

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI DAN JAMUR PADA SALIVA PENDERITA DIABETES MELITUS TIPE 1 DAN TIPE 2

*Isolation and Identification of Bacteria and Fungi in Saliva
of Type 1 and Type 2 Diabetes Mellitus patients*

Amaliah insani

**Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes
Makassar, Sulawesi Selatan, Indonesia
amaliahinsani611@gmail.com/082196659426**

ABSTRACT

*Diabetes mellitus is a metabolic disorder caused by the failure of the pancreas to produce adequate amounts of insulin. Patients with diabetes mellitus are at risk of being infected with bacteria, viruses, and fungi which will affect the health of sufferers. The number of people with diabetes mellitus continues to increase from year to year along with the risk of other infections (such as in the mouth) which can increase due to high levels of glucose in the saliva of people with diabetes mellitus. The purpose of this study was to determine the types of bacteria and fungi found in the saliva of patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus. This research is observational with descriptive research that describes the presence of bacteria and fungi in the sample. This research was conducted at the Microbiology Laboratory of the Department of Medical Laboratory Technology of the Makassar Poltekkes Kemenkes on April 24 to May 06, 2024. The samples in this study were saliva of patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus. Based on this research, 8 bacterial species were found, namely *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Salmonella paratyphi A* and *Salmonella paratyphi B*. For fungal species, 7 species were found, namely *Candida albicans*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium oxysporum*, *Curvularia*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* and *Trichophyton mentagrophytes*. It is recommended that future researchers use more sensitive and specific methods with more sophisticated tools.*

Keyword : Diabetes Mellitus, Saliva

ABSTRAK

Diabetes melitus merupakan suatu kelainan metabolik yang disebabkan oleh kegagalan organ pankreas dalam menghasilkan insulin dalam jumlah yang memadai. Penderita diabetes melitus beresiko terinfeksi bakteri, virus, dan jamur yang akan berpengaruh terhadap kesehatan penderita. Jumlah penderita diabetes melitus yang terus meningkat dari tahun ke tahun disertai adanya risiko infeksi lain (seperti pada mulut) yang dapat meningkat karena tingginya kadar glukosa dalam saliva penderita diabetes melitus. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui jenis bakteri dan jamur yang terdapat pada saliva penderita diabetes melitus tipe 1 dan tipe 2. Penelitian ini bersifat observasional dengan penelitian deskriptif yaitu menggambarkan keberadaan bakteri dan jamur pada sampel. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Makassar pada 24 April s/d 06 Mei 2024. Sampel pada penelitian ini adalah saliva penderita diabetes melitus tipe 1 dan tipe 2. Berdasarkan penelitian ini, didapatkan hasil 8 spesies bakteri yaitu *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Salmonella paratyphi*

A, dan *Salmonella paratyphi* B. Untuk spesies jamur ditemukan 7 spesies yaitu *Candida albicans*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium oxysporum*, *Curvularia*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, dan *Trichophyton mentagrophytes*. Disarankan untuk peneliti selanjutnya menggunakan metode yang lebih sensitif dan spesifik dengan alat yang lebih canggih.

Kata Kunci : Diabetes Melitus, Saliva

PENDAHULUAN

Diabetes melitus merupakan suatu kelainan metabolik yang disebabkan oleh kegagalan organ pankreas dalam menghasilkan insulin dalam jumlah yang memadai. Kondisi ini dapat dikategorikan sebagai penyakit kronis karena cenderung berkembang secara bertahap dan berlangsung dalam jangka waktu yang lama (Kemenkes RI, 2020).

Menurut *International Diabetes Federation* (IDF) (2019), jumlah penderita diabetes melitus di seluruh dunia mengalami peningkatan menjadi 463.000.000 jiwa pada tahun 2019 dan jumlah kematian pada kasus ini sebanyak 4.200.000 jiwa. Indonesia menjadi urutan ke-7 dengan jumlah penderita 1.700.000 jiwa. *Diabetic foot* memperkirakan bahwa pada tahun 2045, kasus diabetes diperkirakan akan meningkat menjadi 700.000.000. Selain itu, menurut RISKESDAS (2018), prevalensi diabetes melitus di Indonesia usia ≥ 15 tahun mencapai 2% berdasarkan diagnosis dokter. Angka ini menunjukkan peningkatan dibandingkan dengan tahun 2013 yang memiliki prevalensi sebesar 1,5%. Lebih lanjut, data menunjukkan bahwa tingkat prevalensi tertinggi tercatat di provinsi Jakarta (3,4%), sementara provinsi Nusa Tenggara Timur memiliki tingkat terendah sebesar 0,9%.

Penderita diabetes melitus berisiko mengalami infeksi bakteri, jamur, dan virus yang dapat mempengaruhi kondisi kesehatan mereka (Sundayani & Agrijanti, 2019). Keadaan kadar glukosa tubuh yang

meningkat dapat berefek pada peningkatan kadar glukosa pada saliva. Jika tingkat glukosa darah berada dalam kategori yang buruk, ini dapat menyebabkan pertumbuhan mikroorganisme di dalam mulut seperti bakteri dan jamur. Sebagian besar penderita diabetes melitus tipe 2 memiliki kadar glukosa saliva yang normal sebesar 92,3%, sementara 7,7% mengalami peningkatan kadar. Hal ini dipengaruhi oleh kadar glukosa darah penderita diabetes melitus tipe 2. Temuan ini konsisten dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan adanya korelasi positif antara peningkatan kadar glukosa darah dan kadar glukosa saliva, serta sebaliknya.

Saliva dapat berfungsi sebagai bahan diagnostik yang penting untuk penanda penyakit manusia, terutama di dalam rongga mulut. Sebagai faktor utama dalam pemeriksaan diagnostik, saliva memiliki informasi yang berharga yang dapat digunakan sebagai panduan untuk mendiagnosis kelainan pada rongga mulut (Dhanya, 2016).

Bakteri yang terdapat dalam rongga mulut dapat dibedakan menjadi bakteri gram positif dan gram negatif. Bakteri gram positif berbentuk kokus, seperti genus *Streptococcus*, yang ditemukan di permukaan gigi, lidah, saliva, dan mukosa. Selain itu, bakteri gram positif berbentuk batang, seperti *Actinomyces*, *Lactobacillus* dan *Eubacterium*. Bakteri-bakteri tersebut dapat menjadi penyebab berbagai masalah mulut seperti karies awal, karies akar, penyakit gingiva, plak gigi, dan kalkulus.

Sementara itu, bakteri gram negatif yang terlibat meliputi *Neisseria* dan *Veillonella*, yang habitatnya meliputi lidah, saliva, mukosa, permukaan lidah, dan plak gigi (Putri *et al.*, 2017).

Selain pertumbuhan bakteri, jamur juga dapat menyerang saliva pada penderita diabetes melitus. Kelebihan glukosa dalam saliva penderita diabetes melitus dapat menyebabkan penumpukan glukosa di dinding mulut, yang memberikan peluang bagi pertumbuhan jamur. Salah satu dampak gangguan pada kelenjar saliva adalah penurunan pH yang memfasilitasi pertumbuhan jamur. Peningkatan keberadaan *Candida albicans* pada penderita diabetes melitus disebabkan oleh kadar glukosa darah yang tinggi dan tidak terkontrol. Hal ini terjadi disebabkan makanan yang kaya karbohidrat memfasilitasi pertumbuhan jamur. Selain itu glukosa juga merupakan substrat yang baik bagi pertumbuhan mikroorganisme termasuk *Candida albicans* (Hernawati, 2017).

Berdasarkan peningkatan jumlah penderita diabetes melitus yang terus meningkat dari tahun ke tahun, risiko infeksi pada mulut juga meningkat karena peningkatan kadar glukosa dalam saliva penderita diabetes melitus. Melihat kondisi tersebut, maka peneliti berkeinginan untuk melakukan penelitian tentang isolasi dan identifikasi bakteri dan jamur pada saliva penderita diabetes melitus tipe 1 dan tipe 2.

METODE

Desain, tempat dan waktu

Jenis penelitian yang dilakukan adalah observasional dengan desain penelitian deskriptif. Penelitian deskriptif bertujuan untuk menggambarkan keberadaan bakteri dan jamur pada saliva

penderita diabetes melitus tipe 1 dan tipe 2. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis pada April - Mei 2024.

Jumlah dan cara pengambilan sampel

Populasi pada penelitian ini adalah penderita diabetes melitus tipe 1 dan tipe 2. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah saliva penderita diabetes melitus tipe 1 dan tipe 2. Teknik pengambilan sampel pada penelitian ini adalah *purposive sampling* yaitu sampel diambil berdasarkan tujuan peneliti dengan kriteria tertentu.

Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah erlenmeyer, autoklaf, cawan petri, *inkubator*, ose bulat, ose lurus, mikroskop, kaca objek, kaca penutup, timbangan analitik, *laminar air flow*, batang pengaduk, lampu spiritus, korek api, kertas pH, tabung durham, tabung reaksi, rak tabung, mikroskop, pipet ukur, pipet tetes, *hot plate*, *beaker glass*. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah saliva, alkohol 70%, NaCl fisiologis 0,9%, *chloramphenicol*, aquades, aluminium foil, kapas, kerta saring, gentian violet, lugol, safranin, oil emersi, H₂O₂ 3%, KOH 10%, plasma darah, natrium sitrat 3,8%, media SDA, media BAP, media MCA, media TSIA, media BHIB, media gula-gula/Uji Biokimia (glukosa, sukrosa, laktosa, maltosa dan manitol), media SCA, media MR-VP, media SIM.

Langkah – langkah penelitian

1. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri

a. Pra Analitik

1) Pengambilan sampel

Mengambil saliva penderita diabetes melitus tipe 1 dan 2 lalu dimasukkan ke dalam pot sampel yang telah disediakan oleh peneliti.

2) Sterilisasi alat

Sebelum melakukan penelitian, alat yang akan digunakan terlebih dahulu disterilisasi seperti : cawan petri. Disterilisasi menggunakan oven suhu 180°C selama 2 jam.

3) Pembuatan media

a) *Media Blood Agar Plate* (BAP)

Menimbang 8 gram bubuk BAP yang digunakan untuk membuat 10 plate media, 1 plate berisi 20 ml (10 plate = 200 ml)

$$\text{Gram} = \frac{40}{1000} \times 200 \text{ (ml)} =$$

8 gram

Melarutkan 8 gram bubuk BAP dengan akuades hingga volumenya mencapai 200 ml. Kemudian memanaskan larutan media di atas *hot plate* hingga larut dan homogen. Setelah homogen, larutan disterilkan di autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit. Menunggu suhu larutan media hingga hangat. (26°C-34°C). Menambahkan 10 ml darah (golongan darah O) dan menghomogenkannya. Lalu Menuangkan larutan media ke cawan petri yang sudah disterilkan di oven dan media didiamkan hingga padat. Kemudian media dibungkus untuk selanjutnya disimpan pada lemari pendingin.

b) *Media Mac Conkey Agar* (MCA)

Menyiapkan alat dan bahan. Menimbang 10,3 gram bubuk media MCA yang digunakan untuk membuat 10 plate media, 1 plate berisi 20 ml (10 plate = 200 ml)

$$\begin{aligned} M &= \frac{51,53}{1000} \times 200 \text{ (ml)} \\ &= 10,3 \text{ gram} \end{aligned}$$

Melarutkan 20 gram bubuk media MCA dengan akuades hingga volumenya mencapai 200 ml. kemudian memanaskan larutan media di atas *hot plate* hingga larut dan homogen.

Setelah itu, mensterilkan larutan media menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Menunggu suhu larutan media hingga hangat kuku (26°C-34°C). Kemudian menuangkan larutan media ke cawan petri yang sudah disterilkan di oven dan didiamkan hingga padat. Setelah itu media dibungkus menggunakan kertas untuk selanjutnya disimpan pada lemari pendingin.

c) *Media Triple Sugar Iron Agar* (TSIA)

Menimbang 2,3 gram bubuk TSIA yang akan digunakan untuk membuat 10 tabung media, 1 tabung berisi 3,5 ml (10 tabung = 35 ml)

$$\text{Gram} = \frac{65}{1000} \times 35 \text{ (ml)} =$$

2,3 gram

Melarutkan 2,3 gram bubuk media TSIA dengan akuades hingga volumenya mencapai 35 ml. Lalu larutan media dipanaskan di atas *hot plate* hingga larut dan homogen. Kemudian menguji larutan dengan menggunakan kertas pH (pH normal 7,4 ±0,2). Jika larutan terlalu asam (pH di bawah ketentuan), maka dapat menambahkan KOH hingga mencapai pH yang diinginkan. Sedangkan jika larutan media terlalu basa (pH di atas ketentuan), maka dapat menambah HCl hingga mencapai pH yang diinginkan.

Kemudian memipet larutan media sebanyak 3,5 ml ke dalam tiap tabung reaksi sebanyak 10 tabung dan menutupnya menggunakan kapas. Setelah itu, mensterilkan tabung reaksi yang sudah berisi larutan media pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm di autoklaf selama 15 menit. Media didinginkan dengan memiringkan

tabung hingga media memadat. Kemudian media disimpan pada lemari pendingin dengan kondisi telah dibungkus menggunakan kertas.

d) Media *Sulfit Indol Motility* (SIM)

Menimbang 0,72 gram bubuk SIM yang akan digunakan untuk membuat 10 tabung media, 1 tabung berisi 2 ml (10 tabung = 20 ml)

$$\text{Gram} = \frac{36,23}{1000} \times 20 \text{ (ml)} =$$

0,72 gram

Melarutkan 0,6 gram bubuk media SIM dengan akuades hingga volumenya mencapai 20 ml. Lalu memanaskan larutan media di atas *hot plate* hingga larut dan homogen. Menguji kadar pH dengan menggunakan kertas pH (pH normal $7,3 \pm 0,2$). Jika larutan terlalu asam (pH di bawah ketentuan), maka dapat menambahkan KOH hingga mencapai pH yang diinginkan. Sedangkan jika larutan media terlalu basa (pH di atas ketentuan), maka dapat menambah HCl hingga mencapai pH yang diinginkan. Memipet larutan media ke dalam tabung reaksi sebanyak 2 ml/tabung dan menutupnya menggunakan kapas. Mensterilkan tabung reaksi yang berisi larutan pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit di autoklaf. Mendinginkan media yang telah steril. Lalu media disimpan pada lemari pendingin dengan kondisi telah dibungkus menggunakan kertas.

e) Media *Simmon Citrate Agar* (SCA)

Menimbang 0,48 gram bubuk SCA yang akan digunakan untuk membuat 10 tabung media, 1 tabung berisi 2 ml (10 tabung = 20 ml)

$$\text{Gram} = \frac{24,28}{1000} \times 20 \text{ (ml)} =$$

0,48 gram

Melarutkan 0,6 gram bubuk SCA dengan akuades hingga volumenya mencapai 20 ml. Kemudian larutan media dipanaskan di atas *hot plate* hingga larut dan homogen. Mengukur pH larutan dengan kertas pH (pH normal $6,6 \pm 0,2$). Jika larutan terlalu asam (pH di bawah ketentuan), maka dapat menambahkan KOH hingga mencapai pH yang diinginkan. Sedangkan jika larutan media terlalu basa (pH di atas ketentuan), maka dapat menambah HCl hingga mencapai pH yang diinginkan. Memipet larutan media ke dalam tabung reaksi sebanyak 2 ml/tabung dan menutupnya menggunakan kapas. Mensterilkan tabung reaksi yang berisi larutan pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit di autoklaf. Kemudian media yang telah steril didinginkan dalam posisi miring. Menyimpan media pada lemari pendingin dengan kondisi telah dibungkus menggunakan kertas.

f) Media *Brain heart Infusion Broth* (BHIB)

Menimbang 1,48 gram bubuk BHIB yang akan digunakan untuk membuat 10 tabung media, 1 tabung berisi 4 ml (10 x 4 = 40 ml)

$$\text{Gram} = \frac{37}{1000} \times 40 \text{ (ml)} =$$

1,48 gram

Melarutkan 1,48 gram bubuk BHIB dengan akuades hingga volumenya mencapai 40 ml dan homogenkan. Mengukur pH larutan dengan kertas pH (pH normal 7,4). Jika larutan terlalu asam (pH di bawah ketentuan), maka dapat menambahkan KOH hingga mencapai pH yang

diinginkan. Sedangkan jika larutan media terlalu basa (pH di atas ketentuan), maka dapat menambah HCl hingga mencapai pH yang diinginkan. Kemudian memipet larutan media ke dalam tabung reaksi sebanyak 4 ml/tabung kemudian ditutup dengan kapas. Mensterilkan larutan media yang terdapat pada tabung reaksi pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit di autoklaf. Lalu, mendinginkan media yang telah disterilkan. Menyimpan media pada lemari pendingin dengan kondisi telah dibungkus menggunakan kertas.

g) Media gula-gula

Membuat larutan *alkaline water peptone* dengan menimbang bubuk pepton sebanyak 6,3 gram yang akan digunakan untuk membuat 5 macam media gula-gula (volume total 250 ml).

$$\text{Gram} = \frac{25,3}{1000} \times 250 \text{ (ml)} =$$

6,3 gram

Melarutkan 6,3 gram bubuk *pepton water* dengan akuades hingga volumenya mencapai 250 ml dan menghomogenkannya. Mengukur pH larutan menggunakan kertas pH (pH normal sekitar 8-9). Jika larutan terlalu asam (pH di bawah ketentuan), maka dapat menambahkan KOH hingga mencapai pH yang diinginkan. Sedangkan jika larutan media terlalu basa (pH di atas ketentuan), maka dapat menambah HCl hingga mencapai pH yang diinginkan. Kemudian, menyiapkan 5 beaker glass untuk membuat 5 macam media gula-gula, kemudian mengisi tiap beaker glass dengan *alkaline water peptone* sebanyak 50 ml.

Selanjutnya, membuat larutan gula-gula konsentrasi 1% (sukrosa, glukosa, maltosa, laktosa, dan manitol) untuk membuat masing-masing 10 tabung. Menimbang masing-masing bubuk media gula-gula sebanyak 0,5 gr dan memasukkannya ke tiap beaker glass yang telah berisi *alkaline water peptone* dan homogenkan larutan media tersebut. Lalu menambah BTB pada tiap larutan media gula-gula hingga terjadi perubahan warna menjadi biru-kehijauan. Memipet 2,5 ml larutan media ke dalam tiap tabung yang telah berisi durham dan menutup tabung menggunakan kapas. Mensterilkan larutan media yang terdapat pada tabung reaksi pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit di autoklaf. Setelah itu, mendinginkan media yang telah disterilkan dan disimpan pada lemari pendingin dengan kondisi telah dibungkus menggunakan kertas.

h) Media *Methyl Red-Voges Proskauer* (MR-VP)

Menimbang bubuk MR-VP sebanyak 0,34 gr yang digunakan untuk membuat 10 tabung media, 1 tabung berisi 2 ml (10 tabung = 20 ml).

$$\text{Gram} = \frac{17}{1000} \times 20 \text{ (ml)} =$$

0,34 gram

Melarutkan 0,34 gram bubuk MR-VP dengan akuades hingga volumenya mencapai 20 ml dan homogenkan. Mengukur pH larutan dengan kertas pH (pH normal 6,9 ± 0,2). Jika larutan terlalu asam (pH di bawah ketentuan), maka dapat menambahkan KOH hingga mencapai pH yang diinginkan. Sedangkan jika larutan media terlalu basa (pH di atas

ketentuan), maka dapat menambah HCl hingga mencapai pH yang diinginkan. Kemudian memipet larutan media ke dalam tabung reaksi sebanyak 2 ml/tabung (jangan sampai timbul gelembung) kemudian ditutup dengan kapas. Mensterilkan larutan media yang terdapat pada tabung reaksi pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit di autoklaf. Lalu mendinginkan media yang telah disterilkan dan disimpan pada lemari pendingin dengan kondisi telah dibungkus menggunakan kertas.

b. Analitik

1) Isolasi Sampel Penanaman sampel pada media BHIB dilakukan dengan cara menambahkan 1 ml sampel saliva ke dalam media BHIB. Kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C.

2) Identifikasi Isolat

a) Pewarnaan Gram

Mengambil suspensi bakteri pada BHIB menggunakan ose steril. Kemudian membuat apusan pada objek gelas yang bersih dan bebas lemak kemudian mengeringkan apusan tersebut. Memfiksasi sediaan yang telah dibuat dengan melewati sediaan di atas api. Setelah itu, mewarnai sediaan dengan zat warna *Carbol Gentian Violet* selama 1 menit, kemudian membilasnya dengan air mengalir. Meneteskan sediaan dengan lugol selama 1 menit, kemudian membilasnya dengan air mengalir. Meneteskan sediaan dengan alkohol 96% selama 30 detik, kemudian membilasnya dengan air mengalir. Meneteskan sediaan dengan zat warna safranin selama 30 detik, kemudian membilasnya dengan air

mengalir. Kemudian mengeringkan sediaan yang telah diwarnai. Setelah preparat kering, diamati dibawah mikroskop dengan lensa objektif 100x.

b) Penanaman Isolate Pada Media BAP/MCA

Mengambil suspensi bakteri pada media BHIB menggunakan ose steril, lalu menggoreskan pada permukaan media BAP dan media MCA. Menginkubasi media yang telah digoreskan suspensi selama 18-24 jam pada suhu 37°C.

c) Penanaman Isolat Pada Media TSIA

Mengambil isolat bakteri pada media BAP menggunakan nall steril. Menusuk media TSIA menggunakan nall (tanpa menyentuh dasar tabung), lalu menggoreskan nall pada daerah miring di media TSIA. Menginkubasi media yang telah digoreskan selama 18-24 jam pada suhu 37°C.

d) Penanaman Isolat Pada Media SIM, MR-VP, Gula-gula

Mengambil isolat pada media TSIA menggunakan nall steril, kemudian mengambil isolate pada media TSIA menggunakan nall steril, kemudian masukkan pada media SIM (tanpa menyentuh dasar tabung). Mengambil isolate pada media TSIA menggunakan nall steril, kemudian menginokulasikannya pada media MR-VP. Mengambil isolate pada media TSIA menggunakan nall/ose steril, kemudian menginokulasikannya pada media gula-gula (glukosa, laktosa, sukrosa, maltose, dan mannitol). Menginkubasi media yang telah digoreskan isolat selama 18-24 jam pada suhu 37°C.

e) Penambahan Reagen Pada Media SIM, MR dan VP

Untuk media SIM ditambahkan dengan reagen kovach 2-3 tetes. Kemudian untuk media MR ditetesi dengan indikator *Methyl Red* 3 tetes. Sedangkan untuk media *Voges Proskauer* ditetesi dengan KOH 10% 4 tetes dan α -naftol 12 tetes.

f) Uji Plasma Koagulase

Disentrifuge darah dengan natrium citrate 3,8% dengan perbandingan 4 : 1 (darah : natrium sitrat). Kecepatan yang digunakan sebesar 3000 rpm selama 15 menit. Kemudian diambil satu mata ose koloni bakteri yang terdapat pada media BAP dan TSIA. Lalu sediaan di atas objek glass yang steril dan bebas lemak. Ditetaskan plasma sitrat pada sediaan bakteri yang telah dibuat dan diamati penggumpalan yang terjadi.

g) Uji Katalase

Mengambil satu mata ose koloni bakteri yang terdapat pada media. Kemudian dibuat sediaan di atas objek glass yang steril dan bebas dari lemak. Selanjutnya ditetaskan H₂O₂ 3% pada sediaan bakteri yang telah dibuat.

c. Pasca Analitik

Interpretasi hasil dengan menentukan bakteri yang tumbuh selama proses isolasi dan identifikasi saliva penderita diabetes melitus tipe 1 dan tipe 2 berdasarkan sifat pertumbuhannya pada setiap media yang digunakan.

2. Prosedur Kerja Isolasi dan Identifikasi Jamur

a. Pra Analitik

a) Pengambilan sampel

Mengambil saliva penderita diabetes melitus tipe 1 dan tipe 2 lalu dimasukkan ke dalam pot sampel yang telah disediakan oleh peneliti.

b) Sterilisasi Alat

Sebelum melakukan penelitian, alat yang akan digunakan terlebih

dahulu disterilisasi seperti cawan petri. Disterilisasi menggunakan oven suhu 180°C selama 2 jam.

c) Pembuatan Media SDA

$$\text{Gram} = \frac{65}{1000} \times 200 \text{ (ml)} =$$

13 gram

Menimbang 13 gram bubuk SDA untuk 10 plate dan *chloramphenicol* konsentrasi 0,1 % kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Menambahkan aquades sebanyak 200 ml. Selanjutnya dipanaskan sambil diaduk hingga tercampur lalu menutup tabung erlenmeyer dengan kapas. Lalu disterilkan di dalam autoklaf selama 15-20 menit dengan suhu 121°C dalam tekanan 1-2 atm. Setelah media dingin, masukkan media ke dalam cawan petri yang sebelumnya telah dipanaskan pinggirannya dengan api.

b. Analitik

a) Isolasi sampel

Penanaman sampel dilakukan dengan cara saliva pasien digoreskan pada media SDA yang telah dibuat. Media dibungkus dengan kertas lalu dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu ruang 25°C selama 48 jam.

b) Pengamatan Mikroskopik

Menyiapkan alat dan bahan yang akan digunakan yaitu sampel, ose, objek glass, deck glass, lampu spiritus, mikroskop dan LPCB. Kemudian teteskan larutan LPCB sebanyak 1 tetes pada objek glass. Menempelkan ose pada kultur jamur hingga jamur yang terdapat pada kultur menempel pada ose, kemudian ditempelkan ke objek glass yang ada tetesan larutan LPCB kemudian ditutup menggunakan deck glass. Setelah itu, objek glass dilewatkan tiga kali di atas api lampu spiritus dan diamkan selama 10 menit.

Kemudian periksa menggunakan mikroskop dengan lensa objektif 10x dan 40x.

c. Pasca Analitik

Interpretasi hasil dengan menentukan jamur yang tumbuh selama proses isolasi dan identifikasi saliva penderita diabetes melitus tipe 1 dan tipe 2 berdasarkan sifat pertumbuhannya pada media yang digunakan.

Pengolahan dan analisis data

Data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis deskriptif untuk menjelaskan atau mendeskripsikan secara sederhana dalam bentuk tabel yaitu keberadaan bakteri dan jamur pada saliva penderita diabetes melitus tipe 1 dan tipe 2. Kemudian hasil tersebut akan dijelaskan dalam bentuk narasi.

HASIL

Hasil penelitian yang dilakukan yaitu isolasi dan identifikasi bakteri pada saliva penderita diabetes melitus menunjukkan bakteri yang tumbuh pada media BAP yaitu *Staphylococcus aureus* dari 4 sampel (40%), *Staphylococcus epidermidis* dari 3 sampel (30%), *Streptococcus pneumoniae* dari 2 sampel (20%) dan *Bacillus cereus* dari 1 sampel (10%). Sedangkan jenis bakteri yang tumbuh pada media MCA yaitu *Klebsiella pneumoniae* dari 2 sampel (29%), *Escherichia coli* dari 3 sampel (43%), *Salmonella paratyphi A* dari 1 sampel (14%) dan *Salmonella paratyphi B* dari 1 sampel (14%). Pada sampel 5, 6 dan 10 tidak ditumbuhi koloni bakteri.

Hasil Identifikasi dan Isolasi Jamur pada Saliva Penderita Diabetes melitus menunjukkan bahwa hasil identifikasi dan isolasi jamur pada saliva penderita diabetes melitus tipe 1 dan tipe 2 diperoleh 7 jenis jamur yaitu *Candida albicans*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium oxysporum*, *Curvularia*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* dan *Trichophyton mentagrophytes*.

Karakteristik penderita diabetes melitus berdasarkan usia dan jenis kelamin menunjukkan hasil bahwa jumlah

penderita diabetes melitus pada usia 55 sampai 70 tahun sebanyak 8 orang dan usia 71 sampai 85 tahun sebanyak 2 orang dan bahwa 10 sampel penderita diabetes melitus terdiri dari 4 orang laki-laki dan 6 orang perempuan. Dengan demikian penderita diabetes melitus paling banyak berjenis kelamin perempuan.

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan yaitu isolasi dan identifikasi bakteri pada saliva penderita diabetes melitus menunjukkan bahwa diperoleh delapan jenis bakteri. Adapun pertumbuhan koloni dari media BAP yaitu bakteri *Staphylococcus aureus* pada 4 sampel (sampel 1, 2, 3, 5), *Staphylococcus epidermidis* pada 3 sampel (sampel 4, 9, 10), *Streptococcus pneumoniae* pada 2 sampel (sampel 6 dan 8), *Bacillus cereus* pada 1 sampel (sampel 7). Sedangkan koloni yang ditemukan pada media MCA yaitu *Klebsiella pneumoniae* pada 2 sampel (sampel 1 dan 8), *Escherichia coli* pada 3 sampel (sampel 2, 3, 4), *Salmonella paratyphi B* pada 1 sampel (sampel 7) dan *Salmonella paratyphi A* pada 1 sampel (sampel 9). Pada sampel 5, 6 dan 10 tidak ditumbuhi koloni bakteri pada media MCA, hal tersebut disebabkan karena media MCA mengandung garam empedu (*bile salt*) yang hanya akan membentuk Kristal violet sebagai penghambat pertumbuhan gram positif. Maka dari itu pada sampel 5, 6 dan 10 tidak ditumbuhi bakteri hanya ditumbuh pada media BAP. Penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Oktaviany (2016). Pada penelitian tersebut menunjukkan bahwa berdasarkan pengamatan yang dilakukan dengan menggunakan mikroskop diperoleh data bahwa bakteri yang paling banyak ditemukan pada saliva pasien diabetes melitus adalah *Staphylococcus* 19,6% dan *Streptococcus* 47%.

Pewarnaan Gram merupakan alat penting dalam proses identifikasi bakteri dengan membagi bakteri menjadi dua

kelompok (yang disebut Gram-positif dan Gram-negatif) dan memungkinkan tipe morfologinya (berbentuk kokoid atau batang) terlihat jelas. Hasil pewarnaan gram yang dilakukan oleh peneliti diperoleh jenis bakteri gram positif yaitu *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae* dan *Bacillus cereus*. Sedangkan bakteri gram negatif yang diperoleh yaitu *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Salmonella paratyphi B* dan *Salmonella paratyphi A*. Berdasarkan penelitian Oktaviany (2016) didapatkan hasil bakteri gram positif pada *Staphylococcus* berwarna ungu kebiruan, berbentuk bulat dan tersusun seperti buah anggur. Sedangkan pada *Streptococcus* berwarna ungu kebiruan, berbentuk bulat dan tersusun seperti rantai. Pada penelitian Indrawati (2017) didapatkan hasil berupa sel bakteri *Bacillus cereus* yang berwarna ungu dan berbentuk basil.

Genus dari bakteri *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* adalah penyebab dari berbagai infeksi pada tubuh manusia yang merupakan flora normal pada mulut, kulit dan saluran pencernaan (Sari & Sagung, 2022). Kondisi kesehatan rongga mulut yang menurun berpengaruh terhadap kondisi mikrobiota didalamnya. Didalam rongga mulut sebenarnya sudah terdapat flora normal, namun karena beberapa faktor tertentu seperti sisa-sisa makanan yang terdapat di mulut dapat mengubah flora normal tersebut menjadi patogen dan menimbulkan penyakit apabila terjadi perubahan substrat atau berpindah dari habitat yang semestinya.

Di dalam rongga mulut manusia terdapat penyakit infeksi seperti plak gigi yang dapat menyebabkan karang gigi, karies gigi dan periodontal. Infeksi ini dapat disebabkan oleh kebersihan mulut yang kurang terjaga dapat mengganggu keseimbangan populasi bakteri di dalam rongga mulut. Bakteri di rongga mulut dapat berkembang biak karena

mendapatkan energinya dari sisa makanan dan protein dalam saliva (Sawitri & Maulina, 2021).

Selain itu, peneliti juga melakukan identifikasi jamur pada saliva penderita diabetes melitus dan diperoleh hasil pertumbuhan jamur sebanyak 7 jenis jamur diantaranya *Candida albicans* pada 7 sampel (sampel 1, 5, 6, 7, 8, 9, 10), *Aspergillus flavus* pada 4 sampel (1, 2, 4, 5), *Fusarium oxysporum* pada 5 sampel (sampel 1, 3, 4, 7, 8), *Curvularia* pada 5 sampel (sampel 1, 2, 3, 4, 6), *Aspergillus niger* pada 3 sampel (sampel 1, 7, 8), *Aspergillus fumigatus* pada 1 sampel (sampel 2) dan *Trichophyton mentagrophytes* pada 2 sampel (sampel 5 dan 6). Pada identifikasi tersebut, terdapat beberapa jenis jamur yang tidak termasuk ke dalam jamur yang menginfeksi mulut. Hal tersebut memungkinkan adanya kontaminasi udara pada saat penelitian berlangsung, salah satunya yaitu *Aspergillus flavus*. Sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Lia (2007) bahwa jamur *Aspergillus niger*, *Trychosporon sp.*, *Penicillium sp.*, dan *Aspergillus flavus* umumnya terdapat di udara sebagai kontaminan atau sebagai spora jamur yang tersebar di udara.

Pertumbuhan jamur yang paling banyak ditemukan pada penelitian ini adalah *Candida albicans* pada 7 sampel. Hal ini sejalan dengan penelitian Farizal (2018) yang mengemukakan bahwa Hasil analisis deskriptif didapatkan, responden 52% positif jamur *Candida albicans*. Hasil penelitian yang dilakukan tersebut yang paling banyak ditemukan *Candida albicans* adalah perempuan. Penderita diabetes melitus mempunyai gula pada saliva, urine, darah yang tinggi dan sekresi saliva menurun hingga jamur *Candida albicans* berkembang. penyebab timbulnya kandidiasis pada rongga mulut adalah kelainan endokrin, gangguan nutrisi keganasan, gangguan hematologi, imun menurun, mulut kering, penggunaan antibiotik, perokok dan kehamilan.

Penderita diabetes melitus yang terlibat dalam penelitian ini juga rata-rata berusia diatas 55 tahun atau biasa disebut dengan lansia. Hal tersebut dikarenakan bertambahnya usia dapat berakibat pada tingginya konsumsi makanan yang mengandung kadar glukosa dan bersifat kariogenik serta terjadinya disfungsi organ pankreas yang berperan dalam menghasilkan hormon insulin. Usia yang lebih dari 40 tahun merupakan awal dari terjadinya peningkatan intoleransi glukosa (Sudoyo dkk, 2009).

Penelitian ini didapatkan paling banyak berjenis kelamin perempuan. Hal tersebut sejalan dengan penelitian Detty (2020) yang mendapatkan hasil terbanyak pada perempuan sebesar 59,7% sedangkan pada laki-laki sebesar 40,3%. Perempuan lansia mendapat risiko lebih besar menderita penyakit diabetes melitus dibandingkan dengan laki-laki sebab secara hormonal akan terjadi fase pasca menopause yang membuat distribusi lemak tubuh pada perempuan mudah bertambah dan terjadi peningkatan massa tubuh (Wahyuni, 2010).

Diabetes melitus merupakan suatu penyakit menahun yang ditandai dengan kadar gula glukosa darah (gula darah) melebihi nilai normal. Hal ini dapat disebabkan oleh kurangnya pembentukan atau keaktifan insulin yang dihasilkan oleh sel beta dari pulau-pulau Langerhans di Pankreas atau adanya kerusakan pada pulau Langerhans itu sendiri. Secara umum diabetes melitus terdiri dari 2 tipe yaitu tipe 1 dan tipe 2. Diabetes melitus tipe 1 merupakan hasil dari reaksi autoimun terhadap sel pulau pankreas. Sedangkan diabetes melitus tipe 2 terjadi karena turunnya kemampuan insulin bekerja pada jaringan perifer dan disfungsi sel β pancreas (Ozougwu, 2013). Pada penelitian ini, peneliti hanya menemukan pasien diabetes melitus tipe 2.

Peningkatan kadar glukosa darah pada penderita diabetes melitus (hiperglikemia) juga dapat meningkatkan kadar glukosa pada saliva. Glukosa merupakan salah satu

media yang baik untuk pertumbuhan mikroorganisme seperti bakteri dan jamur. Salah satu faktor yang menyebabkan tumbuhnya bakteri yang ditemukan pada saliva penderita diabetes melitus yaitu berasal dari sisa makanan di mulut. Sisa makanan tersebut merupakan makanan yang sangat disukai oleh kuman. Bila sisa makanan dimakan oleh kuman maka akan terjadi proses peragian yang menghasilkan asam susu yang dapat melunakkan bagian terkeras dari gigi.

Menurut Pandey (2014) Frekuensi membuang air liur sering dilakukan oleh penderita diabetes melitus. Penyakit lokal maupun sistemik seperti diabetes melitus dapat menstimulasi terjadinya pengeluaran saliva. Adanya enzim lisozim dan mukus pada saliva yang berperan untuk peneteksi bakteri, dapat beralih fungsi apabila memiliki kadar yang rendah dalam rongga mulut sehingga meningkatkan pola bakteri dan jamur serta terjadi pembentukan plak.

Selama penelitian berlangsung, ditemukan keterbatasan pada saat pengamatan mikroskopik dari pewarnaan gram pada bakteri. Ditemukan beberapa preparat yang harusnya bersifat gram negatif menjadi gram positif. Hal tersebut disebabkan pada saat proses dekolorisasi yang tidak sempurna sehingga warna Kristal violet tidak seutuhnya hilang. Hal ini membuat bakteri gram negatif terbaca sebagai gram positif.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dari 10 sampel, diperoleh 8 jenis bakteri yaitu *Staphylococcus aureus* pada 4 sampel, *Staphylococcus epidermidis* pada 3 sampel, *Streptococcus pneumoniae* pada 2 sampel, *Bacillus cereus* pada 1 sampel, *Klebsiella pneumoniae* pada 2 sampel, *Escherichia coli* pada 3 sampel, *Salmonella paratyphi B* pada 1 sampel dan *Salmonella paratyphi A*. Sedangkan jamur yang diperoleh sebanyak 7 jenis yaitu *Candida albicans* pada 7 sampel, *Aspergillus flavus* pada 4 sampel, *Fusarium oxysporum* pada 5

sampel, *Curvularia* pada 5 sampel *Aspergillus niger* pada 3 sampel, *Aspergillus fumigatus* pada 1 sampel dan *Trichophyton mentagrophytes* pada 2 sampel.

SARAN

Adapun saran yang dapat disampaikan adalah kepada penderita diabetes melitus, agar lebih menjaga kebersihan mulut dan menjaga pola hidup yang sehat sehingga kadar gula dalam saliva terkendali dan kepada peneliti selanjutnya, disarankan menggunakan metode yang lebih sensitif dan spesifik dengan alat yang lebih canggih.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih terutama ditujukan kepada orang tua, keluarga, dan kerabat yang telah berkontribusi dalam penelitian ini. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Direktur Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Makassar dan Ketua Jurusan Teknologi Laboratorium Medis serta civitas akademika yang telah mendukung peneliti dalam melaksanakan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Detty, A. U. et al. (2020) 'Karakteristik Ulkus Diabetikum Pada Penderita Diabetes Melitus', *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 11(1), pp. 258–264. doi: 10.35816/jiskh.v11i1.261.

Dhanya, M. 2016. Salivary glucose as a diagnostic tool in Type II. *J. Clin. Pract*, 19(4).

Hernawati, S. (2017). Hubungan kadar glukosa darah dengan pertumbuhan *Candida albicans* pada penderita Diabetes melitus. *Indonesian Journal of Dentistry*, 14(2), 123-126.

Oktaviyani, H. (2016). Identifikasi Bakteri Pada Saliva Pasien Diabetes

Mellitus Berdasarkan Pewarnaan Gram Pada Puskesmas Ciputat Tangerang Selatan. Laporan Penelitian. UIN Syarif Hidayatullah: Jakarta.

Ozougwu, J. C.1, Obimba, K. C.2, Belonwu, C. D.3, and Unakalamba, C. B. The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus.

Pandey AK. *Literature rivew : Physiologi of Saliva*. *Journal of Denstistry Indonesia*, 2014 : 21 (10 : 32. 3.

Putri, M. H., Sukini, & Yodong. (2017). *Bahan Ajar Keperawatan Gigi-Mikrobiologi (Tahun 2017)*

Sawitri, H., & Maulina, N. (2021). Derajat pH Saliva pada Mahasiswa Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Malikussaleh yang Mengkonsumsi Kopi tahun 2020. *AVERROUS: Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan Malikussaleh*, 7(1), 84.

Wahyuni, S. 2010. Faktor-faktor yang Berhubungan dengan Penyakit Diabetes Melitus (DM) Daerah Perkotaan di Indonesia tahun 2007. Skripsi. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.

Tabel 1

Hasil Identifikasi dan Isolasi Bakteri pada Saliva Penderita Diabetes melitus Tipe 1 dan Tipe 2

Kode Sampel	Hasil Identifikasi	
	Media BAP	Media MCA
1	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
2	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
3	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
4	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Escherichia coli</i>
5	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
6	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-
7	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Salmonella paratyphi B</i>
8	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
9	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Salmonella paratyphi A</i>
10	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-

Tabel 2

Hasil Identifikasi dan Isolasi Jamur pada Saliva Penderita Diabetes melitus Tipe 1 dan Tipe 2

Kode Sampel	Koloni	Jenis Jamur
1	I	<i>Candida albicans</i>
	II	<i>Aspergillus flavus</i>
	III	<i>Fusarium oxysporum</i>
	IV	<i>Curvularia</i>
2	I	<i>Aspergillus niger</i>
	II	<i>Aspergillus fumigatus</i>
	III	<i>Curvularia</i>
	IV	<i>Aspergillus flavus</i>
3	I	<i>Fusarium oxysporum</i>
	II	<i>Curvularia</i>
4	I	<i>Fusarium oxysporum</i>
	II	<i>Curvularia</i>
	III	<i>Aspergillus flavus</i>
5	I	<i>Aspergillus flavus</i>
	II	<i>Candida albicans</i>
	III	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>
6	I	<i>Aspergillus flavus</i>
	II	<i>Candida albicans</i>
	III	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>
	IV	<i>Curvularia</i>
7	I	<i>Candida albicans</i>
	II	<i>Fusarium oxysporum</i>

	III	<i>Aspergillus niger</i>
8	I	<i>Aspergillus niger</i>
	II	<i>Candida albicans</i>
	III	<i>Fusarium oxysporum</i>
9	I	<i>Candida albicans</i>
10	I	<i>Candida albicans</i>

Tabel 3

Karakteristik penderita diabetes melitus berdasarkan usia

Usia	Frekuensi	%
55-70	8	80
71-85	2	20
Jumlah	10	100

Tabel 4

Karakteristik penderita diabetes melitus berdasarkan jenis kelamin

Jenis Kelamin	Frekuensi	%
Laki-laki	4	40
Perempuan	6	60
Jumlah	10	100