %), dan paling sedikit ditemukan pada kelompok umur 40-50 tahun sebanyak 1 sampel (5%). Kelompok usia muda dan produktif (18-40 tahun) memiliki kecenderungan menderita rinosinusitis kronis bisa disebabkan karena faktor lingkungan seperti polusi dan asap rokok, dimana usia produktif akan lebih sering terpapar dibanding kelompok usia lain. Faktor host dan lingkungan juga memiliki andil dalam

rinosinusitis kronis. Perbedaan kelompok umur dapat bergantung berbagai macam faktor. Patel *et al.* (2014) menyebutkan bahwa faktor



host, faktor mikroba, dan faktor lingkungan sama-sama memiliki peran penting dalam kejadian rinosinusitis kronis..

Penelitian yang dilakukan oleh Koeller (2018) di Jerman mendapatkan sampel terbanyak pada usia produktif 30-50 tahun yaitu 5 sampel, namun pada penelitian oleh Koeller usia muda pada kelompok umur 13-21 tahun hanya sebanyak 2 sampel, kelompok umur 21-29 sampel terdapat 4 sampel, kelompok umur 50-60 tahun sebesar 4 sampel, kelompok umur 60-70 tahun sebesar 2 sampel dan > 70 tahun sebesar 1 sampel. Penelitian oleh Sujana (2017) di Makassar mendapatkan hasil dimana kelompok umur 10-19 tahun sebesar 1 sampel, kelompok 20-29 tahun sebesar 5 sampel, kelompok umur 30-39 tahun sebesar 6 sampel, kelompok umur 40-49 tahun sebesar 5 sampel, dan kelompok umur > 50 tahun sebesar 1 sampel.

Hal yang berbeda terlihat pada penelitian oleh Boase (2013) di Australia dimana usia rata-rata sampel adalah 41 tahun (rentang usia 35-47 tahun). Penelitian Feazel *et al.* (2012) di Amerika Serikat didapatkan usia rata-rata sampel adalah 45 tahun dan Penelitian oleh Cleland *et al.* (2016) di Australia didapatkan usia rata-rata sampel adalah 50 tahun.

Jenis kelamin terbanyak pada penelitian ini adalah perempuan yaitu sebanyak 11 sampel (55 %) dan laki-laki sebanyak 9 sampel (45 %). Hal

ma didapatkan oleh Koeller (2018) di Jerman yaitu perempuan k 10 sampel dan laki-laki sebanyak 8 sampel. Hal yang berbeda an oleh Sujana (2017) di Makassar yaitu laki-laki sebanyak 11



sampel (61,1 %) dan perempuan sebesar 7 sampel (38,9%). Cleland (2016) di Australia yaitu perempuan sebesar 10 sampel dan laki-laki sebesar 13 sampel.

Shi *et al.* (2015) menjelaskan bahwa terdapat kontroversi mengenai kejadian rinosinusitis berdasarkan gender, hal ini bergantung dengan gaya hidup pada masing- masing orang.

Berdasarkan jenis rinosinusitis , didapatkan rinosinusitis tanpa polip nasi sebanyak 10 pasien (50%) dan rinosinusitis dengan polip nasi sebanyak 10 pasien (50%). Hal ini dilakukan agar didapatkan gambaran yang seimbang mengenai komunitas mikrobiom pada pasien rinosinusitis dengan dan tanpa polip.

2. Hasil Pemeriksaan Histopatologi

Pada penelitian ini didapatkan bahwa hasil histopatologi terbanyak pada sampel penelitian kelompok rinosinusitis dengan polip adalah polip neutrofil sebanyak 7 pasien (70%) disusul oleh polip eosinofil sebanyak 3 pasien (30%). Rinosinusitis dengan polip nasi pada populasi Asia cenderung didapatkan hasil patologi anatomi dengan proporsi polip neutrofil yang dominan. Jiang *et al.* di Cina (2019) menyatakan bahwa walaupun inflamasi eosinofilik merupakan tanda khas pada rinosinusitis kronis tanpa polip nasi di

Barat, namun pada populasi Asia, bahkan yang menetap di negara Barat tidak memperlihatkan gambaran inflamasi eosinofilik yang jelas.



Penelitian terbaru memaparkan bahwa hal ini berkaitan dengan regulasi eosinofil secara genetik. Namun keterlibatan faktor lingkungan dalam keadaan ini juga tidak dapat dihindari. Hal ini sejalan dengan penelitian ini dimana filum bakteri patogen dominan pada rinosinusitis kronis dengan polip adalah *Proteobacteria* dengan presentasi 54,86%.

Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Chen (2018) di Cina bahwa 73,2 % polip nasi unilateral terdiri dari polip nasi neutrofil (polip inflamasi) dan 58,8% polip nasi bilateral terdiri dari polip nasi neutrofil (polip inflamasi).

3. Identifikasi mikrobiom dengan *Next Generation 16s Sequencing*

Pada pemeriksaan *Next Generation 16s Sequencing*, keseluruhan sampel yang melewati kontrol kualitas akan dilakukan pengelompokan berdasarkan hasil sekuensing yang mirip > 97% dalam satu OTU (*Operation Taxonomy Unit*). Jumlah OTU pada penelitian ini bervariasi dari 771 hingga 2183 OTU dengan nilai rata-rata 1486 OTU. Proses sekuensing pada keseluruhan sampel dilakukan sebanyak 29.938 kali.

Pada tabel 6, gambar 10, gambar 11, dan gambar 12 didapatkan bahwa pada kelompok pasien rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip memiliki filum dominan yang sama yaitu *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*,



Firmicutes Fusobacteria, dan *Proteobacteria* tetapi memiliki presentasi yang berbeda dari masing-masing filum .

Pada tabel 7 dan grafik 2 menunjukkan filum bakteri dominan pada pasien rinosinusitis kronis tanpa polip yaitu *Bacteroidetes* (24,15%), *Proteobacteria* (22,65%), *Cyanobacteria* (18,83%), *Firmicutes* (15,50%), *Fusobacteria* (11,88%), dan *Actinobacteria* (6,99%). Sedangkan filum bakteri dominan pada pasien rinosinusitis kronis dengan polip yaitu *Proteobacteria* (54,86%), *Firmicutes* (21,06%), *Cyanobacteria* (12,51%), *Fusobacteria* (4,15%), *Actinobacteria* (4,05%), dan *Bacteroidetes* (3,37%). Penelitian ini memperlihatkan tren yang sama dengan penelitian yang dilakukan pada beberapa negara yaitu filum bakteri dominan pada pasien rinosinusitis kronis yaitu filum *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria*, dan *Bacteroidetes*. Dapat disimpulkan bahwa komunitas mikrobiom pada penderita rinosinusitis tidak berbeda jika ditinjau dari demografis wilayah , suku serta ras.

Ramakrishnan *et al.* di Swedia (2015) menemukan bahwa filum bakteri dominan yaitu *Firmicutes* (46%) ,*Proteobacteria* (26%), dan *Actinobacter* (18%) pada kelompok rinosinusitis kronis tanpa polip dan kelompok kontrol. Hoggard *et al.* di New Zealand (2016) menemukan filum bakteri dominan pada penelitiannya yaitu filum *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Cyanobacteria*, *Fusobacteria*, dan *Bacteroidetes*. Mackenzie *et al.* di New



Zealand (2017) menunjukkan filum dominan yaitu *Firmicutes* (34,1%), *Actinobacteria* (30,9%), *Proteobacteria* (25,4%), *Bacteroidetes* (5,57%), dan *Fusobacteria* (2,98%). Copeland *et al.* di Australia (2018) menemukan filum bakteri dominan adalah *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, dan *Bacteroidetes*.

Tabel 8 menunjukkan komunitas filum bakteri komensal yang dominan pada rinosinusitis tanpa polip yaitu *Bacteroidetes* 24,15%, *Firmicutes* 15,5%, dan *Actinobacter* 6,99%. Sedangkan komunitas filum bakteri patogen yang dominan pada rinosinusitis tanpa polip yaitu *Proteobacteria* 22,65%, *Cyanobacter* 18,83%, dan *Fusobacteria* 11,88%.

Tabel 9 menunjukkan menunjukkan komunitas filum bakteri komensal yang dominan pada rinosinusitis dengan polip yaitu *Proteobacteria* 54,86%, *Cyanobacter* 12,51%, dan *Fusobacteria* 4,15%. Sedangkan komunitas filum bakteri patogen yang dominan pada rinosinusitis tanpa polip yaitu *Proteobacteria* 22,65%, *Cyanobacter* 18,83%, dan *Fusobacteria* 11,88%.

Pada penelitian ini terlihat kelompok rinosinusitis kronis tanpa polip nasi didapatkan hasil presentase filum *Proteobacteria* sebesar 22,65 % dan pada kelompok rinosinusitis kronis dengan polip didapatkan hasil presentase *Proteobacteria* sebesar 54,86 % yang merupakan bakteri patogen.

Presentase filum *Proteobacteria* pada kelompok rinosinusitis



dengan polip sangat mungkin disebabkan oleh karena filum bakteri ini memiliki peran dalam patogenesis terjadinya rinosinusitis dengan polip.

Kelompok rinosinusitis tanpa polip memiliki presentasi filum *Actinobacteria* sebesar 6,99% dan pada rinosinusitis dengan polip memiliki presentasi filum *Actinobacteria* yaitu 4,05%. Presentase bakteri komensal pada kedua kelompok ini terlihat dalam jumlah kecil.

Ramakrishnan *et al.* (2015) mengemukakan bahwa pada kelompok kontrol (sehat) ditemukan bahwa sejumlah kecil bakteri patogen akan terdeteksi dalam kelimpahan yang kecil, dapat disimpulkan bahwa bakteri patogen merupakan anggota dalam komunitas mikrobiom yang sehat tetapi dalam jumlah yang kecil. Keadaan disbiosis dari komunitas mikrobiom akan menyebabkan lonjakan kelimpahan dari bakteri patogen tersebut.

Copeland *et al.* (2018) di Australia menjelaskan bahwa pada kelompok rinosinusitis kronis filum bakteri *Proteobacteria* lebih melimpah dan pada kelompok kontrol ditemukan bahwa filum *Actinobacter* lebih melimpah.

Chalerwatanachai *et al.* (2018) di Belgia menemukan hasil yang sama, filum *Proteobacteria* terlihat lebih melimpah pada kelompok rinosinusitis kronis dengan polip bila dibandingkan dengan kelompok kontrol, sementara

filum *Actinobacteria* dan *Bacteroidetes* lebih dominan pada kelompok kontrol dibandingkan kelompok rinosinusitis kronis dengan polip.



Pada penelitiannya, Chalawatanchai *et al.* (2018) di Belgia juga menemukan hasil bahwa dominasi filum *Proteobacteria* dapat berkontribusi dalam patogenesis dari rinosinusitis kronis dengan polip nasi melalui jalur eicosainoids. Kelimpahan *E. Coli* (yang merupakan salah satu anggota filum *Proteobacteria*) memberikan toleransi positif dengan keparahan inflamasi pada pasien rinosinusitis dengan polip, dimana *E. Coli* merusak barrier epitel dan bekerja sama dengan patogen lain untuk inisiasi dan amplifikasi proses inflamasi pada kelompok rinosinusitis kronis dengan polip nasi.

Pada tabel 10 diatas menunjukkan proporsi perbandingan filum bakteri komensal dan patogen pada rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip terlihat pada tabel bahwa filum *Actinobacteria* pada kelompok rinosinusitis kronis tanpa polip sebesar 6,99 % dan pada kelompok rinosinusitis kronis dengan polip sebesar 4,05%. Filum *Bacteroidetes* pada kelompok rinosinusitis kronis tanpa polip sebesar 24,15% dan pada kelompok rinosinusitis kronis dengan polip sebesar 3,37%. Filum *Cyanobacteria* pada kelompok rinosinusitis kronis tanpa polip sebesar 18,82% dan pada kelompok rinosinusitis kronis dengan polip sebesar 12,51%. Filum *Firmicutes* pada kelompok rinosinusitis kronis tanpa polip sebesar 15,50% dan pada kelompok rinosinusitis kronis dengan polip sebesar 21,06%. Filum *Fusobacteria* pada kelompok rinosinusitis kronis tanpa polip sebesar 11,88% dan pada kelompok rinosinusitis kronis dengan polip sebesar 4,15%. Filum *Proteobacteria* pada



pada kelompok rinosinusitis kronis tanpa polip sebesar 22,65% dan pada kelompok rinosinusitis kronis dengan polip sebesar 54,86%.

Pada penelitian ini terlihat dominasi filum patogen mengalami peningkatan baik pada kelompok rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip yaitu filum *Cyanobacteria*, *Fusobacteria*, dan *Proteobacteria*. Pada kelompok rinosinusitis kronis dengan polip terlihat bahwa filum *Proteobacteria* meningkat sebesar 2,4 kali lebih tinggi dibandingkan kelompok rinosinusitis kronis tanpa polip. Hal ini kemungkinan besar disebabkan bahwa filum *Proteobacteria* memiliki peranan dalam kejadian rinosinusitis kronis dengan polip.

Sedangkan filum *Actinobacteria* yang merupakan filum komensal memiliki presentase kecil yaitu 6,99 % pada kelompok tanpa polip dan 4,05% pada kelompok rinosinusitis kronis tanpa polip, kedua kelompok memiliki presentasi yang hampir sama. Filum komensal yang lain seperti *Bacteroidetes* pada kelompok rinosinusitis kronis tanpa polip sebesar 24,15% dan pada kelompok rinosinusitis kronis dengan polip sebesar 3,37%. Terlihat bahwa terdapat perbedaan besar presentasi 7,2 kali antara kelompok rinosinusitis tanpa polip nasi dan dengan polip nasi dimana kelompok rinosinusitis tanpa polip memiliki presentase yang lebih besar.



Chalerwatanachai *et al.* (2015) di Belgia menyatakan bahwa mikrobiom pada orang sehat terdiri dari filum *Actinobacteria* sedangkan Filum *Firmicutes* dan *Proteobacteria* lebih jarang di temukan.

Dari tabel 11 menunjukkan komposisi bakteri dominan pada pasien rinosinusitis kronis tanpa polip yaitu Filum *Bacteroidetes* (24,15%), kelas *Bacteroidia*, ordo *Bacteroidales*, famili *Prevotellaceae*, genus *Prevotella* (12,69%) dan *Prevotella_9* (11,47%). Filum *Proteobacteria* (22,65%), kelas *Alphaproteobacteria* (14,31%) dan *Deltaproteobacteria* (8,34%) , ordo *Sphingomonadales*, dan *Desulfovibrionales*, famili *Sphingomonadaceae* dan *Desulfovibrionaceae*, genus *Sphingomonas*, dan *Desulfovibrio*. Filum *Cyanobacteria* (18,83%), kelas *Chloroplast*, ordo *Unidentified Chloroplast*, famili *Unidentified Chloroplast*, genus *Unidentified Chloroplast*. Filum *Firmicutes* (15,50%) , kelas *Bacili* (5.10%) dan *Clostridia* (10.40%), ordo *Bacillales* dan *Clostridiales*, famili *Bacillaceae* (5.10%), *Family IX* (5.39%) dan *Lachnospiraceae* (5.02%) , genus *Bacillus* (5.10%), *Finegoldia* (5.39%) dan *Lachnospiraceae_NK4A136* (5.02%) . Filum *Fusobacteria* (11,88%) , kelas *Fusobacteriia*, ordo *Fusobacteriales*, famili *Fusobacteriaceae*, genus *Fusobacterium*. dan Filum *Actinobacteria* (6,99%), kelas *Unidentified Actinobacteria*, ordo *Propionibacteriales*, famili *Propionibacteriaceae*, genus *bacterium*.



Dari tabel 12 menunjukkan komposisi bakteri dominan pada pasien rinosinusitis kronis dengan polip yaitu Filum *Proteobacteria* (54,86%) , kelas *Alphaproteobacteria* (51.10%) dan *Deltaproteobacteria* (3.76%), ordo *Sphingomonadales*, dan *Desulfovibrionales*, famili *Sphingomonadaceae* dan *Desulfovibrionaceae*, genus *Sphingomonas*, dan *Desulfovibrio*. Filum *Firmicutes* (21,06%), kelas *Bacili* (15.25%) dan *Clostridia* (5.81%), ordo *Bacillales* dan *Clostridiales*, famili *Bacillaceae* , *Family IX* (1,36%) dan *Lachnospiraceae* (4,44%) , genus *Bacillus* , *Finegoldia* (1,36%) , dan *Lachnospiraceae_NK4A136* (4,44%). Filum *Cyanobacteria* (12,51%) kelas *Chloroplast*, ordo *Unidentified Chloroplast*, famili *Unidentified Chloroplast*, genus *Unidentified Chloroplast*. Filum *Fusobacteria* (4,15%) kelas *Fusobacteriia*, ordo *Fusobacteriales*, famili *Fusobacteriaceae*, genus *Fusobacterium*, Filum *Actinobacteria* (4,05%) kelas *Unidentified Actinobacteria*, ordo *Propionibacteriales*, famili *Propionibacteriaceae*, genus *Propionibacterium*, dan Filum *Bacteroidetes* (3,37%) , kelas *Bacteroidia*, ordo *Bacteroidales*, famili *Prevotellaceae*, genus *Prevotella* dan *Prevotella_9*.

Pada penelitian ini spesies bakteri komensal seperti *Propionibacterium* yang masuk dalam filum *Actinobacteria* memiliki presentase yang kecil.

Mackenzie *et al.* (2017) di Australia menjelaskan bahwa *Propionibacterium* ini

peran penting dalam menjaga kestabilan komunitas mikrobiom di onasal. Dalam keadaan sehat konsorsium mikroba memiliki efek



perlindungan, adanya gangguan pada “spesies kunci” dari keadaan ini akan mencetuskan terjadinya disbiosis merupakan penyebab potensial terjadinya inflamasi sinonasal sehingga komunitas mikrobiom akan lebih gampang mengalami gangguan.

Dan terlihat pada penelitian ini bahwa “spesies kunci” yang dimaksud yaitu *Propionibacterium* masuk dalam filum *Actinobacteria* memiliki presentasi yang kecil bila dibandingkan dengan filum bakteri lain pada kedua kelompok, sehingga dapat disimpulkan bahwa dalam penelitian ini, telah terjadi disbiosis komunitas mikrobiom pada kedua kelompok sampel ditandai dengan turunnya presentase bakteri komensal.

Grafik 3 menunjukkan kelompok pasien rinosinusitis kronis tanpa polip memiliki kelimpahan relatif komunitas mikrobiom bakteri lebih banyak dibandingkan kelompok rinosinusitis kronis dengan polip. Sedangkan grafik 4 menunjukkan kelimpahan dan keragaman filum dan genus berdasarkan heatmap pada masing-masing sampel rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip.

Pada tabel 13 menunjukkan kelimpahan dan keragaman genus komunitas mikrobiom pada masing-masing sampel berdasarkan heatmap pada

kelompok pasien rinosinusitis kronis dengan polip yaitu sampel P1 terdapat bakteri *E. Shigella*, *Stenotrophomonas*, *Bacteroides*, *Lactobacillus*,



Akkermansia, *Streptococcus*, dan *Faecalibacterium*, sampel P2 terdapat genus bakteri *Sphingomonas*, *Streptococcus*, *Neisseria*, *Lactococcus*, dan *Bifidobacterium*, sampel P3 terdapat genus bakteri *Stenotrophomonas*, *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Weisella*, *Paenibacillus*, *Lysinibacillus*, dan *Acetobacter*, sampel P4 terdapat genus bakteri *Moraxella*, *Stenotrophomonas*, *Bacteroides*, dan *Lactobacillus*, sampel P5 terdapat genus bakteri *Bacteroides*, *Lactobacillus*, dan *Faecalibacterium*, sampel P6 terdapat genus bakteri *E. shigella*, *Faecalibacterium*, *Atopobium*, dan *Gardnerella*, sampel P7 terdapat genus bakteri *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, dan *Unidentified Chloroplast*, sampel P8 terdapat genus bakteri *Bradyrhizobium*, *Helicobacter* dan *Alistipes*, sampel P9 terdapat genus bakteri *Streptococcus*, *Neisseria*, dan *Lactococcus*. Sedangkan sampel P10 terdapat genus bakteri *Stenotrophomonas*, *Bacteroides*, dan *Corynebacterium_1*

Tabel 14 menunjukkan kelimpahan menunjukkan kelimpahan genus komunitas mikrobiom pada masing-masing sampel berdasarkan heatmap yaitu sampel NP1 terdapat genus bakteri *E. Shigella*, *Prevotella_9*, *Bifidobacterium*, dan *Faecalibacterium*, sampel NP2 terdapat genus *Fusobacterium*, *Prevotella*, dan *Campylobacter*, sampel NP3 terdapat genus

Bradyrhizobium, sampel NP4 terdapat genus bakteri *Helicobacter*, *Proteobacteria*, dan *Lachnospiracea_ NK4A136* grup, sampel NP5 terdapat



genus *Dosigranullum*, *Propionibacterium*, *sphyngomonas*, *Corynebacterium_1*, *Streptococcus* dan *Bradyrhizobium*, sampel NP6 terdapat genus *Stenotrophomonas*, *Bacteroides*, *Lactobacillus*, dan *Akkemansia*, sampel NP7 terdapat genus *Propionibacterium*, *Bradyrhizobium*, dan *Streptococcus*, sampel NP8 terdapat genus bakteri *Unidentified _Chloroplast*, sampel NP9 terdapat genus bakteri *Haemophilus*, dan *Finegoldia*, sedangkan pada NP10 terdapat genus bakteri *Bacillus*, *Helicobacter*, *Haemophillus*, *Corynebacterium_1*, dan *Alistipes*.

Terlihat pada penelitian ini terdapat peningkatan kelimpahan relatif bakteri pada kelompok rinosinusitis kronis tanpa polip nasi. Mahdavinia *et al.* (2016) di Amerika Serikat menyatakan ada atau tidak adanya polip tidak merupakan faktor prediksi perubahan komposisi mikrobiom. Namun pada penelitian ini terlihat bahwa kelimpahan komunitas mikrobiom pada kelompok rinosinusitis kronis tanpa polip lebih besar dibandingkan kelimpahan kelompok rinosinusitis kronis dengan polip nasi.

Lee *et al.* (2016) di Amerika Serikat menyatakan kelimpahan merujuk pada kuantitas absolut atau kepadatan mikroba spesifik di suatu sampel, dimana kelimpahan relatif melaporkan presentase total mikroba dalam satu

as diwakili oleh takson. Mahdavinia *et al.* (2016) di Amerika Serikat
kan bahwa pasien rinosinusitis kronis secara signifikan memiliki



kelimpahan bakteri yang lebih besar dan keragaman yang lebih kurang bila dibandingkan dengan kelompok kontrol (sehat).

Pada Grafik 5 (a) dan (b) kurva *rarefaction* menunjukkan pola grafik plateu yang memiliki arti proses sekuensing telah dilakukan secara baik untuk menilai keragaman komunitas bakteri dari keseluruhan sampel. Telah dilakukan proses sekuensing sebanyak 29.938 kali pada masing-masing sampel penelitian.

Sedangkan grafik 5 (b) pada kelompok rinosinusitis kronis dengan polip nasi memiliki jumlah OTU dan jumlah spesies yang terobservasi yang lebih beragam dibanding kelompok rinosinusitis kronis tanpa polip nasi.

Hal ini disebabkan oleh adanya disbiosis yang memicu terjadinya ketidakseimbangan dari komunitas mikrobiom sehingga mencetus terjadinya inflamasi persisten menyebabkan rinosinusitis kronis. Pada penelitian ini memperlihatkan tren kelompok rinosinusitis kronis dengan polip nasi lebih memiliki keragaman komunitas mikrobiom yang lebih besar namun dengan kelimpahan yang lebih sedikit.

Mahdavinia *et al.* (2016) di Amerika Serikat menyatakan bahwa kelompok pasien dengan rinosinusitis kronis akan memiliki tingkat kelimpahan yang lebih besar namun keragaman yang lebih sedikit, hal ini dengan penelitian ini bahwa terlihat pada kelompok rinosinusitis kronis



tanpa polip memiliki komunitas mikrobiom yang melimpah namun keragaman yang lebih sedikit.

Tabel 15 menunjukkan indeks keragaman alpha pada penderita rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip. Bahwa nilai p pada indeks keragaman alpha yaitu indeks Shannon dengan nilai p (0,135) >0.05 , indeks Chao1 dengan nilai p (0,124) >0.05 , indeks spesies terobservasi dengan nilai p (0,147) >0.05 , dan indeks keragaman *phylogenetic* dengan nilai p (0,04) <0.05 .

Berdasarkan indeks Chao1 dan indeks spesies terobservasi dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan kekayaan keragaman mikrobiom dalam kelompok pasien rinosinusitis kronis dengan polip dan tidak terdapat perbedaan kekayaan keragaman dalam kelompok pasien rinosinusitis kronis tanpa polip.

Berdasarkan indeks Shannon terlihat bahwa kekayaan keragaman dan distribusi mikrobiom tidak signifikan berbeda dalam kelompok rinosinusitis dengan polip nasi dan dalam kelompok rinosinusitis kronis tanpa polip nasi.

Tetapi bila di tinjau dari indeks keragaman *phylogenetic* maka terdapat perbedaan keragaman mikrobiom dalam kelompok rinosinusitis kronis dengan dan terdapat keragaman mikrobiom dalam kelompok rinosinusitis tanpa polip.

Shahdavinia *et al.* (2016) di Amerika Serikat menjelaskan bahwa pada rinosinusitis kronis secara signifikan memiliki kekayaan (*richness*),



distribusi (*evenness*) dan keragaman alpha (indeks Shannon) yang lebih rendah.

Pada tabel 15 menunjukkan indeks keragaman Beta, terdapat nilai r (-0,002) dan nilai p (0,461) > 0.05 . Nilai r positif berarti variasi antar kelompok signifikan, sedangkan nilai r yang negatif menunjukkan variasi intra grup lebih besar dibanding variasi antar grup. Pada tabel 15 diatas terlihat nilai r (-0,002) menunjukkan bahwa pada kedua kelompok rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip variasi intra grup lebih besar dibanding variasi antar grup. Hal ini dapat disebabkan telah terjadi keadaan disbiosis sehingga mempengaruhi keadaan keragaman alpha dari komunitas bakteri. Sedangkan keragaman beta membandingkan kesamaan komunitas bakteri antara kelompok rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip, didapatkan hasil bahwa kedua kelompok rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip variasi intra grup lebih besar dibanding variasi antar grup. Pada penelitian ini, terlihat hasil yang tidak signifikan pada indeks Shannon, Indeks Chao1, dan Indeks Spesies terobservasi. Hanya pada indeks keragaman *phylogenetic* yang memperlihatkan hasil signifikan.

Mackenzie *et al.*(2015) menyatakan pada indeks keragaman alpha dan keragaman komunitas bakteri memiliki keadaan konsisten dan signifikan meningkat pada kelompok sehat (kontrol) hal ini diukur



berdasarkan indeks Shannon, Indeks Chao1, Indeks spesies terobservasi , dan indeks keragaman *phylogenetic*.

C.KETERBATASAN PENELITIAN

Pada penelitian ini terdapat keterbatasan penelitian yaitu :

1. Tidak dilakukan pemeriksaan komunitas mikrobiom pada kelompok sehat (tidak menderita rinosinusitis kronis)
2. Tidak adanya fasilitas alat *Next Generation Sequencing* di Indonesia sehingga sampel harus dikirim ke Singapura.



BAB V

PENUTUP

A. KESIMPULAN

- 1) Dari penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil filum bakteri dominan pada pasien rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip yaitu Filum *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* *Fusobacteria* dan *Proteobacteria*
- 2) Terdapat presentase dari bakteri komensal yaitu *Actinobacteria* sebesar 6,99% pada kelompok rinosinusitis kronis tanpa polip dan sebesar 4,05% pada kelompok rinosinusitis kronis dengan polip. Dan presentase jumlah bakteri patogen yaitu *Proteobacteria* sebesar 22,65 % % pada kelompok rinosinusitis kronis tanpa polip dan sebesar 54,86 % pada kelompok rinosinusitis kronis dengan polip.
- 3) Terdapat peningkatan kelimpahan relatif komunitas mikrobiom bakteri dan penurunan keragaman pada kelompok rinosinusitis kronis tanpa polip nasi yang menunjukkan adanya disbiosis dari komunitas mikrobiom. Namun pada kelompok rinosinusitis tanpa polip terjadi penurunan kelimpahan relatif komunitas mikrobiom dan peningkatan keragaman bakteri.

Dari penelitian ini, terlihat hasil keragaman alpha yang tidak signifikan indeks Shannon, Indeks Chao1, dan Indeks Spesies terobservasi



yang memperlihatkan tidak terdapat perbedaan keragaman dalam kelompok pasien rinosinusitis kronis tanpa polip dan dengan polip

- 5) Pada keragaman Beta, didapatkan hasil bahwa kedua kelompok rinosinusitis kronis dengan dan tanpa polip variasi intra grup lebih besar dibanding variasi antar grup.
- 6) Penelitian ini menunjukkan telah terjadi

B. SARAN

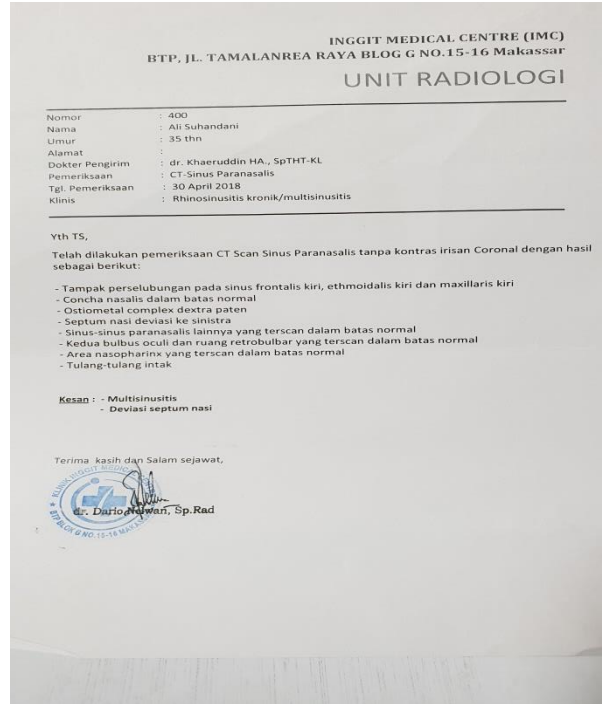
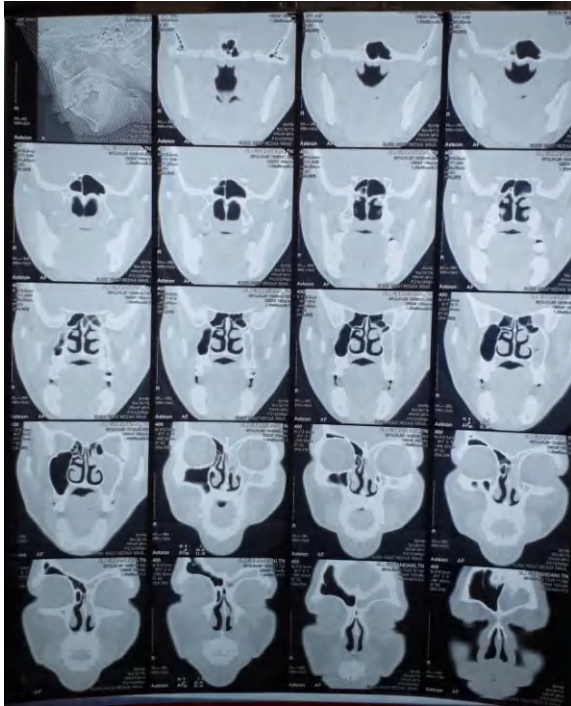
1. Dilakukan penelitian lanjutan dengan menyertakan kelompok sehat (orang yang tidak menderita rinosinusitis kronis) sebagai pembanding.
2. Dilakukan penelitian lanjutan dengan jumlah sampel yang lebih banyak.
3. Pemberian antibiotik spektrum luas perlu dipertimbangkan dengan baik karena dapat menyebabkan terganggunya keseimbangan mikrobiom pada penderita rinosinusitis kronis (mengeradikasi bakteri komensal yang memiliki peran dalam homeostasis daerah sinonasal)



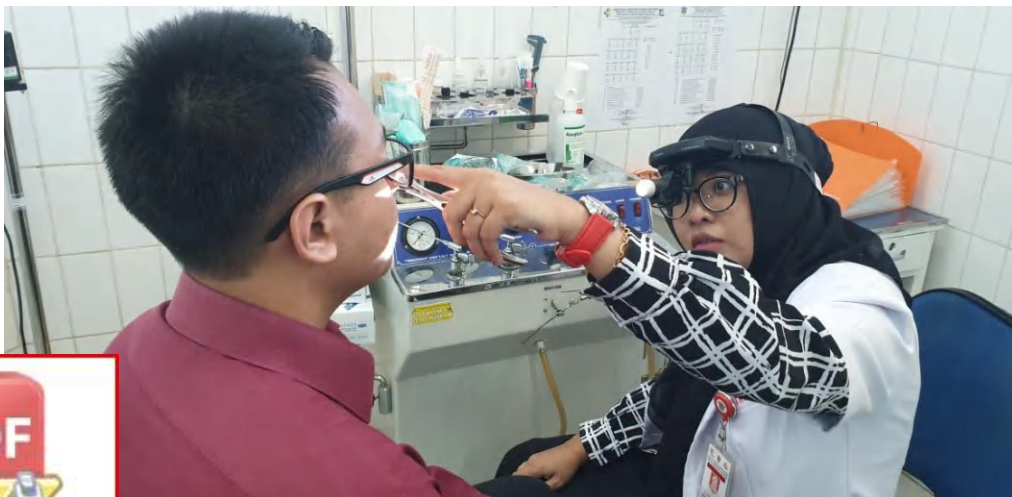
LAMPIRAN

DOKUMENTASI PENELITIAN

CT SCAN PASIEN



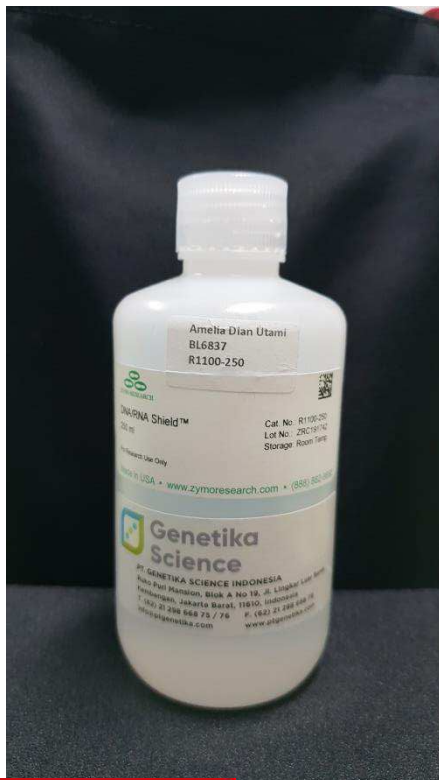
PEMERIKSAAN DI POLIKLINIK



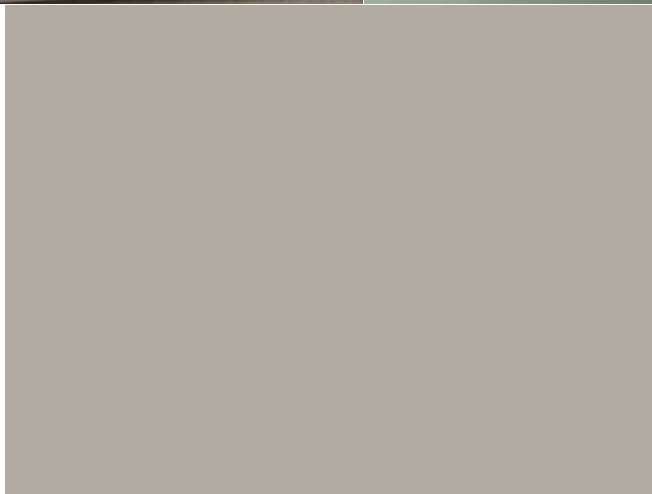
OPERASI FESS



ALAT & BAHAN



Optimization Software:
www.balesio.com



PENGERJAAN DI LABORATORIUM

