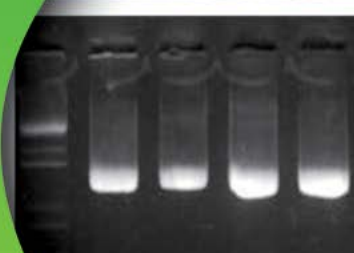


MONOGRAF

Isolasi Serta Identifikasi Morfologi dan Molekular

**Bakteri Penyebab Penyakit Otitis Media Supuratif
Kronis (OMSK)**



Dr. Suryani, M.Si



MONOGRAF

**Isolasi serta Identifikasi
Morfologi dan Molekular
Bakteri Penyebab Otitis
Media Supuratif Kronis
(OMSK)**



Dr. Suryani, MSi



Monograf

Isolasi serta Identifikasi Morfologi dan Molekular Bakteri Penyebab Otitis Media Supuratif Kronis (OMSK)

Jenis buku: Monograf

Penulis: Dr. Suryani, M.Si.

Editor : Efri Yoni Baikoeni, SS, MA

Cetakan Pertama tahun 2020

ISBN: 978-623-93471-1-6

Ukuran : 14,8 x 21 cm

Jumlah halaman : 56 halaman

Desain sampul : Sandra Putra, UMSB Press

Penerbit :UMSB Press, Universitas Muhammadiyah Sumatera Barat (UMSB), Padang

Alamat : Jl. Pasir Kandang No.4, Kecamatan Koto Tengah, Kota Padang, KP 25171.

© Hak cipta dimiliki penulis dan dilindungi Undang-Undang. Tidak ada bagian atau keseluruhan bagian buku ini yang bisa disalin atau direproduksi dengan media apapun tanpa seizin penerbit.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah dipanjatkan puji syukur ke hadirat Allah Yang Maha Kuasa, yang telah memberikan kekuatan dan kesehatan untuk dapat menyelesaikan monograf berjudul “Isolasi serta Identifikasi Morfologi dan Molekular, Bakteri Penyebab Otitis Media Supuratif Kronis (OMSK)”.

Salawat beriring salam Allahumma shalli ‘ala Muhammad diucapkan kepada junjungan Nabi Muhammad SAW, semoga kita diakui sebagai pengikut beliau. Aamiin.

Penulisan monograf ini berdasarkan pada penelitian tahun pertama (2019) dari Hibah Fundamental dari Kemenristekdikti berjudul “Pengembangan Analisa Antimikroba Bakteri Asam Laktat Yang Ada Pada Proses Fermentasi Santan Kelapa Menjadi VCO (Virgin Coconut Oil) Terhadap Bakteri Pada Infeksi Telinga Chronic Suppurativ Otitis Media.”

Karya ini tidak akan terwujud tanpa bantuan dari berbagai pihak. Untuk itu ucapan terima kasih yang sedalam-dalamnya disampaikan kepada:

1. Direktur DRPM Ristek DIKTI yang telah memberikan dana untuk penelitian ini melalui Hibah Fundamental Tahun I, 2016.
2. Ketua LPPM Universitas Muhammadiyah Sumatera Barat

(UMSB) yang telah banyak membantu dan memfasilitasi penelitian ini mulai dari pengusulan proposal.

3. Direktur RSUP Dr. M. Jamil Padang yang telah mengizinkan pengambilan sampel untuk penelitian ini.
4. Prof. Dr. Rahmiana Zein yang telah banyak membantu mulai dari ide penelitian sampai pada pembuatan proposal.
5. Tim Etika Clearance Fakultas Kedokteran UNAND.
6. Kepala Labor Sentral RSUP Dr. M. Jamil Padang.
7. Staf pada Labor Sentral RSUP Dr. M. Jamil Padang.
8. Dr. Yan Edward, SpTHT KL yang banyak membantu sebagai pembimbing lapangan di RSUP Dr. M. Jamil Padang.
9. Kepala Labor Dasar Kopertis Wilayah X Sumbar, Riau, Jambi dan Kepri, yang banyak membantu dalam mengizinkan melakukan penelitian.
10. Staf Laboran Kopertis Wilayah X.

Akhirnya tak ada gading yang tak retak, untuk kesempurnaan Monograf ini diharapkan saran dan kritik yang membangun dari semua pihak. Dan semoga Monograf ini berguna untuk semua .

Padang, 25 Juni 2020

Penulis,

Suryani

NIDN: 0027056501

DAFTAR ISI

	HALAMAN
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	ii
ABSTRAK	iii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	2
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.4. Keutamaan Penelitian (Urgensi)	4
BAB 2. METODOLOGI	7
2.1. Waktu dan tempat Penelitian	7
2.2. Sampel	7
2.3. Bahan dan Alat	8
2.4. Metoda	9
2.4.1. Isolasi bakteri	9
2.4.2. Identifikasi bakteri	10
BAB 3. TINJAUAN PUSTAKA	13
3.1. Virgin Coconut Oil	13
3.2. Bakteri Asam Laktat	14
3.3. Otitis Media Suppurativ Kronis	16
3.4. Studi Pendahuluan yang telah dilaksanakan	17
Isolasi Serta Identifikasi Morfologi dan Molekular Bakteri Penyebab Otitis Media Supuratif Kronis (OMSK)	iii

3.5. Peta jalan penelitian (Road Map)	18
BAB 4. PEMBAHASAN	19
4.1. Sebaran Sampel	19
4.2. Isolasi bakteri pattogen dari sekret penderita OMSK	20
4.3. Identifikasi Bakteri Patogen sekret	22
4.4. Identifikasi Makromolekul dengan menggu- nakan PCR	26
BAB 5. SIMPULAN	35
UCAPAN TERIMAKASIH	36
DAFTAR PUSTAKA	37



ABSTRAK

Penyakit infeksi pada telinga tengah yang menahun dinamakan juga dengan Otitis Media Supuratif Kronis (OMSK). Bila tidak dapat ditangani dengan baik, dapat menyebabkan penyakit berbahaya seperti Meningitis, bahkan dapat menyebabkan kematian. Selama ini, cara mengatasinya dengan menggunakan antibiotik buatan seperti *Khloramfenikol*, *Methicilin*, namun pemakaian beberapa antibiotik buatan ini dapat menyebabkan resistensi.

Sementara itu, Virgin Coconut Oil (VCO) mempunyai kemampuan sebagai antimikroba yang sudah diuji terhadap 5 bakteri uji (*E.coli* NBRC14237, *Staphylococcus aureus* NBRC 13276, *Bacillus subtilis* BTCCB, *Salmonella thypii*, dan *Listeria monocytogenes*). Pengembangan dari VCO ini dapat digunakan sebagai antimikroba dari bakteri patogen OMSK.

Untuk itu perlu tiga informasi yaitu: 1) Mengisolasi bakteri yang ada di cairan telinga pasien penderita infeksi telinga *Chronic suppurative otitis media* dengan menggunakan media umum Blood Agar dan metoda Pengenceran. 2) Mengidentifikasi isolat bakteri secara morfologi, fisiologi dan uji-uji biokimia. 3) Mengidentifikasi dan analisa isolat bakteri secara molekular dengan metoda PCR (16S rRNA).

Ternyata didapatkan hasil 196 isolat dari 126 sekret pasien OMSK dengan 5 jenis bakteri patogen yaitu *Pseudomonas Aureginosa*, *Staphilococcus Aureus*, *Staphilococcus Epidermidis*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiela sp* dan 1 jamur *Candida sp*.

Berdasarkan umum, pasien OMSK yang diambil sekretnya adalah 46% berumur diatas 20 tahun dan 54% berumur dibawah 20 tahun dan laki-laki 63% dan perempuan 37%. Isolat yang diidentifikasi secara morfologis juga sudah dilakukan identifikasi secara molekuler dengan PCR dan telah didapatkan urutan DNA dari 5 bakteri patogen yang didapatkan dari sekret pasien OMSK.

K a t a Isolasi, identifikasi molecular, bakteri
Kunci: patogen, OMSK (*Otitis Media Supuratif Kronis*), Virgin Coconut Oil (VCO).

ABSTRACT

Chronic infectious diseases of the middle ear are also called Chronic Suppurative Otitis Media (CSOM). If it cannot be handled properly, it can cause Meningitis and is very dangerous, because it can cause death. During this time to overcome it used artificial antibiotics such as Chloramphenicol, Methicilin, but the use of some of these artificial antibiotics can cause resistance. Meanwhile, Virgin Coconut Oil (VCO) has the ability as an antimicrobial, which has been tested against 5 test bacteria (E.coli NBRC14237, Staphylococcus aureus NBRC 13276, Bacillus substilis BTCCB, Salmonella thypii, and Listeria monocytogenes). The development of this VCO can be used as an antimicrobial from CSOM pathogenic bacteria. Therefore, we need some information such as; (1) Isolating bacteria in the ear fluid of patients suffering from chronic suppurative otitis media ear infections by using the general media Blood Blood and Dilution methods, (2) Identifying bacterial isolates by morphology, physiology and biochemical tests, stage, (3) Identifying and analyzing bacterial isolates using the PCR method (16S rRNA). It turned out that 196 isolates were obtained from 126 CSOM patient secretions with 5 types of pattogenic bacteria namely *Pseudomonas aureginosa*, *Staphilococcus aureus*, *Staphilococcus epidermidis*, *Proteus*

mirabilis, *Klebsiela sp.*, and 1 fungus *Candida sp.* CSOM patients secreted were 46% aged over 20 years and 54% aged under 20 years and men 63% and 37% women. The morphologically identified isolates have also been identified molecularly by PCR and DNA sequences have been obtained from 5 pathogenic bacteria obtained from CSOM patient secretions.

Keywords: Isolation, molecular identification, pathogenic bacteria, CSOM (Chronic Suppurative Otitis Media), Virgin Coconut Oil (VCO).



Bab 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Virgin Coconut Oil (VCO) adalah minyak kelapa yang dibuat melalui beberapa cara yaitu fisika (Handayani 2009), kimia, enzimatis dengan penambahan stater (Redjeki & Kurniati 2013), (Kumalaningsih & Padaga 2012) dan secara tradisional atau fermentasi santan tanpa penambahan stater (Suryani, Dharma et al. 2014), (Krishna et al. 2010)

Santan termasuk salah satu bahan yang mengandung protein dan karbohidrat yang tinggi, sehingga bila difermentasi terdapat Bakteri Asam Laktat (BAL) seperti yang dilaporkan oleh (Krishna et al. 2010) dan (Chen et al. 2010).

Bakteri Asam Laktat (BAL) mengandung bakteriosin, yaitu peptida yang dapat membunuh bakteri pattogen dan tidak berbahaya untuk bakteri non pattogen (Nguyen et al. 2010), Suryani dkk (2014), dan (Suryani, Dharma et al. 2014) telah melaporkan bahwa Bakteri Asam Laktat (BAL) pada lapisan minyak yang diisolasi dari proses

fermentasi santan menjadi VCO dapat menghambat pertumbuhan 5 bakteri patogen sebagai bakteri uji pada analisa antimikroba / antibakteri yang dilakukan. Adapun 5 bakteri patogen atau bakteri uji itu adalah *E.coli* NBRC14237, *Staphylococcus aureus* NBRC 13276, *Bacillus subtilis* BTCCB, *Salmonella thypii*, dan *Listeria monocytogenes*. Selain itu (Virgin Coconut Oil) juga mampu menghambat pertumbuhan jamur patogen yaitu *Candida sp*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus sp*.

Untuk pengembangan lebih lanjut, karena lapisan minyak VCO yang mengandung BAL (Bakteri Asam Laktat) dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen, maka diharapkan juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen yang ada pada cairan telinga penderita Otitis Media Suppuratif Akut. Yaitu penyakit telinga tengah yang dapat diderita mulai dari anak-anak sampai dengan orang dewasa laki-laki maupun perempuan yang apabila tidak dapat disembuhkan akan mengakibatkan peradangan pada selaput otak yang selanjutnya dapat mengakibatkan kematian (R Shyamala 2012). Disamping itu (Mansoor et al. 2009) melaporkan bahwa Otitis Media Suppuratif adalah penyakit yang berbahaya dan dapat mengakibatkan komplikasi yang menyebabkan kematian di negara-negara berkembang termasuk India, Nepal dan Indonesia.

Dari India, Pradesh (2012) melaporkan bahwa bakteri yang ada di cairan telinga 80 sampel penderita Otitis Media

Supuratif Akut yang dianalisa, terdapat beberapa bakteri patogen yaitu *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas sp*, *Escherichia coli*, dan *Klebsiella sp*. Ternyata bakteri pathogen tersebut 18% sudah mengalami resisten atau sudah tidak mempan lagi dengan antibiotik seperti *Methicillin*, masih sensitif dengan *amikacin*, *chloramfenicol* dan *piperacillin*.

Belum ada laporan dari Indonesia yang mengisolasi bakteri patogen yang terdapat pada cairan telinga penderita Otitis Media Supuratif Akut. Sampai saat ini belum ada laporan yang menggunakan Virgin Coconut Oil sebagai antibakteri atau antibiotik alami alternatif penanggulangannya.

1.2. Rumusan Masalah.

Permasalahannya adalah dapatkah bakteri patogen yang ada pada cairan telinga penderita Otitis Media Suppuratif Khronis dihambat pertumbuhannya oleh isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) yang ada pada lapisan minyak Virgin Coconut Oil (VCO)? Bila dapat, maka VCO bisa dijadikan sebagai antibiotik alami untuk penderita Otitis Media Suppuratif Khronis, dan dapat mencegah terjadinya komplikasi penyakit ini (Meningitis), sehingga akan mengurangi akibat yang berbahaya yaitu kematian. Secara ringkas maka identifikasi masalahnya terdiri dari:

- 1) Apakah dapat diisolasi bakteri patogen yang ada pada cairan telinga penderita Otitis Media Suppuratif Kronis?
- 2) Termasuk spesies apakah isolat bakteri patogen tersebut?
- 3) Bagaimanakah urutan gen dari isolat tersebut?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan khusus penelitian ini terdiri dari tiga (3) tahap yaitu :

- 1) Mengisolasi bakteri yang terdapat pada cairan telinga pasien penderita Otitis Media Suppuratif Kronis.
- 2) Mengidentifikasi bakteri hasil isolasi secara morfologi, fisiologi dan uji biokimia.
- 3) Mengidentifikasi bakteri hasil isolasi secara molekular dengan analisa PCR 16S rRNA.

1.4 Keutamaan Penelitian (Urgensi)

Keutamaan penelitian ini adalah untuk pengembangan analisa anti mikroba Bakteri Asam Laktat (BAL) yang terdapat pada lapisan minyak Virgin Coconut Oil (VCO) terhadap bakteri patogen yang ada pada cairan telinga penderita Otitis Media Suppuratif Kronis.

Suryani (2014) melaporkan bahwa BAL yang ada pada lapisan minyak VCO telah mampu menghambat pertumbuhan 5 bakteri patogen yaitu *E.coli* NBRC14237, *Staphylococcus aureus* NBRC 13276, *Bacillus subtilis* BTCCB, *Salmonella thypii*, dan *Listeria monocytogenes*. Untuk itu, BAL pada VCO diharapkan juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen yang ada pada cairan telinga penderita Otitis Media Supuratif Kronis.

Terkait dengan kemaslahatan masyarakat, penelitian membuktikan adanya keterkaitan antara penderita Otitis Media Suppuratif Akut dengan angka mortalitas dan morbiditas karena Otitis Media Suppuratif Akut ini bila komplikasi dapat menyebabkan Meningitis dan radang otak yang selanjutnya akan menyebabkan kematian. R Shyamala (2012) melaporkan bahwa Otitis Media Suppuratif Akut ini ditemukan sebagian besar pada penduduk yang berumur 0- 20 tahun yaitu sebesar 73%, dan lebih banyak perempuan yaitu 38% dan 35% laki-laki. Otitis Media Suppuratif Akut menurut Prakash et al. (2013) bahwa penyakit ini banyak ditemukan di India, Nepal, Taiwan dan Indonesia termasuk negara yang sedang berkembang.

Dari beberapa penelitian yang dilakukan antara lain Prakash Adikari (2009), Alabbasi et al. (2010), Bakhshae & Rajati (2010) dan Asroel et al. (2010) serta Homenta (2016) bahwa penyembuhan

terhadap penderita Otitis Media Suppuratif Kronis, selama ini menggunakan antibiotik, tapi ada beberapa yang sudah mengalami resistensi. Maka dari itu, penelitian ini perlu dilakukan dengan harapan VCO dapat berfungsi sebagai antibiotik alami sebagai alternatif lain dari antibiotik yang sudah mengalami resistensi tersebut.



Bab 2

METODE

2.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dimulai bulan Februari 2016 sampai Desember 2016. Ada beberapa laboratorium yang digunakan antarlain di Laboratorium Mikrobiologi Kopertis Wilayah X Sumbar di Padang, Laboratorium Biologi Universitas Muhammdiyah Sumatera Barat, Laboratorium Sentral RSUP M.Jamil Padang, dan Laboratorium Mikrobiologi LIPI Cibinong.

2.2. Sampel

Adapun sampel cairan telinga dari penderita Otitis Media Suppurativ Kronis (OMSK) diambil dari 96 orang pasien yang ada di Rumah Sakit Umum Pusat (RSUP) Dr.M.Jamil Padang, karena dari peninjauan awal ternyata pasien OMSK beberapa Rumah Sakit berikut yaitu:

1. Rumah Sakit Umum Pusat (RSUP) Dr.M.Jamil Padang
2. Rumah Sakit Semen Padang
3. Rumah Sakit Siti Rahmah Padang

4. Rumah Sakit Daerah Padang Panjang
5. Rumah Sakit Ibnu Sina Bukittinggi
6. Rumah Sakit Ibnu Sina Padang.
7. Rumah Sakit Umum Daerah Achmad Muchtar Bukittinggi

Pada penderita kemudian dirujuk ke RSUP Dr. M. Jamil Padang.

2. 3. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah cairan telinga 60 orang penderita Otitis Media Suppuratif Kronis. Media NA agar dan, MRS (15 g pepton, 5g ekstrak yeast, 10 g dekstrosa, 5 g jus tomat, 2 g mono potassium fosfat, dan 1 g polisorbate 80), media LB /Luria Bertani (10 g Tripton, 5 g ekstrak Yeast dan 10 g NaCl), Blood agar, MC agar, Natrium asetat, Nitrogen cair, Biru metilen, aquades steril, Natrium azida, HCl 6 N, ampicilin, ammonium sulfat, Tris-HCl 50 mM pH 7,4, NaCl 1 M, Tris - HCl 100 mM pH 8,5, buffer TE (10 mM Tris- HCl, 1 mM EDTA pH 7,6), gliserol, sephadex G-50, methanol 100%, MOPS (Asam 4-morfolinopropanafosfat sulfonat), iso propanol, etanol 70 %, MgCl₂, ATP, Tris-HCl 50 mM pH 7,4 polivinil alcohol, ammonium molibdat, Natrium sitrat, aquabidest, methanol, Agar murni, alkohol 70%, 96%, amonium sulfat (NH₄)₂SO₄, Aquades, buffer solution pH 7.00 analisis, hidrogen peroksida (H₂O₂) teknis, yeast extract agar, potassium hidroxide (KOH), phenolphtalein (PP) analisis, Amilum

(indikator kanji) teknis, lactose broth, IPTG, buffer B, buffer elusi, buffer dialysis, loading dye, lisozim (60 mg/mL), SDS 10 %, NaCl 5M, CTAB 10%, RNase, buffer PCR, primer revers,Taq, bromphenol blue, coomassie brilliant blue, bovin serum albumin (BSA) ,BCA kit, , kit pewarnaan perak, dan marker protein 1700-42000 Da ,untuk analisis bobot molekul bakteriosin, TEMED, chloroform, isopropanol, dNTP, primer forward, aquades dingin, machite green, ammonium sulfat, sukrosa, akrilamid, ammonium persulfat. Marker protein 250 kDa digunakan untuk analisis bobot molekul RNA helikase.

2.4. Metoda

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahap yaitu :

- a. Isolasi bakteri Pattogen yang ada pada cairan telinga 96 orang penderita Otitis Media Suppuratif Kronis (OMSK) .
- b. Identifikasi bakteri Pattogen nya dengan uji gram positif dan negatif, uji pewarnaan bakteri dan uji morfologi nya
- c. Analisa dengan cara molecular 16S rRNA dengan PCR.

2.4.1. Isolasi bakteri Pattogen

Bakteri patogen dari sekret 96 penderita OMSK diisolasi menggunakan metoda pengenceran yaitu sampai pengenceran 10⁻⁷ dan media yang digunakan adalah Blood Agar serta McConkey.

Agar. Diusahakan sampai ada koloni tunggal, sehingga koloni tunggal ini yang menjadi isolat dari bakteri patogennya. Bersamaan dengan digoresnya sekret pada media Blood agar, sekret juga diperkaya dalam Tioglikolat. Karena seandainya tidak ada bakteri yang tumbuh pada media, maka selanjutnya diambil sampel yang sudah diperkaya ini yang ditanam pada media Blood Agar lagi. Biasanya setiap penderita OMSK ada satu isolat yang dihasilkan, tapi ada juga dari satu sampel sekret didapatkan lebih dari satu bakteri patogen.

2.4.2. Identifikasi bakteri Pattogen

Isolat yang sudah terkumpul diidentifikasi secara Morfologis, dengan melihat bentuk koloni nya serta warna koloni nya. Uji Gram , Gram negatif dan Gram positif serta Uji biokimia seperti Uji Katalase , uji Amilum dan uji novobiosin. Uji Morfologis dilakuakn dengan cara sebagai berikut:

1. Kultur BAL ditanam pada media MRSA dan diinkubasi pada 37 °C.
2. Diamati bentuk morfologi sel kultur BAL diinkubasi selama 14 jam sampai 17 jam, dengan melihat bentuk koloninya, ada yang cembung dan ada yang datar atau cekung diamati warna koloninya apakah putih, kuning atau kekuningan atau bening dan sebagainya, susunan selnya.

terpisah pada media MRSA + CaCO₃.

4. Pengamatan morfologi sel mencakup bentuk selnya dengan mengamati dibawah mikroskop apakah berbentuk bulat (coccus) atau berbentuk batang (Bacil).
5. Sifat Gram dan motilitas yang semuanya diamati di bawah mikroskop binokuler pada perbesaran 10 dan 40x.
6. Untuk pengamatan koloni bakteri subkultur diinkubasi selama 48 jam. Untuk uji Biokimia yang meliputi uji Katalase, oksidase, TSIA, produksi amoniak (NH₃) dan uji fermentasi karbohidrat menurut prosedur Mac Faddin (1983). Dibandingkan dengan manual (Cowan,1975).

2.4.3. Analisa dengan cara molecular 16S rRNA dengan PCR

Analisa ini dimulai dengan isolasi DNA genom dari sel menggunakan buffer lisis. DNA genom selanjutnya iampifikasi/ diperbanyak pada daerah 16S rDNA dengan teknik PCR menggunakan primer 63f dan 1387r. Proses amplifikasi diawali dengan pemanasan awal 94°C selama 2 menit, kemudian dilakukan siklus denaturation, annealing dan elongation berturut-turut 94°C selama 30 detik, 55 °C selama 40 detik dan 72 °C selama 30 detik berlangsung sebanyak 30 siklus. Lalu diakhiri dengan final extension selama 5 menit pada suhu 72 °C. Selanjutnya dielektroforesis, urutan basa nukleotida amplikon tersebut dibaca dengan menggu-

nakan instrumen ABI PRISM 310 Genetik Analyzer. Urutan basa nukleotida selanjutnya dianalisis menggunakan program BLAST pada situs NCBI. Untuk mengetahui filogeni/kekerabatan dengan organisme lain, hasil sekuensing 16S rDNA tersebut dibandingkan dengan data sekuen 16S rDNA beberapa spesies yang diperoleh dari bank data. Data sekuen 16S rDNA tersebut kemudian dialignment dengan program clustalX ver 2.0.



Bab 3

TINJAUAN PUSTKA

3.1. Virgin Coconut Oil

Virgin Coconut Oil (VCO) adalah minyak kelapa yang salah satu cara pembuatannya dengan fermentasi santan, atau dengan kata lain tanpa menggunakan pemanasan sama sekali.

Selain dengan fermentasi ada beberapa teknik lain untuk ekstraksi minyak kelapa, seperti dengan cara fisika, kimia, atau proses enzimatik yang menggunakan *inokulum mikroba* sebagai starter (Krishna et al. 2010), (Redjeki & Kurniati 2013), (Rahayu et al. 2008).

Metode ekstraksi VCO yang lainnya adalah fermentasi santan tanpa penambahan mikroorganisma sebagai stater, dinamakan dengan fermentasi tradisional seperti yang dilaporkan oleh (Arlee et al. 2013), (Rahayu et al. 2008), (Handayani 2009), (Hayatullina et al. 2012), (Manohar et al. 2013) dan melanjutkannya dengan menghitung jumlah mikroba dalam proses fermentasi, belum mengidentifikasi mikrobanya. (Suryani, Dharma et al..

(2014) sudah mengidentifikasi mikrobya yang memperoleh 5 kelompok spesies yaitu *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus thermobacterium*, *Corineaebacterium bovis*, *Corineaebacterium xerosis*, dan *Microoccus luteus*.

Urutan gen dari isolat sudah didaftarkan di DDBJ (Data DNA Bank Jepang) dengan nomor pendaftaran (*acession number*) AB890143.

Virgin Coconut Oil (VCO) mengandung asam lemak rantai pendek (*Medium Chain Trigiserida* biasa disingkat dengan MCT (Arlee et al. 2013) dan (Krishna et al. 2010).

VCO mempunyai banyak kegunaan diantaranya adalah membantu masalah kesehatan malnutrisi pada anak-anak, mengurangi berat badan (Hayatullina et al. 2012), dan penyembuhan HIV karena VCO mempunyai fungsi antiviral.

VCO juga berfungsi sebagai antijamur seperti antijamur dari spesies jamur *Candida* (Carandang 2008). Khasiat lain untuk kesehatan adalah sebagai antibakteri yang bisa menghambat pertumbuhan mikroba *Staphilococcus* (Manohar et al. 2013), bersifat sebagai antioksidan (Nurul-iman et al. 2013), karena kandungan fenol yang tinggi dan dapat mengurangi efek dari osteoporosis (Abujazia et al. 2012).

3.2. Bakteri Asam Laktat

Bakteri Asam Laktat (BAL) adalah bakteri yang dihasilkan dari fermentasi baik hewan maupun tumbuhan yang kaya akan karbohidrat dan protein. Fermentasi ini menghasilkan komponen-komponen seperti asam asetat, asam laktat (utama), etanol, karbondioksida, dan asam formiat, H_2 , O_2 dan peptida antimikroba (bakteriosin), Epo Poli Sakarida (EPS), dan Vitamin.

Bakteri Asam Laktat adalah bakteri Gram positif (+), berbentuk batang, ataupun bulat, tidak membentuk spora, katalase -negatif, asam toleran dan organisme aneorob fakultatif. BAL pada umumnya adalah bakteri yang aman dikonsumsi (*food grade microorganisme*) dan merupakan bakteri yang ada dalam kelompok GRAS (Generally Recognized As Safe).

Yang termasuk spesies BAL antara lain genus *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Oenococcus*, *Enterococcus* dan *Leuconostoc* (Fernanda Mozi, iVignolo 2010), (Fiedler et al. 2011).

BAL tumbuh pada proses fermentasi substrat yang banyak mengandung karbohidrat. Bakteri asam laktat (BAL) mencakup kelompok mikroorganisme yang heterogen, dimana BAL adalah Gram (+), tidak membentuk spora, katalase -negatif, asam- toleran, organisme anaerob fakultatif kecuali untuk beberapa spesies.

Pada umumnya BAL adalah non pathogen dan diakui sebagai bakteri yang berstatus safe yaitu aman untuk di konsumsi. Spesies BAL antara lain: *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Oenococcus*, *Enterococcus*, dan *Leuconostoc* (Fernanda Mozi, iVignolo 2010).

Telah dilaporkan oleh Suryani, Dharma et al. (2014) bahwa terdapat BAL pada VCO, dan VCO dapat menghambat aktifitas pertumbuhan mikroba 5 bakteri uji yaitu *Escherichia coli*, *Bacillus substilis*, *Staphilo coccus aureus*, *Listeria monocitogenes* *Salmonella typhypfosa* dan kemampuan anti jamur terhadap 3 jamur pattogen yaitu *Candida sp*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus sp* disebabkan oleh adanya bakteriosin, karena bakteriosin adalah peptida yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri pattogen dan tidak berbahaya bagi bakteri non pattogen.

3.3. Otitis Media Suppurativ Kronis

Otitis media supuratif kronik (OMSK) adalah peradangan kronis dari telinga tengah dan rongga mastoid, yang menimbulkan masalah kesehatan masyarakat yang besar, karena bila komplikasi akan menyebabkan radang otak sehingga menyebabkan kematian (Yousuf et al. 2011).

Penderita Otitis Media Suppurativ ini mulai dari anak-anak sampai dengan orang dewasa, (Yaor & Jafari 2006) melaporkan

>CONTIQ_M16.16.2_1422bp_ Proteus mirabilis_99%

GTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTAT-
TCACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTC-
CGACTTCATGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAATCCGAAC-
TGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTTACTCTCGCGAGTTC-
GCAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAG-
CCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATC-
CCCACCTTCCTCCGTTTGTACCGGCAGTCTCACCA-
GAGTGCCCAACTTAATGCTGGCAACTGATAATAAGGGTTG-
CGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACAC-
GAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTATCCATGTC-
CCGAAGGGAACGTCTAATCTCTTAGATTTGCATAGTAT-
GTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTAGCTTCGAATTA-
AACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAAT-
TCCTTTGAGTTTCAGCCTTGCGGCCGTACTCCCCAG-
GCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTGAAGG-
GCGGAAACCCTCCAACACTTAGCATTTCATCGTTTAC-
GGTATGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTAC-
CCATACTTTCGAGCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGA-
CAGCCGCCTTCGCCACTGGTGTCTTCCATATATCTACG-
CATTTACCGCTACACATGGAGTTCCACTGTCCTCTTCT-
GCACTCAAGTTTCCCAGTTTCCGATGCACTTCTTCGGTT-
GAGCCGAAGGCTTTCACATCAGACTTAAAAAACCGCCTG

CGCTCGCTTTACGCCAATAAATCCGGACAACGCTTG-
CCACCTACGTATTACCGACCATCCAAAAGTGATAGC-
CGAAGCCATCTTTCAAGCTCGGACCATGCGGTC-
CAAGTTGTTATGCGGTATTAGCATCTGTTTCCAGGTGT-
TATCCCCGCTTCTGGGCAGGTTTCCCACGTGTTACT-
CACCAGTTCGCCACTCACTCAAATGTAAATCATGATG-
CAAGCACCAATCAATACCAGAGTTCGTT.



Bab 5

SIMPULAN

Dari penelitian ini, dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut:

1. Bakteri patogen yang ada pada cairan telinga atau sekret pasien Otitis Media Suppurativ Kronis (OMSK) dapat diisolasi sebanyak 129 isolat dari 96 pasien OMSK.
2. Dari 129 isolat itu ternyata dapat diidentifikasi dan dikelompokkan sebanyak 5 jenis bakteri patogen yaitu: *Pseudomonas aereginosa*, *Staphilococcus aureus*, *Staphilococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiela sp* dan satu jamur *Candida sp* dengan cara morfologis dan uji biokimia.
3. Analisa secara molekuler yang menguatkan identifikasi secara morfologis dan telah dapat ditentukan urutan gen ke 5 nya .



UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini tidak akan dapat diselesaikan bila tidak ada bantuan dari berbagai pihak, untuk itu diucapkan terimakasih kepada :

1. Direktur DRPM Ristek DIKTI , yang telah memberikan dana untuk penelitian ini melalui Hibah Fundamental Tahun I, 2016.
2. Prof.Dr. Rahmiana Zein yang telah banyak membantu mulai dari ide penelitian sampai pada pembuatan proposal.
3. Kepala Rumah Sakit Umum Pusat Dr.M.Jamil yang telah mengizinkan melakukan penelitian.
4. Kepala Labor Dasar Kopertis Wilayah X , yang banyak membantu dalam mengizinkan melakukan penelitian .



DAFTAR PUSTAKA

Abujazia, M.A. et al., 2012. The Effects of Virgin Coconut Oil on Bone Oxidative Status in Ovariectomised Rat. *Evidence - Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012.

Alabbasi, A.M., Alsaimary, I.E. & Najim, J.M., 2010. Prevalence and patterns of chronic suppurative otitis media and hearing impairment in Basrah city. *Journal of Medicine and Medical Sciences*, 1(May), pp.129–133.

Arlee, R., Suanphairoch, S. & Pakdeechanuan, P., 2013. Differences in chemical components and antioxidant-related substances in virgin coconut oil from coconut hybrids and their parents. *International Food Research Journal*, 20(5), pp.2103–2109.

Asroel, H.A., Siregar, D.R. & Aboet, A., 2010. Profil of Patient with Chronic Suppurative Otitis Media. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional*, 7(12), pp.567–571.

Bakhshae, M. & Rajati, M., 2010. Allergic rhinitis and chronic suppurative otitis media. *Eur Arch Otorhinolaringol*.

Bl, S., Shrestha, I. & Rc, A., 2010. Comparison of clinical presentation between Chronic Otitis Media Mucosal with Squamous . *Original Article*, 8(3), pp.387–391.

Carandang, E.V., 2008. Health Benefits of virgin coconut oil. *Indian Coconut Journal*, (2), pp.8–12. Available at: <http://coconutboard.nic.in/English-Article-VCO-Carandang.pdf>.

Chen, Y. et al., 2010. *Lactobacillus pobuzihii* sp . nov ., isolated from pobuzihi (fermented cummingcordia). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60, pp.1914–1917.

Fernanda Mozi, iVignolo, G.M., 2010. *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria* 1 edition., Willey - Blackwell.

Fiedler, T. et al., 2011. Characterization of Three Lactic Acid Bacteria and Their Isogenic *ldh* Deletion Mutants Shows Optimization for Y ATP (Cell Mass Produced per Mole of ATP) at Their Physiological pHs Characterization of Three Lactic Acid Bacteria and Their Isogenic *ldh* Deletion Mutants Shows Optimization for Y ATP (Cell Mass Produced per Mole of ATP) at Their Physiological pHs †.

Handayani, R., 2009. Extraction of Coconut Oil (*Cocos nucifera* L.) through Fermentation System. *Biodiversitas, Journal of Biological Diversity*, 10(3), pp.151–157. Available at: <http://biodiversitas.mipa.uns.ac.id/D/D1003/D100309.pdf>.

Hayatullina, Z. et al., 2012. Virgin coconut oil supplementation prevents bone loss in osteoporosis rat model. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2012.

Homenta, H., 2016. Infeksi biofilm bakterial. *Homenta*, 4, pp.1–11.

Krishna, G. et al., 2010. Coconut Oil : Chemistry , Production and Its Applications - A Review. *Indian Coconut Journal*, pp.15–27.

Kumalaningsih, S. & Padaga, M., 2012. The Utilization of Microorganisms Isolated From Fermented Coconut Milk For The Production of Virgin Coconut Oil. , 2(3), pp.2286–2290.

Manohar, V. et al., 2013. In Vitro and In Vivo Effects of Two Coconut Oils in Comparison to Monolaurin on *Staphylococcus aureus*: Rodent Studies 1 1. , 16(February 2012), pp.499–503.

Mansoor, T. et al., 2009. PSEUDOMONAS AERUGINOSA IN CHRONIC SUPPURATIVE OTITIS MEDIA : SENSITIVITY SPECTRUM AGAINST VARIOUS ANTIBIOTICS. , 21(2), pp.120–123.

Moorthy, P.N.S. et al., 2013. Clinical Application of a Microbiological Study on Chronic Suppurative Otitis Media. , 2013(November), pp.290–294.

Nguyen, H.T.H. et al., 2010. Isolation and characterisation of selected lactic acid bacteria for improved processing of Nem chua , a traditional fermented meat from Vietnam. *Beneficial Microbes*, 1(1), pp.67–74.

Nurul-iman, B.S. et al., 2013. Virgin Coconut Oil Prevents Blood Pressure Elevation and Improves Endothelial Functions in Rats Fed with Repeatedly Heated Palm Oil. , 2013.

Pradesh, A., 2012. Aerobic bacteriology of chronic suppurative otitis media in Rajahmundry , Andhra Pradesh , India. , 4(2), pp.73–79.

Prakash Adikari, S., 2009. Chronic Suppurative Otitis Media in urban private school children of Nepal. *Braz. J. Otorhinolaryngol*, 75(5), pp.2007–2010.

Prakash, M. et al., 2013. BACTERIOLOGICAL PROFILE AND THEIR ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY PATTERN OF CASES OF CHRONIC SUPPURATIVE OTITIS MEDIA. , 6, pp.5–7.

R Shyamala, Ps., 2012. The study of bacteriological agents of chronic suppurative otitis media - Aerobic culture and evaluation. *Journal Of Microbiology and Biotechnology Research*, 2(1), pp.152–162.

Rahayu, R.D., Sulisty, J. & Dinoto, A., 2008. Enzymatic properties of microbial solid starters on coconut oil recovery. *Proceeding of The International Seminar on Chemistry*, pp.648–652.

Ramakrishnan, K., Sparks, R.A. & Berryhill, W.E., 2007. Diagnosis and Treatment of Otitis Media. *American Family Physician*, 76(11), p.1650–.

Redjeki, S. & Kurniati, E., 2013. The Kinetic Reaction of Virgin Coconut Oil (VCO) Fermentation in an Ideal Bioreactor Tank in a Batch Process. , 7, pp.159–163.

Shrestha, B.L., 2011. Original Article MICROBIOLOGICAL PROFILE OF CHRONIC SUPPURATIVE OTITIS MEDIA. *Nepal-ese Journal of ENT Head and Surgery*, 2(2), pp.6–7.

Suryani, D.A., 2016. Isolation and Characterization of Bacteriocins Bacteria *Lactobacillus Plantarum* Strain NM178-5 from Fermentation Process with Contained on Coconut Milk. *Transylvanian Reviewer*, XXIV(6), pp.614–628.

Suryani, Dharma, A. et al., 2014. Antimicrobial and Antifungal Activity of Lactic Acid Bacteria Isolated from Coconut Milk Fermentation . *Research Journal of Pharmaceutical and Biological and Chemical Sciences*, 5(1587), pp.1587–1595.

Yaor, M.A. & Jafari, B., 2006. Surgical Management of Chronic Suppurative Otitis Media : A 3-year Experience. *Annals of African Medicin*, 5(1), pp.24–27.

Yousuf, M. et al., 2011. Clinical study on chronic suppurative otitis media with cholesteatoma. *Bangladesh Jurnal Otorhinolaryngol*, 17(1), pp.42–47.



Buku ini membicarakan tentang isolasi bakteri patogen dalam upaya pencegahan penyakit Otitis Media Supuratif Kronis (OMSK). Selain itu, dibahas juga mengenai identifikasi secara morfologis dan molekuler.

Selama ini, pencegahan penyakit OMSK dilakukan melalui penggunaan antibiotik buatan seperti Kloramfenikol dan Methicilin yang dapat mengakibatkan resistensi.

Penyakit OMSK yang tidak tertangani dengan baik bisa menyebabkan Meningitis yang dapat membawa kematian. Melalui upaya pengembangan isolasi bakteri patogen dengan menggunakan VCO ini diharapkan dapat berfungsi sebagai antibiotik alami.

Buku ini dapat digunakan sebagai rujukan bagi para peneliti Biokimia, Kesehatan, penyakit THT – KL, termasuk peneliti yang ingin mengamati manfaat VCO.



Dr. Hj. Suryani, MSI, dilahirkan di Padang pada Tanggal 27 Mei 1965. Anak dari Ibu Hj. Ramadanis dan Ayah Drs. H. a. Pasni Sata (Alm). Menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasar di SD YAPI Padang tahun 1978, Sekolah Menengah Pertama di SMP Negeri 1 Padang, tahun 1981, Sekolah Menengah Atas di SMA Negeri 2 Padang, tahun 1984, lalu melanjutkan kuliah di Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas yang diselesaikan tahun 1989, dan menamatkan S2 di Institut Teknologi Bandung jurusan Kimia/Biokimia/Bioteknologi tahun 1992- 1994, selanjutnya S3 Kimia/Biokimia tahun 2010 – 2014 di Universitas Andalas.



**“Telah Terbit”
Pemesanan Hubungi:
081261885902**

ISBN : 978-623-934 71-1-6



Alamat Kantor:

Jalan Pasir Kandang No. 4 Koto Tengah, Telp (0751) 4851002, Padang KP 25172.



umsb.ac.id



[@umsbpress](https://www.instagram.com/umsbpress)



[UMSB_Press](https://www.facebook.com/UMSB_Press)



umsbpress30@gmail.com