

LAPORAN TAHUNAN (I) Tahun 2016
HIBAH FUNDAMENTAL



**PENGEMBANGAN ANALISA ANTIMIKROBA BAKTERI
ASAMKTAT YANG ADA PADA PROSES FERMENTASI
SANTAN KELAPA MENJADI VCO (Virgin Coconut Oil)
TERHADAP BAKTERI PADA INFEKSI TELINGA
Chronic Suppurativ Otitis Media**

Tahun ke 1 dari rencana 2 tahun

Ketua: Dr.Suryani,MSi NIDN 0027056501
Anggota: Dr. Zulmardi,MSi NIDN 0024036801

Universitas Muhammadiyah Sumatera Barat
September 2016

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : PENGEMBANGAN ANALISA ANTIMIKROBA
BAKTERI ASAM LAKTAT YANG ADA PADA
PROSES FERMENTASI SANTAN KELAPA MENJADI
VCO (Virgin Coconut Oil) TERHADAP BAKTERI
PADA INFEKSI TELINGA Chronic suppurative otitis
media

Peneliti/Pelaksana

Nama Lengkap : Dr. Dra SURYANI M.Si
Perguruan Tinggi : Universitas Muhammadiyah Sumatera Barat
NIDN : 0027056501
Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
Program Studi : Kebidanan
Nomor HP : 081275180200
Alamat surel (e-mail) : suryanimdiah@yahoo.com

Anggota (1)

Nama Lengkap : Drs ZULMARDI M.Si
NIDN : 0024036801
Perguruan Tinggi : Universitas Muhammadiyah Sumatera Barat
Institusi Mitra (jika ada) :
Nama Institusi Mitra :
Alamat :
Penanggung Jawab :
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 1 dari rencana 2 tahun
Biaya Tahun Berjalan : Rp 50.000.000,00
Biaya Keseluruhan : Rp 146.900.000,00



Mengetahui,
DEKAN

Padang, 16 - 11 - 2016
Ketua,

(Drs. GUSMAIZAL SYANDRY, M.Pd)
NIP/NIK 196708161995121001

(Dr. Dra SURYANI M.Si)
NIP/NIK 196505271991032002

Menyetujui,
Ketua Lembaga Penelitian

(Dr. Wedy Nasrul, M.Si)
NIP/NIK 072021189

RINGKASAN PENELITIAN

Tujuan jangka panjang penelitian ini adalah pengembangan dari analisa antimikroba Bakteri Asam Laktat (BAL) pada proses fermentasi santan kelapa menjadi Virgin Coconut Oil (VCO), yang diharapkan mampu berfungsi sebagai antimikroba /antibakteri dari bakteri yang ada pada infeksi telinga *Chronic suppurative otitis media*. Karena menurut (Suryani, Dharma et al. 2014), isolat BAL tersebut mampu berfungsi sebagai antibakteri terhadap 5 bakteri uji (*E.coli* NBRC14237, *Staphylococcus aureus* NBRC 13276, *Bacillus subtilis* BTCCB, *Salmonella thypii*, dan *Listeria monocytogenes*). Untuk mendapatkan informasi tersebut maka target khusus pada tahun pertama (2016) terdiri dari 3 tahapan 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, tahap (3). Mengidentifikasi dan analisa isolat bakteri secara molekular dengan metoda PCR (16S rRNA). 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*. Pasien OMSK yang diambil sekretnya 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 molekular dengan PCR dan telah didapatkan urutan DNA dari 5 bakteri patogen yang didapatkan dari sekret pasien OMSK.

Kata Kunci: Isolasi bakteri patogen, sekret pasien OMSK, *Chronic suppurative otitis media*, Virgin Coconut Oil (VCO).

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah kita panjatkan puji syukur ke hadirat Allah yang Maha Kuasa, yang telah memberikan kekuatan dan kesehatan untuk dapat menyelesaikan Laporan Akhir Tahunan dari penelitian yang 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. Salawat beriring salam Allahumma shalli ‘ala Muhammad kita ucapkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW, semoga kita diakui sebagai pengikut beliau. Aamiin.....

Pengerjaan penelitian dan pembuatan laporan akhir tahunan ini tidak akan ada tanpa bantuan dari berbagai pihak untuk itu, terimakasih yang sedalam dalamnya diucapkan pada :

1. Dikti dalam hal ini DRPM yang telah mendanai penelitian ini.
2. Ketua LPPM Universitas Muhammadiyah Sumatera Barat 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. Tim Etika clearance Fakultas Kedokteran UNAND.
5. Kepala Labor Sentral RSUP Dr. M. Jamil Padang.
6. Staf Laboran Labor Labor Sentral RSUP Dr. M. Jamil Padang.
7. Dr. Yan Edward, SpTHT KL yang banyak membantu sebagai Pembimbing lapangan di RSUP M. Jamil Padang.
8. Kepala Labor Dasar Kopertis Wilayah X Sumbar, Riau, Jambi dan Kepri.
9. Staf Laboran Kopertis x.

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

Peneliti

Suryani

NIDN: 0027056501

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	
HALAMAN PENGESAHAN	
RINGKASAN	
KATA PENGANTAR	
DAFTAR ISI	
DAFTAR TABEL	
DAFTAR GAMBAR	
DAFTAR LAMPIRAN	
BAB 1. PENDAHULUAN	1
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	10
BAB 4. METODE PENELITIAN	12
BAB 5. HASIL DAN LUARAN YANG TELAH DICAPAI	15
BAB 6. RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA	24
BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN	26
DAFTAR PUSTAKA	27
LAMPIRAN	
- Instrumen	
- personalia tenaga peneliti beserta kualifikasinya	
- HKI dan Publikasi	



DAFTAR TABEL

	HALAMAN
Tabel 1. Sebaran data pasien yang diambil sekretnya	15
Tabel 2. Data Uji Morfologis	18
Tabel 3. Analisis Morfologis	19

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1	Sampel yang ditanam pada media Blood Agar	16
Gambar 2a.	Sampel pada Blood Agar berupa bakteri	16
Gambar 2b	Sampel pada Blood Agar berupa Jamur	16
Gambar 3.	Hasil Uji Gram untuk bakteri dan jamur	17
Gambar 4.	Hasil elektroforesis	20

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data penderita OMSK	30
Lampiran 2. Hasil Identifikasi bakteri patogen	33
Lampiran 3. Pengelompokan bakteri patogen	36
Lampiran 4. Personalia Tenaga pelaksana penelitian	37
Lampiran 5 . Artikel Nasional	
Lampiran 5 . Artikel pada pemakalah Seminar Internasional	



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 patalogen dan tidak berbahaya untuk bakteri non patalogen (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 patalogen 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 dicairan telinga 80 sampel penderita Otitis Media Supuratif Akut yang dianalisa, terdapat beberapa bakteri patogen yaitu *Staphilococcus aureus*, *Pseudomonas sp*, *Escherichia coli*, dan *Klebsiella sp*. Ternyata bakteri patogen 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 Suppuratif Akut . Dan belum ada juga laporan mengenai alternatif penanggulangannya dengan menggunakan Virgin Coconut Oil sebagai antibakteri atau antibiotik alami.

Berdasarkan uraian diatas maka perlu dilakukan penelitian yang berjudul “Pengembangan Analisa Antimikroba Bakteri Asam Laktat yang terdapat Pada Proses Fermentasi Santan Kelapa Menjadi VCO (Virgin Coconut Oil) Terhadap Bakteri yang terdapat pada Infeksi Telinga *Chronic suppurative otitis media* . Bila bakteri patogen yang terdapat pada cairan telinga penderita Otitis Media Suppuratif bisa dihambat pertumbuhannya oleh isolat Bakteri Asam Laktat yang ada pada lapisan minyak Virgin Coconut Oil (VCO) maka VCO dapat dijadikan sebagai antibiotik alami untuk penderita Otitis Media Suppuratif, dan dapat mencegah terjadinya komplikasi penyakit ini, sehingga akan mengurangi akibat yang berbahaya yaitu kematian.

1.2 Permasalahan yang akan diteliti / Identifikasi Masalah untuk tahun I

- 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 Khusus

Pada tahun pertama (2016) 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.

Pada Tahun ke dua (2017) tujuan khusus penelitian ini terdiri dari 3(tiga) tahapan yaitu:

- 1) Mengkarakterisasi isolat bakteri yang berasal dari cairan telinga penderita *Chronic suppurative otitis media* dengan melakukan uji terhadap temperatur, pH, enzim, % NaCl dan logam bivalen.
- 2) Melakukan packaging isolat dalam bentuk serbuk yang dikapsulasi.
- 3) Melakukan Analisa antimikroba/antibakteri BAL pada proses fermentasi santan kelapa menjadi (VCO) terhadap bakteri uji (isolat bakteri patogen yang terdapat pada cairan telinga penderita *Chronic suppurative otitis media*).

1.4 Keutamaan Penelitian (Urgensi)

Keutamaan penelitian ini adalah untuk pengembangan analisa antimikroba 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*, diharapkan BAL pada VCO juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen yang ada pada cairan telinga penderita Otitis Media Supuratif Kronis.

Disamping itu juga untuk kemaslahatan masyarakat banyak, yaitu ada 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, seperti yang dilaporkan oleh (R Shyamala 2012). 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) penyakit ini banyak ditemukan di India, Nepal, Taiwan dan Indonesia yang 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) 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.

1.5 Temuan inovasi yang di targetkan dan telah tercapai.

Pada tahun pertama hasil temuan inovasi yang telah tercapai adalah :

1. Diperoleh **196** Isolat bakteri patogen dari cairan telinga **126** penderita Otitis Media Suppuratif Kronis di Sumatera Barat. Untuk menambah khazanah pengembangan ilmu pengetahuan dibidang bioteknologi kedokteran.
2. Dihasilkan isolat bakteri patogen yang terdapat pada penderita Otitis Media Suppuratif Kronis yang telah diketahui klasifikasinya melalui **identifikasi secara morfologi, fisiologi dan uji biokimia.**
3. Ditemukan urutan DNA isolat bakteri patalogen yang terdapat pada penderita Otitis Media Suppuratif Kronis .
4. Dihasilkan artikel ilmiah yang sudah dipublikasi pada jurnal ilmiah nasional yaitu Jurnal KATALISATOR yang sudah mempunyai indek DOI dan Gogle scholar , mempunyai No ISSN. (Terlampir)
5. Telah diseminarkan pada Seminar Internasional yaitu **The First International Conference 17-19 November 2016.**(Prosiding terlampir)
6. Telah di submit pada Jurnal Internasional “ Chemical Health and Savety “ Elsvier (draft terlampir)..
7. Telah ada draf Buku Ajar mata kuliah “ Mikrobiologi Dasar “ yang akan dipakai oleh mahasiswa Kebidanan Universitas Muhammadiyah Sumatera Barat.

Pada tahun kedua hasil temuan inovasi yang ditargetkan adalah :

1. **Dapat** diperoleh pengelompokan isolat bakteri patalogen berdasarkan karakterisasinya.
2. Dapat diperoleh hasil analisa antimikroba dari Bakteri Asam Laktat (BAL) yang ada pada lapisan miyak Virgin Coconut Oil (VCO) terhadap bakteri patalogen pada cairan telinga penderita Otitis Medoa Suppuratif Kronis yang digunakan sebagai bakteri uji.

3. Dapat diperoleh isolat bakteri pttogen yang ada pada cairan telinga penderita Otitis Media Suppuratif Kronis yang sudah dalam bentuk serbuk dalam kapsul. Untuk selanjutnya dapat disimpan dalam waktu yang lama guna keperluan penelitian selanjutnya.
4. Dihasilkan artikel ilmiah yang dapat dipublikasi pada jurnal ilmiah terakreditasi baik nasional maupun internasional
5. Bahan untuk pengkayaan buku ajar sesuai mata kuliah yang diampu.
6. Hasil penelitian dapat diseminarkan pada Seminar Internasional .
7. Diharapkan dapat diproses HAKI nya.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. 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 mikroianya. (Suryani, Dharma et al. 2014) sudah mengidentifikasi mikroianya yang memperoleh 5 kelompok spesies yaitu *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus thermobacterium*, *Corineaebacterium bovis*, *Corineaebacterium xerosis*, dan *Microoccus luteus*. Urutan gen dari isolat sudah di daftarkan 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).

2.2. 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, H₂ O₂ 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 anearob fakultatif. BAL pada umumnya adalah bakteri yang aman dikonsumsi (*food grade microorganism*) 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 patogen dan diakui sebagai bakteri yang berstatus safe yaitu aman untuk dikonsumsi. 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 subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocitogenes*

Salmonella typhiphosa 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.

2.3. 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 bahwa dari 73 penderita yang diteliti dengan rentang usia dari 9 sampai 84 tahun terdapat anak-anak dengan umur 9 sampai 15 tahun sebanyak 17 orang yaitu 24 %.

Telah dilaporkan oleh (Shrestha 2011) (Yaor & Jafari 2006) dari penderita Otitis Media Suppurativ Kronis telah diambil cairan telinganya dan diisolasi bakteri pattogen nya , ternyata ada beberapa bakteri pattogen yang ditemukan seperti *Staphylococcus aureus* (36%), spesies *Proteus* (32%), *Pseudomonas aeruginosa* (24%), juga telah dianalisa kesensitifannya terhadap beberapa antibiotik dan ternyata ada yang telah resisten atau sudah tidak mempan lagi dengan antibiotik berikut: 89 % resisten terhadap ciprofloxacin, 76,5 % gentamisin, dan 59,3 % kloramfenikol

2.4. Studi Pendahuluan yang telah dilaksanakan

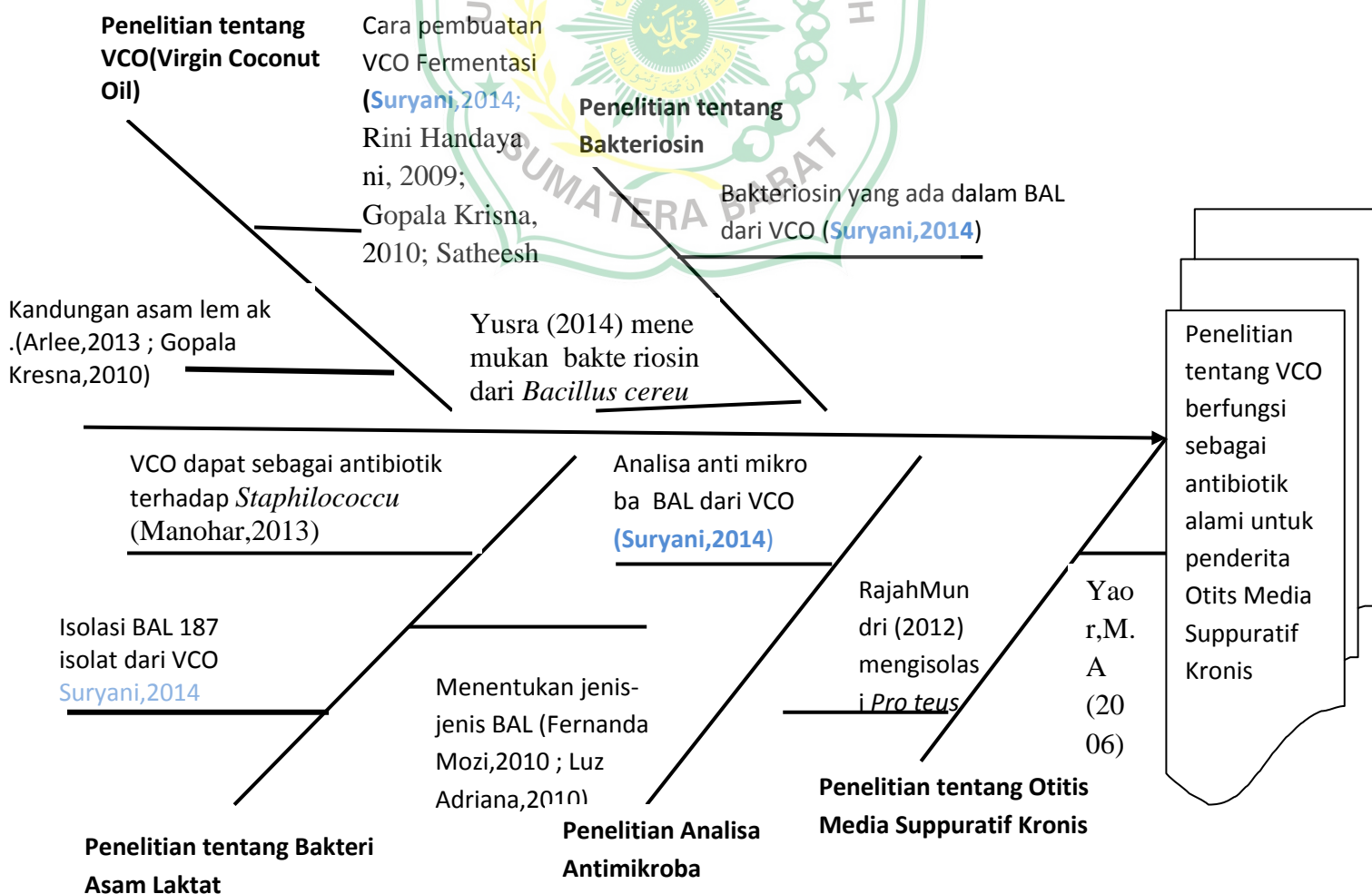
Telah dilakukan Isolasi Bakteri asam Laktat((BAL) oleh (Suryani, Dharma et al. 2014) yang ada pada lapisan minyak Virgin Coconut Oil (VCO) dan didapatkan sebanyak 187 isolat bakteri asam laktat (BAL) termasuk ke dalam 5 kelompok spesies yaitu *Lactobacillus plantarum* , *Lactobacillus thermobacterium*, *Corineaebacterium bovis*, *Corineaebacterium xerosis*, dan *Microccus luteus*. Urutan gen dari isolat sudah di daftarkan di DDBJ (Data DNA Bank Jepang) dengan nomor pendaftaran (*acession number*) AB890143,. Isolat BAL yang di dapat mempunyai kemampuan antimikroba/antibakteri terhadap 5 bakteri uji yaitu *Escherichia coli*, *Bacillus substilis*, *Staphilococcus aureus*,

Listeria monocitogenes Salmonella typhiphosa dan kemampuan anti jamur terhadap 3 jamur patogen yaitu *Candida sp, Aspergillus niger, Rhizopus sp* . Dari isolat BAL itu dapat diisolasi bakteriosin nya dengan karakteristik berikut: dapat menghambat pertumbuhan bakteri oleh pattogen dalam range pH yang panjang yaitu dari pH 2 – pH 9 mempunyai aktifitas pada temperatur -20⁰ C , 4⁰ C sampai 121⁰ C dan dari hasil SDS – PAGE, berat molekulnya diperkirakan 3,5 kD.(Suryani 2016)

Telah pula diisolasi oleh (R Shyamala 2012) dan (Prakash Adikari 2009), (Pradesh 2012) bakteri pattogen yang terdapat pada cairan telinga 150 penderita Otitis Media dan memperoleh 192 isolat bakteri yang terdiridari *Staphylococcus aureus* (36%), *spesies Proteus* (32%), *Pseudomonas aeruginosa* (24%) dan telah menguji kesensitifan beberapa antibiotik ternyata 89% resisten terhadap ciprofloxacin, gentamisin (76,5%) dan kloramfenikol (59,3%).

VCO berguna dalam bidang kesehatan sebagai antibakteri yang bisa menghambat pertumbuhan mikroba *Staphilococcus* seperti yang dilaporkan oleh (Manohar et al. 2013)

2.5. Peta jalan penelitian (Road Map)



BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1. Tujuan Penelitian

Pada tahun pertama (2016) 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.

Pada Tahun ke dua (2017) tujuan khusus penelitian ini terdiri dari 3(tiga) tahapan yaitu:

- 1) Mengkarakterisasi isolat bakteri yang berasal dari cairan telinga penderita *Chronic suppurative otitis media* dengan melakukan uji terhadap temperatur, pH, enzim, % NaCl dan logam bivalen.
- 2) Melakukan packaging isolat dalam bentuk serbuk yang dikapsulasi.
- 3) Melakukan Analisa antimikroba/antibakteri BAL pada proses fermentasi santan kelapa menjadi (VCO) terhadap bakteri uji (isolat bakteri patalogen yang terdapat pada cairan telinga penderita *Chronic suppurative otitis media*).

3.2. Manfaat Penelitian

Untuk kemaslahatan masyarakat banyak, yaitu ada 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, seperti yang dilaporkan oleh (R Shyamala 2012). 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 (Pradesh 2012) penyakit ini banyak ditemukan di India, Nepal, Taiwan dan Indonesia yang termasuk negara yang sedang berkembang.

Dari beberapa penelitian yang dilakukan antara lain (Mansoor et al. 2009), (Alabbasi et al. 2010) dan (R Shyamala 2012) penyembuhan terhadap penderita Otitis Media Suppuratif

Kronis, selama ini menggunakan antibiotik, tapi ada beberapa yang sudah mengalami resistensi (Shrestha 2011), (Ramakrishnan et al. 2007). 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 4. METODE PENELITIAN

4.1. Waktu dan tempat Penelitian.

Penelitian **Tahun Pertama** 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.

4.2. 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 Akhmad Mukhtar Bukittinggi

semua dirujuk ke RSUP Dr.M. Jamil Padang

4. 3. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian **Tahun Pertama** ini adalah cairan telinga 60 orang penderita Otits 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 polisorbat 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

4.4. Metoda

Penelitian **Tahun Pertama** 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.**

4.4.1. 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.

4.4.2. 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.

4.4.3. 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 ampikon tersebut dibaca dengan menggunakan 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 5. HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI.

5.1. HASIL

Hasil yang dicapai adalah sebagai berikut:

5.1.1. Sampel

Sampel dari penelitian ini adalah cairan telinga dari 96 orang penderita OMSK yang berasal dari beberapa Rumah Sakit yang ada di Sumatera Barat dan termasuk Rumah Sakit Umum Pusat (RSUP) M. Jamil Padang, serta ada beberapa sampel yang berasal dari penderita yang tidak ke rumah sakit seperti yang dipaparkan pada Tabel 5.1 (Lampiran 1).

Data pasien bila kita kelompokkan menurut umur dan jenis kelamin maka dapat dilihat seperti pada Tabel 1. berikut:

Tabel 1. Sebaran data pasien yang diambil sekret nya sebagai sampel.

No.	Pasien	Jumlah	%
1.	Anak-anak (dibawah 20 tahun)	59	61,4
2.	Dewasa	37	38,54
3.	Laki-laki	62	64,5
4.	Perempuan	34	35,5

Dari Tabel 1 dapat dilihat bahwa pasien OMSK yang diteliti ternyata anak-anak sebanyak 61,4 % dan dewasa 38,54 % sesuai juga dengan yang dilaporkan oleh (Yaor & Jafari 2006) penderita Otitis Media Suppuratif ini mulai dari anak-anak sampai dengan orang dewasa, melaporkan bahwa dari 73 penderita yang diteliti dengan rentang usia dari 9 sampai 84 tahun terdapat anak-anak dengan umur 9 sampai 15 tahun sebanyak 17 orang yaitu 24 %. Bila diperhatikan laporan yang dikemukakan oleh (Bl et al. 2010), bawa penderita OMSK dimulai dari anak-anak, yang jumlahnya lebih dari 40 %, karena OMSK ini dapat disebabkan oleh kurangnya kebersihan, sehingga mudah terinfeksi oleh bakteri. Berbeda sekali dengan data yang dikemukakan oleh (Moorthy et al. 2013) bahwa yang mengalami OMSK ini 70 % adalah anak-anak yang berumur 0-20 tahun. Dari Tabel 1 juga dapat dilihat bahwa penderita OMSK lebih banyak laki-laki yaitu 64,5 % dibanding perempuan.

5.1.2 . Isolasi bakteri pattogen dari sekret penderita OMSK

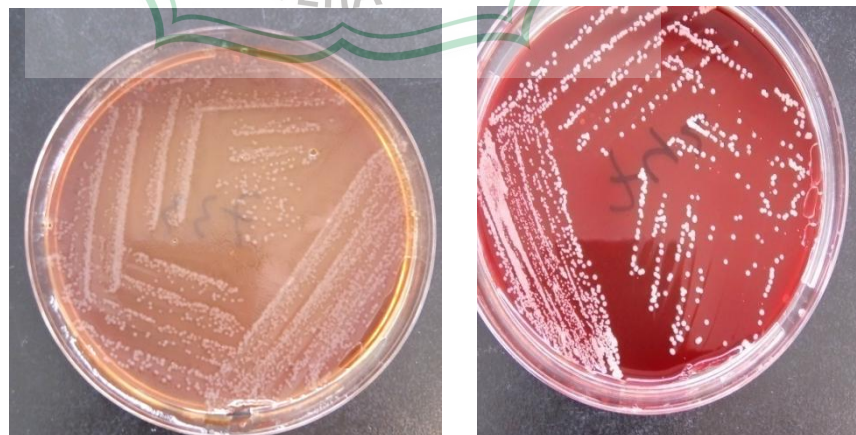
Dari 96 sampel pasien OMSK di isolasi bakteri pattogen nya dengan menggunakan media Blood Agar, lalu tumbuh beberapa koloni, diusahakan koloni nya adalah koloni tunggal . Kalau masih belum dalam bentuk koloni tunggal maka ditanam lagi pada media Blood Agar sampai didapatkan koloni tunggal. Sehingga pada umumnya untuk setiap pasien didapatkan satu jenis bakteri patogen nya, tetapi ada juga yang satu sekret dapat diisolasi lebih dari satu jenis isolat. Sehingga pada penelitian ini dari 96 sekret pasien dihasilkan 126 isolat bakteri dan jamur patogen

Sampel ditanam di media agar darah atau Blood Agar, seperti yang dapat dilihat pada Gambar 1 berikut:



Gambar 1. sampel yang ditanam pada media Blood Agar

Setelah ditanam sampel diinkubasi semalam maka akan tumbuh bakteri dan ada yang berupa jamur seperti Gambar 2 a. berikut:



Gambar 2 a . Sampel yang ditanam pada media Blood Agar sudah nampak tumbuh koloni-koloni nya berupa bakteri.



Gambar 2b. Koloni yang tumbuh berupa jamur.

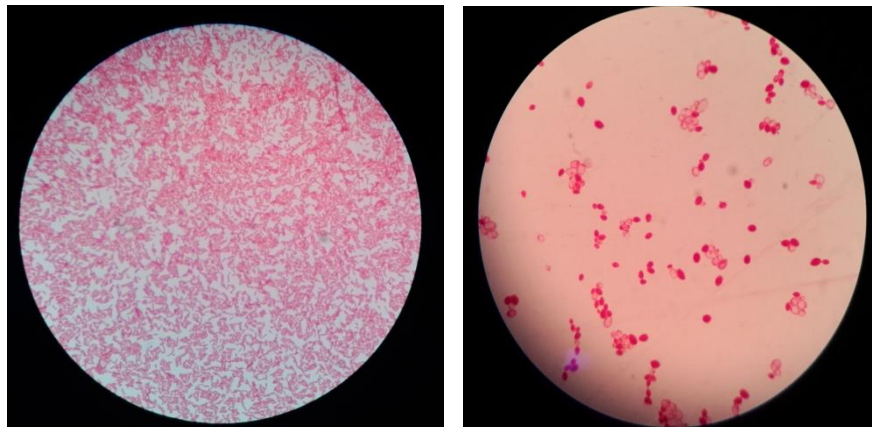
Yang diambil adalah koloni yang tunggal, kalau rapat sekali tumbuh koloninya, maka diulangi lagi menanam dengan mengencerkan lebih encer lagi atau kalau tidak tumbuh maka di gores atau ditanam lagi di media Blood agar, tetapi sampel terlebih dahulu sudah ditumbuhkan dalam Tioglikolat sebagai media pengkayaan. Data yang diamati dapat dilihat seperti Gambar 2 b. diatas.

5.1.3. Identifikasi Bakteri Patogen sekret.

Tahapan Identifikasi bakteri pattogen sekret secara konvensional adalah dengan

1) Uji Gram

Lalu diuji gram untuk menentukan gram positif atau garam negatif, yang salah satu fotonya dapat dilihat seperti pada Bambar 3 berikut:



Gambar 3. hasil uji gram untuk bakteri dan jamur.

2) Uji morfologis

Dari uji morfologis didapatkan data seperti tabel 2. berikut:

Tabel 2. Data Uji Morfologis

Ciri-ciri morfologis	Jenis bakteri/Jamur patogen
<ul style="list-style-type: none"> -Koloni putih abu-abu -Bentuk keping -Ukuran sedang 6-15 mm -Permukaan kasar -Membentuk pigmen hijau /menghemodigesti -Berbau obat nyamuk 	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
<ul style="list-style-type: none"> -Koloni bulat -Ukuran sedang agak cembung -Menyebar -Berbau ikan asin -Berflagel 	<i>Proteus mirabilis</i>
<ul style="list-style-type: none"> -Koloni bulat -Ukuran besar -cembung -Mukoid -Mengkilat _Pinggiran smooth dan rata 	<i>Klebsiela sp</i>
<ul style="list-style-type: none"> -Koloni bulat -Agak cembung -Pinggir rata -Kuning keputihan Ukuran 2-5 mm 	<i>Staphilococcus aureus</i>
<ul style="list-style-type: none"> -Koloni bulat -Agak cembung -Pinggir rata -Putih agak kecil 	<i>Staphilococcus epidermidis</i>



Untuk identifikasi Jamur, pada saat isolasi diamati ternyata ada koloni yang terdapat hypha nya, kemudian dilanjutkan dengan uji pewarnaan Gram yang hasilnya + (positif) pseudo hypha jamur. Kemudian sampel ditanam pada media agar darah dan Saboroud agar dimana pada media agar darah koloni tidak tumbuh tapi pada media Saboroud agar koloni tumbuh berbentuk bulat putih agak mukoid. Dapat dilihat pada Tabel 3 berikut:

Tabel 3. Analisa Morfologis Jamur dari isolat sekret OMSK.

Ciri-ciri	Jenis isolat	Jumlah isolat
- Gram + (positif) - pseudohypha + - media agar darah (Tidak tumbuh) - media Saboroud (tumbuh) Koloni bulat putih agak mukoid	Candida sp	6 (4,7%)

Uji Biokimia

Dari pengerjaan uji biokimia isolat yaitu uji katalase, uji koagulase dan uji Novobiocin maka didapatkan data seperti yang ada pada Tabel 4 berikut:

Tabel 4. Hasil Uji Biokimia isolat bakteri patogen

Macam Uji	Hasil	Jumlah Isolat	Jenis Isolat
TSIA	K/K	74	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
Gas	+		
H ₂ S	-		
SC	+		
Sulfur	+		
Indol	-		
Motil	+		
TSIA	K/A	21	<i>Proteus mirabilis</i>
Gas	+		
H ₂ S	+		
SC	+		
Sulfur	+		
Indol	-		
Motil	+		
TSIA	A/A	7	<i>Klebsiella</i>
Gas	+		
H ₂ S	-		
SC	+		
Sulfur	-		
Indol	-		
Motil	-		
Katalase	+	14	<i>Staphylococcus aureus</i>
Gas	+		
Koagulase	+		
Novobiocin	Sensitif		
Katalase	+		
Gas	+		

Koagulase -
Novobiocin Sensitif

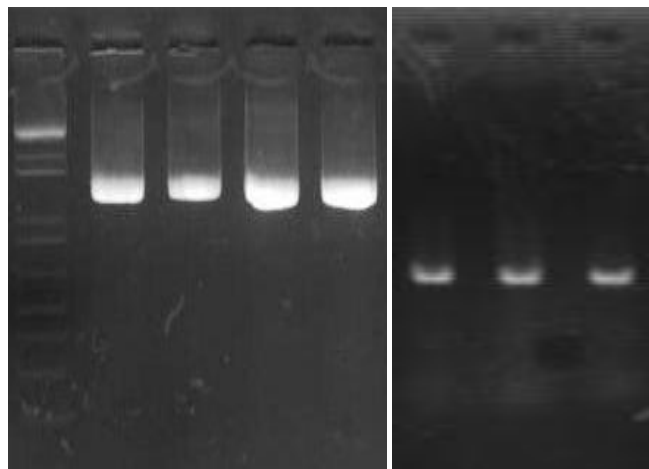
4

Staphylococcus epidermidis

Dari hasil identifikasi morfologis yang ada pada Tabel 2, Tabel 3 dan Tabel 4, dapat dilihat bentuk koloni, warna koloni dan ukuran koloni dari masing-masing isolat, serta uji Gram nya, maka didapat jenis bakteri patogen yang ada pada sekret penderita OMSK yang ada di Rumah Sakit “X” adalah *Pseudomonas aureginosa* (58,7%), *Staphilococcus aureus* (11 %), *Staphilococcus epidermidis* (3%), *Proteus mirabilis* (16,6 %), *Klebsiela sp* (5%) dan 1 jamur *Candida sp* (4,7%). Data ini didukung pula oleh hasil analisa Uji biokimia dari masing-masing isolat seperti uji Katalase, Koagulase, terbentuknya gas dan uji Novobiocin seperti yang dipaparkan pada Tabel 4. Hal ini juga sudah dilaporkan oleh beberapa ahli, tetapi terdapat beberapa perbedaan jenis bakteri dan jamur patogen yang ada pada sekret penderita OMSK. Seperti yang dikemukakan (Shrestha 2011) bahwa jenis bakteri patogen dan jamur patogen pada OMSK adalah *Staphylococcus aureus* 32,2%, *Streptococcus pnemoni* 6,1 %, *Pseudomonas aureginosa* 26,9 %, *Klebsiella sp* 10,4 %, *Proteus mirabilis* 6,9 %, *E.coli* 6,9%, jamur *Aspergillus sp* 6,9 % *Candida sp* 2,6 %.

Identifikasi Makromolekul dengan menggunakan PCR.

Identifikasi makromolekular didahului oleh isolasi DNA bakterinya, yang dianalisa dengan elektroforesis yang foto hasil running gel elektroforesis nya adalah seperti yang ada pada Gambar 4 berikut



Gambar 4. Hasil elektroforesis

Berikut adalah urutan DNA bakteri yang sudah diidentifikasi secara molekular, seperti berikut:

>CONTIQ_KOP 32_1440bp_ *Pseudomonas aureginosa* _100%

AGGCCTAACACATGCAAAGTCGAGCGGGATGAAGGGAGCTTGCTCCTGGATTGATCAGTCA
CACTGGAACAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGTCAGCGGGACGGGTGAGT
AATGCCTAGGAATCTGCCTGGTAGTGGGGGAGGGGATCTTCGGACCTCACGCTATCAGATGA
GCCTAGGTCGGATTAGCTAGTACAGTGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCA
GCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAGCACTTTAAGTTGGGAGGAAGG
GCAGTAAGTTAATACCTTGCTGTTTTGACGTTACCAACAGAATAAGCACCGGCTAACTTCGT
GCCAGCAGCCGCGTAATACGAAGGGTGAAGCGTTAATCGGATGGTGGGGTAAAGGCCTA
CCAAGGCGACGATCCGTAACCTGGTCTGAGAGGATTACTGGGCGTAAAGCGCGCTAGGTGG
TTCAGCAAGTTGGATGTGAAATCCCCGGGCTAACCTGGGAACTGCATCCAAAACACTACTGAG
CTAGAGTACGGTAGAGGGTGGTGGAAATTCCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGA
AGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACCACCTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGT
GGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGTGACTAGCCGT
TGGGATCCTTGAGATCTTAGTGGCGCAGCTAACGCGCGAAGAACCTTACCTGGCCTTGACAT
GCTGAGAACTTCCAGAGATGGATCGATAAGTCGACCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGT
TAAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTTCGAA
GCAA

>Contig0_KOP 31_1440bp_ *Staphylococcus aureus* _99%

CCTGGAAACAGATGCTAATACCGCATAACAACCTGGACCGCATGGTCCGAGTTTGAAAGATG
GCTTCGGCTATCACTTTTGGATGGTCCCAGCGCTATTAGCTAGATGGTGAGGTAACGGCTCA
CCATGGCAATGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGG
CCCAAACCTCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAG
CAACGCCGCGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAACCTCTGTTGTTAAAGAAGAACATA
TCTGAGAGTAACTGTTTCAGGTATTGACGGTATTTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCC
AGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCG
CAGGCGGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATCGGAAACT
GGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATA
TATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCTCGAAA
GTATGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATACCGTAAACGATGAATGCTAAG
TGTTGGAGGGTTTCCGCCCTCAGTGTGCTGACGCTAACGCATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTA
CGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTG
GTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGA
TTAGACGTTCCCTTCGGGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGCTG
AGATGTTGGGTAAAGTCCCGAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAAAGTTGG
GCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCAT
GCCCCTTATGACCTGGGCTACACAGTGTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCG
AGAGTAAGCTAATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATG
AAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTA
CACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTGTAAACCCAAAGTCGGTGGGGTAACTTTTAGGA

>CONTIQ_KOP 46_ 1540bp_ *Klebsiella*_100%

TGATTGGTGCTTGCATCATGATTTACATTTGAGTGAGTGGCGAACTGGTGAAGTAACACGTGGGAA
ACCTGCCCAGAAGCGGGGGATAACACCTGGAAACAGATGCTAATACCGCATAACAACCTGGACC
GCATGGTCCGAGCTTGAAGATGGCTTCGGCTATCACTTTTGGATGGTCCCAGCGCGTATTAGCT
AGATGGTGGGGTAACGGCTCACCATGGCAATGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCA
CATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACCTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTCCACAATGG
ACGAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAACTCTGTTG
TTAAAGAAGAACATATCTGAGAGTAACTGTTCAAGTATTGACGGTATTTAACAGAAAGCCACG
GCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCG
TAAAGCGAGCGCAGCGGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGC
GTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGATT
AGACGTTCCCTTCGGGGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGAT
GTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAAAGTTGGGCACTC
TGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTA
TGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAAGC
TAATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTCGGAATC
GCTAGTAATCGGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTC
ACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGTC

>CONTIQ_A5_1430bp_ *Staphylococcus epidermidis*_100%

ACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTGAACGAACTCTGGTATTGATTGGTGCTTGCATCATG
ATTTACATTTGAGTGAGTGGCGAACTGGTGAAGTAACACGTGGGAAACCTGCCAGAAGCGGGGGAT
AACACCTGGAAAACAGATGCTAATACCGCATAACAACCTGGACCAGCATGGTCCGAGCTTGAAGATG
GCTTCGGCTATCACTTTTGGATGGTCCCAGCGCGTATTAGCTAGATGGTGGGGTAACGGCTCACCAT
GGCAATGATACGTAAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACCT
CCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTCCACAATGGACGAAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTG
AGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAACTCTGTTGTTAAAGAAGAACATATCTGAGAGTAACTGTTT
AGGTATTGACGGTATTTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAG
GTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCTAAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTTTTAAGTCTGATGTGA
AAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATCGGAACTGGGAACTTGAAGTGCAGAAGAGGACAGTG
GAACTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTC
TGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCTCGAAAGTATGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCC
ATACCGTAAACGATGAATGCTAAGTGTGGAGGGTTTCGCCCTTCAGTGTGCAGCTAACGCATTA
AGCATTCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGCCCGCACAA
GCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATACTATGCA
AATCTAAGAGATTAGACGTTCCCTTCGGGGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCG
TGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAAAGT
GGGCACTCTGGTGAAGTACCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGC
CCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTA

>CONTIQ_M16.16.2_1422bp_ *Proteus mirabilis*_99%

```
GTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCGGGAACGTATTCACCGGGCATGCTGATCCGCGATTACTA
GCGATTCCGACTTCATGTAGGGCAGTTGCAGCCTACAATCCGAACTGAGAATGGCTTTAAGAGATT
AGCTTACTCTCGCGAGTTCGCAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCAT
AAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGTTTGTACCCGGCAGTCTCACCAGAG
TGCCCAACTTAATGCTGGCAACTGATAATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCT
CACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTATCCATGTCGCCGAAGGGAACGTCTAATC
TCTTAGATTTGCATAGTATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTAGCTTCGAATTAACCACAT
GCTCCACCCTTGTGCGGGCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAGCCTTGCGGCCGTACTCCCCAGG
CGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTGAAGGGCGGAAACCCTCCAACACTTAGCATTATCG
TTTACGGTATGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGTACCCATACTTTTCGAGCCTCAGCGTACG
TTACAGACCAGACAGCCGCTTCGCCACTGGTGTCTTCCATATATCTACGCATTTACCGCTACAC
ATGGAGTTCCACTGTCTTCTGCACTCAAGTTTCCAGTTTCCGATGCACTTCTTCGGTTGAGCC
GAAGGCTTTCACATCAGACTTAAAAAACCGCTGCGCTCGTTTACGCCCAATAAAATCCGGACAAC
GCTTGCCACCTACGTATTACCGACCATCCAAAAGTGATAGCCGAAGCCATCTTCAAGCTCGGACC
ATGCGGTCCAAGTTGTTATGCGGTATTAGCATCTGTTTCCAGGTGTTATCCCCGCTTCTGGGCAGG
TTTCCCACGTGTTACTCACCAGTTCGCCACTCACTCAAATGTAAATCATGATGCAAGCACAATCA
ATACCAGAGTTCGTT
```

5.2. LUARAN YANG DICAPAI

Dengan adanya penelitian ini ada beberapa luaran yang dicapai diantaranya adalah:

1. Artikel ilmiah nasional yang terindeks DOI, Google Scholar, dan ber ISSN serta sudah dalam bentuk OJS, yaitu “Jurnal KATALISATOR” dengan Judul “**Isolasi Bakteri patogen pada pasien penderita Infeksi Telinga Chronic Suppurative Otitis Media (OMSK)**”.
2. Sebagai pemakalah pada Seminar Internasional yaitu THE FIRST INTERNATIONAL CONFERENCE TECHNOLOGY ON BIOSCIENCES AND SOCIAL SCIENCES UNIVERSITY OF ANDALAS dengan judul “**DEVELOPMENT OF ANTIMICROBIAL ANALYSIS OF LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM VCO (Virgin Coconut Oil) FERMENTATION PROCESS AGAINST BACTERIA IN THE SECRETION OF CSOM (Chronic Suppurative Otitis Media) PATIENT**”. Tanggal 17-18 November 2016.
3. Artikel ilmiah internasional terindeks Scopus yaitu Journal of Chemical Health & Safety, Elsevier **baru submit**, dengan judul “Isolation and identification of Pathogenic Bacteria Secretions of Chronic Suppurative Media Patiens.
4. Draf Buku ajar “Dasar – Dasar Mikrobiologi untuk kesehatan “

BAB 6. RENCANA TAHUN BERIKUTNYA

Penelitian ini adalah penelitian multi tahun yang baru selesai untuk tahun pertama, sehingga masih banyak yang harus dikerjakan pada tahun berikutnya yaitu tahun kedua. Adapun rencana pada tahun kedua (tahun berikutnya) seperti berikut:

Pada Tahun Kedua.

3.3.4. Karakterisasi Bakteri Patogen pada cairan telinga.

a. Pengaruh pH .

Dari beberapa bakteri asam laktat yang di analisa tadi maka dipilih satu yang paling bagus. Dan dilakukan pengerjaan kultivasi seperti diatas pada beberapa kondisi pH seperti nilai pH 3 ; 3,5; 4 ; 4,5 ; 5 ; 6 ; 7 ; 8 dst.

b. Pengaruh Temperatur/Suhu .

Untuk melihat pengaruh temperatur terhadap aktivitas antimikroba pada bakteri asam laktat yang dihasilkan , maka bakterinya diinkubasi pada beberapa temperature yang berbeda seperti 10 °C ; 20 °C ; 30 °C ; 40 °C dan seterusnya selama 24 jam dalam media NB dengan cara mengambil satu ose koloni bakterinya..Kemudian masing-masing kultur bakteri di pindahkan ke medium NA dengan metoda streak dan di inkubasi pada suhu 10 °C ; 20 °C ; 30 °C ; 40 °C selama 24 jam. Pertumbuhan koloni bakteri di amati 1x 24 jam. Pengaruh suhu juga di uji dengan memanaskan supernatant mulai temperatur 45 °C ; 60 °C ; 75 °C ; 90 °C ; 100 °C ; 121 °C selama 30, 45, 60 menit , kemudian di uji kemampuannya menginhibisi 6 jenis bakteri patogen dari *E.coli* NBRC14237, *Staphylococcus aureus* NBRC 13276, *Bacillus subtilis* BTCCB, *Salmonella thypii*, *Pseudomonas*, *Listeria monocytogenes*. Bakteri uji adalah *E.coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* dan *Samonella thypii*.

c. Pengaruh kation Di valen.

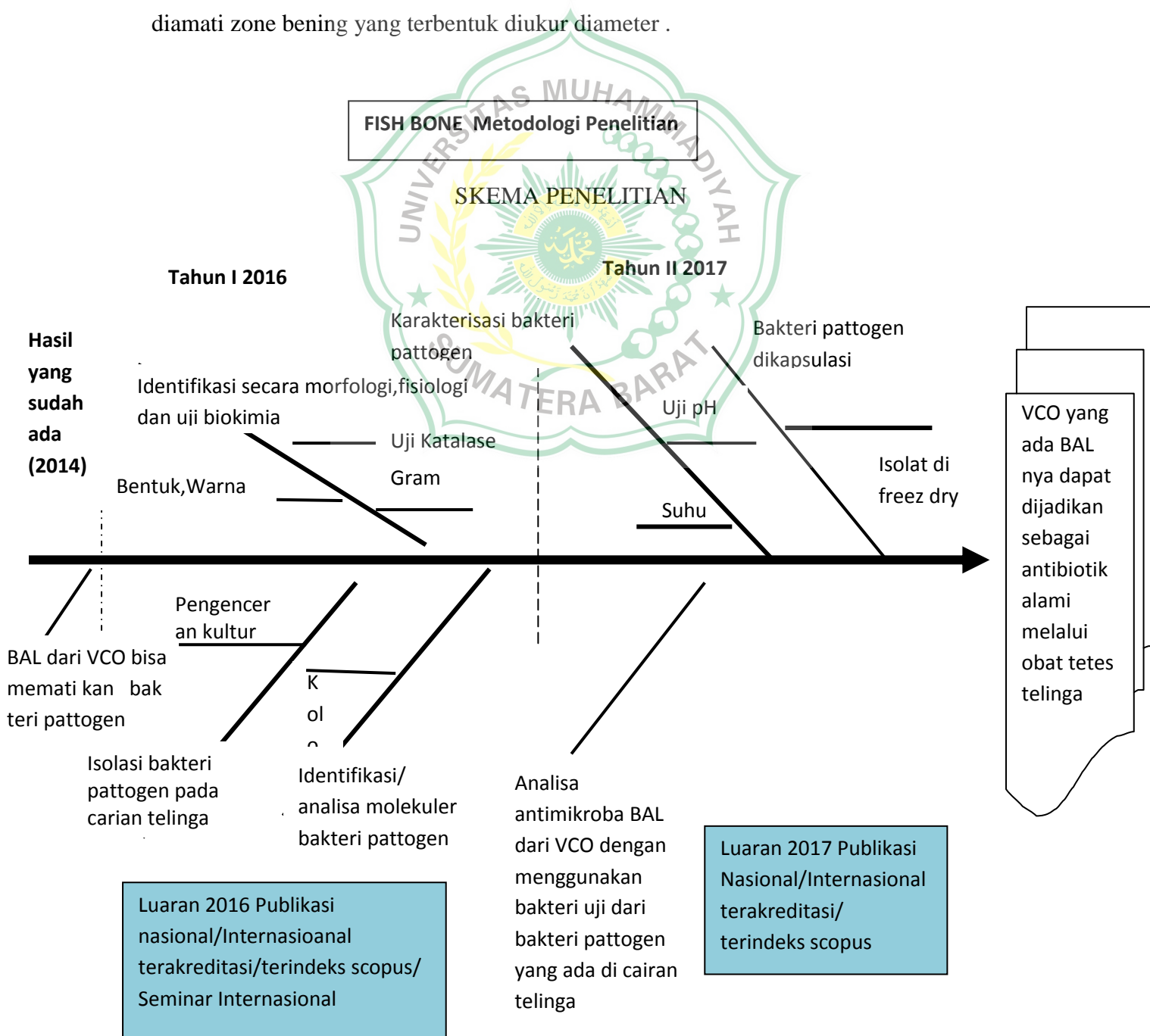
Untuk mengetahui pengaruh kation divalent terhadap aktivitas antimikroba /enzim bakteri asam laktat maka ke dalam media pertumbuhannya di tambahkan kation divalent seperti Cu⁺⁺ ; Co⁺⁺ ; Hg⁺⁺ ; Zn⁺⁺ ; Mn⁺⁺ ; dan Mg⁺⁺ dengan konsentrasi 1mM, kemudian diukur aktivitas enzimnya.

3.3.5 Packaging isolat dalam bentuk serbuk yang dikapsulasi.

Mikroba atau isolat yang akan dimasukkan dalam kapsul ditumbuhkan pada biakan agar miring dan dikeringkan , lalu disterilisasi menggunakan autoklaf. Selanjutnya dijadikan bubuk melalui proses pengeringan dengan *Freeze drying*.

3.3.6. Uji aktifitas antimikroba.

Mikroba yang digunakan untuk uji nya sesuai dengan jenis bakteri pattogen hasil isolasi dan identifikasi bakteri pattogen yang ada pada cairan telinga penderita Otitis Media Suppuratif Kronis. Metoda yang digunakan adalah difusi sumur agar, diambil 3ml biakan BAL yang sudah di inkubasi semalam, disentrifuse dengan kecepatan 6000 rpm selama 10 menit, kemudian supernatanya digunakan untuk uji aktivitas mikroba. Untuk uji aktivitas mikroba, dimasukkan masing-masing 200 µl bakteri uji ke dalam 20 ml media NA yang masih cair (suhu kira-kira 40 °C). Dituang ke dalam cawan petri steril, lalu dibiarkan selama 30 menit, supaya agar nya mengeras. Kemudian dibuat sumur dengan melubangi agar menggunakan blue tip. Dimasukkan 20 µl supernatant BAL ke dalam sumur tersebut, kemudian diinkubasi pada temperature 37 °C secara anaerob. Kemudian diamati zone bening yang terbentuk diukur diameter .



BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. KESIMPULAN.

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 aureginosa*, *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 .

SARAN

1. Dari penelitian ini disarankan untuk yang akan datang dapat digunakan informasi ini sebagai data penelitian selanjut nya yaitu, melakukan analisa antibakteri dan antijamur nya. Sehingga untuk jangka panjang dapat ditemukan obat tetes telinga.
2. Penelitian ini adalah penelitian yang berhubungan dengan manusia, data yang harus dirahasiakan dan lain sebagainya , maka diperlukan perlakuan khusus. Untuk itu kedepannya perlu disarankan adanya sosialisasi mengenai Ethic clearence.

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, dengan Kontrak penelitian No:
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 ArchOtorhinolaringol*.
- 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 Reacion 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. *Nepalese 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 Reviwer*, 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.



LAMPIRAN 1

Data Penderita OMSK yang diambil cairan telinganya (sekret) sebagai sampel

No.	Nama Pasien	Umur	Kode sampel	Keterangan
1.	Winda Ainu Syifa	7 tahun	MJ 1	RSUP M.Jamil
2.	Zahra Humairah	15 tahun	MJ 2	RSUP M.Jamil
3.	Eri Kardi	25 tahun	MJ 3	RSUP M.Jamil
4.	Suryadi	10 tahun	MJ 4	RSUP M.Jamil
5.	Fajar Yolanda	7 tahun	MJ 5	RSUP M.Jamil
6.	Mahmud	20 tahun	MJ 6	RSUP M.Jamil
7.	Fatmawati	11 tahun	MJ 7	RSUP M.Jamil
8.	Syafrian Doni	41 tahun	MJ 8	RSUP M.Jamil
9.	M.Khaidir	75 tahun	MJ 9	RSUP M.Jamil
10.	Citra Aulia Puteri	13 tahun	MJ 10	RSUP M.Jamil
11.	Nasy wahana	8 tahun	Kop 1	Kopertis
12.	Ahmad Diar	15 tahun	Kop 2	Kopertis
13.	Andre Putra	25 tahun	Kop 3	Kopertis
14.	Gusriyal	33 tahun	Kop 4	Kopertis
15.	Budi Kurniawan	21 tahun	Kop 5	Kopertis
16.	Musdar	18 tahun	Kop 6	Kopertis
17.	Idral	30 tahun	Kop 7	Kopertis
18.	Azneti	19 tahun	Kop 8	Kopertis
19.	Zulhardin	56 tahun	Kop9	Kopertis
20.	M. Rezki	42 tahun	Kop 10	Kopertis
21.	M. Azmi	14 tahun	Kop 11	Kopertis
22.	Yanti	40 tahun	Kop 12	Kopertis
23.	Ance	13 tahun	Kop 13	Kopertis
24.	Jufrizal	48 tahun	Kop 14	Kopertis
25.	Elinami	51 tahun	Kop 15	Kopertis
26.	Aldi.R	19 tahun	Kop 16	Kopertis
27.	Imarta.S	13 tahun	Kop 17	Kopertis
28.	Yusri	13 tahun	Kop 18	Kopertis
29.	Gusriyal	13 tahun	Kop 19	Kopertis
30.	Jumari	46 tahun	Kop 20	Kopertis
31.	Rita Novita	14 tahun	Kop 21	Kopertis
32.	M.Najib	12 tahun	Kop 22	Kopertis
33.	Temu Zulfahmi	23 tahun	Kop 23	Kopertis
34.	Burhanuddin	29 tahun	Kop 24	Kopertis
35.	Daffa	7 tahun	Kop 25	Kopertis
36.	Syafrian Deni	17 tahun	Kop 26	Kopertis
37.	Miss Maret	41 tahun	Kop 27	Kopertis
38.	Endang	31 tahun	Kop 28	Kopertis
39.	Ary Mukhlis	20 tahun	Kop 29	Kopertis
40.	Aqila Syardi	6 tahun	Kop 30	Kopertis
41.	Citra uliya.P	13 tahun	Kop 31	Kopertis

42.	Vella Nurhamidah	19 tahun	Kop 32	Kopertis
43.	Refie	8 tahun	Kop 33	Kopertis
44.	Rusdi	13 tahun	Kop 34	Kopertis
45.	Zakiya Fauzan	14 tahun	Kop 35	Kopertis
46.	Aris Muliadi	30 tahun	Kop 36	Kopertis
47.	M. Khaidar	15 tahun	Kop 37	Kopertis
48.	Dina Yusmira	23 tahun	Kop 38	Kopertis
49.	Sulfan	20 tahun	Kop 39	Kopertis
50.	Gusnita	45 tahun	Kop 40	Kopertis
51.	Didi Ahmad	12 tahun	Kop 41	Kopertis
52.	Tomi	45 tahun	Kop 42	Kopertis
53.	Ani	17 tahun	Kop 43	Kopertis
54.	Hefizal	52 tahun	Kop 44	Kopertis
55.	Yelfia	43 tahun	Kop 45	Kopertis
56.	Tari Puteri Anggia	7 tahun	Kop 46	Kopertis
57.	Hariyadi	56 tahun	Kop 47	Kopertis
58.	Muhammad Yahya	14 tahun	Kop 48	Kopertis
59.	Fitri Yunita	27 tahun	Kop 49	Kopertis
60.	Yusnani	58 tahun	Kop 50	Kopertis
61.	Ridha Wahyudi	7 tahun	Kop 51	Kopertis
62.	Dea	15 tahun	Kop 52	Kopertis
63.	Sherly Marissa	25 tahun	Kop 53	Kopertis
64.	Syukri	30 tahun	Kop 54	Kopertis
65.	M. Syauki	7 tahun	Kop 55	Kopertis
66.	Rafena	11 tahun	Kop 56	Kopertis
67.	Nurkamila	31 tahun	Kop 57	Kopertis
68.	Rayan	11 tahun	Kop 58	Kopertis
69.	Rizki	75 tahun	Kop 59	Kopertis
70.	Regina	13 tahun	Kop 60	Kopertis
71.	Arifa	8 tahun	Kop 61	Kopertis
72.	Adinugroho	15 tahun	Kop 62	Kopertis
73.	Latifah	25 tahun	Kop 63	Kopertis
74.	Elfjaria	33 tahun	Kop 64	Kopertis
75.	Fadel	13 tahun	Kop 65	Kopertis
76.	Nurdiyanti	58 tahun	Kop 66	Kopertis
77.	Siti Alifa	30 tahun	Kop 67	Kopertis
78.	Muhammad Dimas	19 tahun	Kop 68	Kopertis
79.	Wahyu	56 tahun	Kop 69	Kopertis
80.	Novi	12 tahun	Kop 70	Kopertis
81.	Fadilla	14 tahun	Kop 71	Kopertis
82.	Suyono	40 tahun	Kop 72	Kopertis
83.	Sania	13 tahun	Kop 73	Kopertis
84.	Latifah hanum	48 tahun	Kop 74	Kopertis
85.	Nurfaizah	51 tahun	Kop 75	Kopertis
86.	Jodi Atia	19 tahun	Kop 76	Kopertis
87.	Khairul Rizki	23 tahun	Kop 77	Kopertis
88.	Dt. Sati	73 tahun	Kop 78	Kopertis
89.	Faisal Khitan	13 tahun	Kop 99	Kopertis

90.	Masril	46 tahun	Kop 80	Kopertis
91.	Arzil	14 tahun	Kop 81	Kopertis
92.	Iqbal	12 tahun	Kop 82	Kopertis
93.	Duski	23 tahun	Kop 83	Kopertis
94.	Mulyani	19 tahun	Kop 84	Kopertis
95.	Dasril	7 tahun	Kop 85	Kopertis
96.	Feri	17 tahun	Kop 86	Kopertis



LAMPIRAN 2.

Hasil Identifikasi bakteri pattogen yang ada pada sekret pasien OMSK

No.	Kode sampel	Jenis bakteri pattogen
1.	MJ. 1	<i>Staphilococcus aureus</i>
2.	MJ.2	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
3.	MJ.3	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
4.	MJ.4	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
5.	MJ.5	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
6.	MJ.6	<i>Candida sp</i>
7.	MJ.7	<i>Proteus mirabilis</i>
8.	MJ.8	<i>Staphilococcus aureus</i> <i>Pseudomonas aureginosa</i>
9.	MJ.9	<i>Staphilococcus aureus</i>
10.	MJ.10	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
11.	Kop 1	<i>Staphilococcus aureus</i>
12.	Kop 2	<i>Klebsiela sp</i>
13.	Kop 3	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
14.	Kop 4	<i>Proteus mirabilis</i>
15.	Kop 5	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
16.	Kop 6	<i>Staphilococcus aureus</i>
17.	Kop 7	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
18.	Kop 8	<i>Staphilococcus aureus</i>
19.	Kop 9	<i>Staphilococcus aureus</i> <i>Pseudomonas aureginosa</i>
20.	Kop 10	<i>Candida sp</i> <i>Pseudomonas aureginosa</i>
21.	Kop 11	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
22.	Kop 12	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
23.	Kop 13	<i>Staphilococcus aureus</i>
24.	Kop 14	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
25.	Kop 15	<i>Pseudomonas aureginosa</i> <i>Proteus mirabilis</i>
26.	Kop 16	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
27.	Kop 17	<i>Candida sp</i>
28.	Kop 18	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
29.	Kop 19	<i>Staphilococcus aureus</i> <i>Pseudomonas aureginosa</i>
30.	Kop 20	<i>Staphilococcus epidermidis</i>
31.	Kop 21	<i>Proteus mirabilis</i>
32.	Kop 22	<i>Klebsiela sp</i>
33.	Kop 23	<i>Staphilococcus aureus</i>
34.	Kop 24	<i>Candida sp</i>
35.	Kop 25	<i>Pseudomonas aureginosa</i> <i>Proteus mirabilis</i>
36.	Kop 26	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
37.	Kop 27	<i>Staphilococcus epidermidis</i>

38.	Kop 28	<i>Proteus mirabilis</i> <i>Pseudomonas aureginosa</i>
39.	Kop 29	<i>Staphilococcus aureus</i>
40.	Kop 30	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
41.	Kop 31	<i>Staphilococcus epidermidis</i> <i>Pseudomonas aureginosa</i>
42.	Kop 32	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
43.	Kop 33	<i>Proteus mirabilis</i> <i>Staphilococcus aureus</i> <i>Pseudomonas aureginosa</i>
44.	Kop 34	<i>Staphilococcus aureus</i>
45.	Kop 35	<i>Staphilococcus epidermidis</i> <i>Pseudomonas aureginosa</i>
46.	Kop 36	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
47.	Kop 37	<i>Proteus mirabilis</i>
48.	Kop 38	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
49.	Kop 39	<i>Staphilococcus aureus</i>
50.	Kop 40	<i>Klebsiela sp</i>
51.	Kop 41	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
52.	Kop 42	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
53.	Kop 43	<i>Staphilococcus aureus</i> <i>Proteus mirabilis</i>
54.	Kop 44	<i>Proteus mirabilis</i>
55.	Kop 45	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
56.	Kop 46	<i>Klebsiela sp</i> <i>Pseudomonas aureginosa</i>
57.	Kop 47	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
58.	Kop 48	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
59.	Kop 49	<i>Staphilococcus aureus</i>
60.	Kop 50	<i>Proteus mirabilis</i>
61.	Kop 34	<i>Staphilococcus aureus</i>
62.	Kop 35	<i>Klebsiela sp</i>
63.	Kop 36	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
64.	Kop 37	<i>Proteus mirabilis</i>
65.	Kop 38	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
66.	Kop 39	<i>Staphilococcus aureus</i>
67.	Kop 46	<i>Klebsiela sp</i>
68.	Kop 47	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
69.	Kop 48	<i>Proteus mirabilis</i>
70.	Kop 49	<i>Staphilococcus aureus</i>
71.	Kop 50	<i>Proteus mirabilis</i>
72.	Kop 34	<i>Staphilococcus aureus</i>
73.	Kop 44	<i>Proteus mirabilis</i>
74.	Kop 45	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
75.	Kop 46	<i>Klebsiela sp</i>
76.	Kop 47	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
77.	Kop 48	<i>Pseudomonas aureginosa</i>

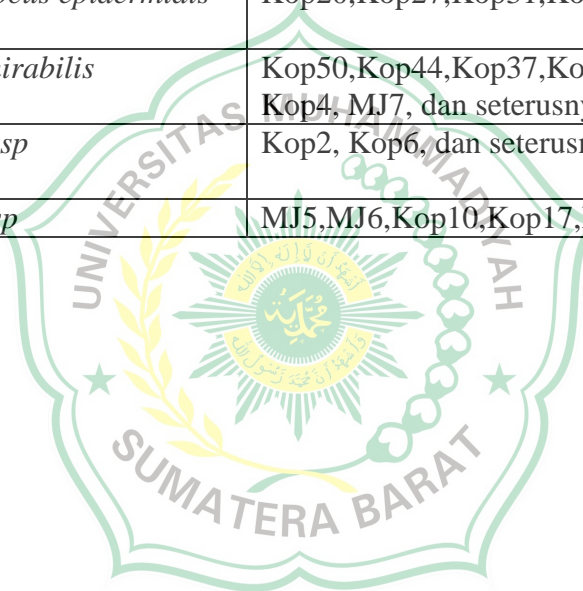
		<i>Proteus mirabilis</i>
78.	Kop 49	<i>Staphilococcus aureus</i>
79.	Kop 50	<i>Proteus mirabilis</i>
80.	Kop 34	<i>Staphilococcus aureus</i>
81.	Kop 35	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
82.	Kop 36	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
83.	MJ.4	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
84.	MJ.5	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
85.	MJ.6	<i>Candida sp</i>
86.	MJ.7	<i>Proteus mirabilis</i>
87.	MJ.8	<i>Staphilococcus aureus</i>
88.	MJ.9	<i>Proteus mirabilis</i> <i>Pseudomonas aureginosa</i> <i>Staphilococcus aureus</i>
89.	MJ.10	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
90.	Kop 24	<i>Candida sp</i>
91.	Kop 25	<i>Proteus mirabilis</i>
92.	Kop 26	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
93.	Kop 27	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
94.	Kop 28	<i>Proteus mirabilis</i>
95.	Kop 29	<i>Staphilococcus aureus</i>
96.	Kop 30	<i>Pseudomonas aureginosa</i>



LAMPIRAN 3.

Pengelompokan Bakteri Patogen yang berhasil diidentifikasi secara Konvensional.

No.	Jenis Bakteri Pattogen	Kode sampel	Jumlah isolat
1.	<i>Pseudomonas aureginosa</i>	MJ 2, MJ3, MJ4, MJ 10,Kop3, Kop5,Kop 7, Kop 11, Kop 12, Kop 14, Kop15, Kop 16, Kop 18, Kop 22, Kop25,Kop26,Kop30, Kop 32, Kop 36, Kop 38, Kop 40, Kop 41, Kop45, Kop48 dan seterusnya.	74 isolat
2.	<i>Staphilococcus aureus</i>	Kop49,Kop43,Kop39, Kop34,Kop33,Kop29,Kop23, Kop 19, Kop13,Kop9, Kop8, Kop6, Kop1, MJ1,	14 isolat
3.	<i>Staphilococcus epidermidis</i>	Kop20,Kop27,Kop31,Kop35	4 isolat
4.	<i>Proteus mirabilis</i>	Kop50,Kop44,Kop37,Kop28,Kop21, Kop4, MJ7, dan seterusnya.	21 isolat
5.	<i>Klebsiela sp</i>	Kop2, Kop6, dan seterusnya.	7 isolat
6.	<i>Candida sp</i>	MJ5,MJ6,Kop10,Kop17,Kop24	6 isolat





Kementerian Riset Teknologi Dan Pendidikan Tinggi
Jurnal Katalisator
Kopertis Wilayah X
Website: <http://ejournal.kopertis10.or.id/index.php/Katalisator>



ISOLASI BAKTERI PATOGEN PADA PASIEN PENDERITA INFEKSI TELINGA Chronic suppurative otitis media (OMSK)

¹Suryani, ¹Zulmardi, ²Abdi Dharma, ²Yunazar Manjang

¹Universitas Muhammadiyah Sumatera Barat

²Universitas Andalas

suryanimdiah@yahoo.com

Submitted :06-10-2016, Reviewed:06-10-2016, Accepted:10-10-2016

Abstrak

Tujuan penelitian ini adalah mengisolasi bakteri patogen pada infeksi telinga Chronic suppurative otitis media yang nantinya sebagai tahap awal dari pengembangan analisa antimikroba Bakteri Asam Laktat (BAL) pada proses fermentasi santan kelapa menjadi Virgin Coconut Oil (VCO), yang diharapkan mampu berfungsi sebagai antimikroba/antibakteri dari bakteri patogen. Menurut Suryani dkk (2014), isolat BAL dari fermentasi santan mampu berfungsi sebagai antibakteri terhadap 5 bakteri uji (*E.coli* NBRC14237, *Staphylococcus aureus* NBRC 13276, *Bacillus substilis* BTCCB, *Salmonella thypii*, dan *Listeria monocytogenes*). Untuk mendapatkan informasi tersebut maka diisolasi bakteri yang ada di cairan telinga pasien penderita infeksi telinga Chronic suppurative otitis media dengan menggunakan media umum Blood Agar dengan metoda Pengenceran. Dari penelitian ini didapatkan 42 isolat dengan 4 jenis bakteri patogen yaitu *Pseudomonas aureginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis*. Pasien OMSK yang diambil sekretnya 60 % berumur di atas 20 tahun dan 40% berumur di bawah 20 tahun.

Kata Kunci: Isolasi bakteri patogen, sekret pasien OMSK, Chronic suppurative otitis media, Virgin Coconut Oil (VCO),

Abstract

This research is aimed to isolate pathogen bacteria in ear infection Chronic Suppurative Otitis Media. This is the first phase in developing analysis Antimicroba Lactic Acid. Bacteria in the process of coconut milk fermentation into Virgin Coconut Oil (VCO). It is expected can be functioned as antibacteria of pathogen. According to Suryani et.al (2014), isolate of Antimicroba Lactic Acid of coconut milk fermentation can act as antibacteria against 5 examined bacteria (*E.coli* NBRC14237, *Staphylococcus aureus* NBRC 13276, *Bacillus substilis* BTCCB, *Salmonella thypii*, dan *Listeria monocytogenes*). To achieve it, the ear liquid of sufferer containing bacteria is isolated with Blood Agar media and Dilution method. The result is that there 42 isolate in accordance with 3 kinds pathogen bacteria such as *Pseudomonas aureginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis*. The sufferer who has choosen as participant are 72% coming from the age of above 20 and the rest are under 20 years old. The ratio of sexes are similar between male and female.

**The First Internasional Conference Technology on Biosciences
And Social Sciences 17-19 November 2016.**

**DEVELOPMENT ANALYSIS ANTIMICROBIAL LACTIC ACID BACTERIA
WHICH IS IN THE PROCESS OF BEING COCONUT MILK FERMENTATION
VCO (Virgin Coconut Oil) AGAINST BACTERIA IN EAR INFECTION Suppurativ
Chronic Otitis Media (SCOM)**

Suryani ^a, Zulmardi^a
^aKimia Universitas Muhammadiyah Sumbar
E-mail suryanimdiah@yahoo.com

ABSTRACT

This study aims to develop an analysis of antimicrobial and antifungal properties of lactic acid bacteria that are in the curing process during manufacture coconut Virgin Coconut Oil (VCO). Lactic Acid Bacteria (LAB) it include *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus thermobacterium*, *Corineaebacterium bovis*, *Corineaebacterium xerosis* and *Micrococcus luteus*. Analysis of antimicrobial and antijamurnya using test bacteria that are pathogens, namely *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella thypi* and fungi that are pathogenic, namely *Candida sp* and *Aspergillus sp*. BAL can inhibit the growth of pathogenic bacteria and the pathogenic fungi. Because BAL existing VCO can inhibit the growth of pathogenic bacteria it will also be able to inhibit pathogenic bacteria and fungal pathogens that infect the middle ear of patients Otitis Media Suppurative chronic which is a disease that can myebabkan death, meningitis, brain abscess if the infection occurred long and untreated good. The methods used are (1) to isolate bacterial and fungal pathogens in secretions CSOM patients using blood agar media and dilution method, and (2) identify bacteria and fungal pathogens with a morphology test, Gram test and biochemical tests. Of the 87 patients CSOM taken secretions can be obtained 87 isolates consisted of 82 (94%) Consist bacterial isolates were *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aureginosa*, *Klebsiella sp* and *Proteus mirabilis* and 5 (5.7%) isolates of the fungus is *Candida sp*.

Keyword: Pathogenic bacteria, Lactic Acid Bacteria (LAB), the identification, isolation pa
Thogenic bacteria, Virgin Coconut Oil.

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF PATHOGENIC BACTERIA FROM THE SECRETION OF CHRONIC SUPPURATIVE OTITIS MEDIA

¹Suryani, ¹Zulmardi,
¹Muhammadiyah University of West Sumatera
E-mail: suryanimdiah@yahoo.com

ABSTRACT

The aims of this research were to isolate and identify the pathogenic bacteria in the secretion of Chronic Suppurative Otitis Media (CSOM) patients as the development of Lactic Acid Bacteria (LAB) analysis in Virgin Coconut Oil (VCO) fermentation process. We hope LAB in the VCO could be antimicrobial/antibacterial of bacteria in the secretion of CSOM patients. Suryani (2014) said that the isolate of LAB could be antibacterial against 5 samples of bacteria (*E.coli* NBRC14237, *Staphylococcus aureus* NBRC 13276, *Bacillus subtilis* BTCCB, *Salmonella thypii*, and *Listeria monocytogenes*) and also against 2 samples of fungi (*Aspergillus niger* and *Candida sp.*). Chavan et al.(2014) and Sharma (2014) said bacteria that cause CSOM were *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Staphylococcus aureus* and fungi called *Aspergillus spp* and *Candida spp*. This research was conducted in 2 stages; (1) isolation of the bacteria in the secretion of CSOM patients using blood agar and dilution method; (2) identify the isolates morphologically, physiology, and other biochemical test. We got 126 isolates and 5 kinds of pathogenic bacteria (*Pseudomonas aureginosa*, *Staphilococcus aureus*, *Staphilococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella Sp*) and one kind of fungi (*Candida sp*). The samples of CSOM patients are 60% above aged 20 and 40% under aged 20, 50% of them are male, and 50% of them are female.

Keywords: Pathogenic bacteria isolation, Secretion of CSOM patients, Chronic suppurative otitis media, Virgin Coconut Oil (VCO), Lactic Acid Bacteria (LAB)

INTRODUCTION

Chronic Suppurative Otitis Media (CSOM) is a kind of ear disease that usually attacks children and causes deafness, even dead (Lee, 2009). It usually attacks people in developing countries such as India, Nepal, Vietnam and also Indonesia (Rajahmundry, 2014). Indonesian calls it 'congek', and it is a deadly disease because there is tympanic membrane perforation and secretion that flows from the outer ear continuously or temporary and it can cause dangerous complication such as brain abscess and meningitis (Djafaar *et al.*, 2007). CSOM happens because the late effect of treatment for acute otitis media patient, or poor hygiene

practice, high virulence, and weak immune system because of malnutrition (Djafaar *et al.*, 2007).

There were many researchers have tried to isolate the pathogenic bacteria in the secretion of CSOM patients. One of them was an Indian researcher, Prakash M (2013) that said, from 80 samples of CSOM patients, there were few pathogenic bacteria; *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas sp*, *Escherichia coli*, and *Klebsiella sp.*, apparently 18% of the bacteria were resistance toward antibiotic like methicillin, and sensitive toward amikacin, chloramfenicol and piperacillin.

Helen M (2009) reported that the most pathogenic bacteria found in CSOM object were *Streptococcus Pnemonea* and a virus. Edwar, Yan et al (2015) reported that pathogenic bacteria in the secretion of CSOM patients were aerobic and anaerobic and most of them were *P.aeruginosa*, *S.aureus*, *S. pyogenes*, *K.pneumoniae*, *H.influenzae*, *Bacteroides* and *Proteus sp*. The mixture of aerobic and anaerobic bacteria that form a layer called biofilm.

Meanwhile, Suryani et al (2014) and Luz Andriana Sarmiento (2010) said that there were bacteriocins in Lactic Acid Bacteria (LAB). Bacteriocins can kill pathogenic bacteria but it is not dangerous for non-pathogenic bacteria (Nguyen, 2010). Suryani *et al.* (2016) also said that after doing antibacterial test and anti-function test using 5 samples of bacteria (*E.coli* NBRC14237, *Staphylococcus aereus* NBRC 13276, *Bacillus substilis* BTCCB, *Salmonella thypii*, and *Listeria monocytogenes*) and 2 samples of fungi (*Aspergillus niger* and *Candida sp*) in VCO fermentation process, there were pathogenic bacteria of CSOM patients found among samples of bacteria (*S. Aureus*) and there was a fungus of CSOM patient between the samples.

Because oil layer in VCO contains LAB that can inhibit the growth of pathogenic bacteria, we hope that pathogenic bacteria in secretion of CSOM patients can be inhibited also by the LAB.

RESEARCH METHOD

This research was conducted from April until October 2016. The secretions were taken from CSOM patients in X Hospital. Data analyzes was conducted in Central Laboratory of X Hospital, Basic Laboratory of Kopertis X, and Microbiology Laboratory of Muhammadiyah University of West Sumatera.

Materials

Material in this research was ear liquid of 126 CSOM patients in X Hospital. The media to grow the bacteria during conventional isolation and identification processes were blood agar and McConkey agar. MRS (15g peptone, 5g yeast extract, 10g dextrose, 5g tomato juice, 2g monopotassium phosphate, and 1g polysorbate 80), Luria-Bertani medium (10g tryptone, 5g yeast extract, and 10g NaCl), sodium acetate, liquid nitrogen, methylene blue, sterile aquadest, sodium azide, HCl 6 N, ampicilin, ammonium sulfate, Tris-HCl 50 mM pH 7.4, NaCl 1 M, Tris-HCl 100nM pH 8.5, glycerol, isopropanol, 70% ethanol, ammonium molybdate, trisodium citrate, aquabidest, methanol, pure Agar, 70% alcohol, 96% ammonium sulfate (NH₄)₂SO₄, Aquadest, buffer solution pH 7, technical hydrogen peroxide (H₂O₂), potassium hydroxide (KOH), phenolphthalein (PP) analysis, technical starch, and lactose broth.

Method

There were 2 stages in this research; (1) isolation of pathogenic bacteria of 125 CSOM patients; (2) Identification of pathogenic bacteria using gram-negative and positive test, bacterial staining test, morphology test, and biochemical test such as catalase test and other carbohydrate tests.

The Isolation of Pathogenic Bacteria in the Secretion of the Patients

We do isolation stage before doing the identification of pathogenic bacteria in the secretion of 126 CSOM patients. Pathogenic bacteria from 126 CSOM patients are isolated using dilution method until 10⁻⁷ dilution level and the media used to isolate the pathogenic bacteria are blood agar and McConkey agar. Streak the bacteria for a single colony and it will be the isolate of the pathogenic bacteria. Along with the secretion in blood agar, the secretion is also enriched in tiogikolat. If there is no bacterium that grows in the media, we can take the sample that has been already enriched and growth in blood agar. Every CSOM patient usually can produce one isolate.

The Identification of Isolate of Pathogenic Bacteria

Isolates that have been collected are identified morphologically by seeing the colony pattern, and the color of the colony. Positive and negative-gram test, biochemical test such as catalase test, starch test, and novobiocin test are also conducted.

RESULT AND DISCUSSION

Data of CSOM patients in this research can be seen in Table 1 below:

Tabel 1. Sample Distribution

No.	Pasien	Jumlah	%
1.	Anak-anak (dibawah 13 tahun)	51	40
2.	Dewasa	75	60
3.	Laki-laki	72	57
4.	Perempuan	54	43

From table above we also can see that most of them are men (57%). And we also can see that 40% of the CSOM patients in this research are children, and 60% are adult. Yaor, MA (2006) in his previous research said that CSOM can attack children and adult. 73 CSOM patients in his research aged 9-84, 17% of them were children aged 9-15. It happened because of poor hygiene practice. Meanwhile, Shyamala (2012) found that 70% of CSOM patients were children aged 0-20.

The Isolation of Pathogenic Bacteria

Usually we can find one kind of pathogenic bacteria of the CSOM patient in the isolation process, and in this research we got 126 isolates. AH Singh (2012) in his previous research found one isolate in 64% of 192 samples, 34% of them had more than one, and 5.33% of the isolated secretion produced fungi.

Morphologic Identification of Pathogenic Bacteria

The result of pathogenic bacteria identification of 126 secretions of CSOM patients can be seen in Table 2 below:

Tabel 2. Morphologic Analysis of the Isolates

No.	Macroscopic Characteristics of Isolate	Isolate	Number of Isolate
-----	--	---------	-------------------

1.	<ul style="list-style-type: none"> - The color is grayish white - The shape like a fragment - The size is 6-15 mm - The texture is rough - Greenish pigment - Smelly - Gram-negative (bacilli) 	<i>Pseudomonas aureginosa</i>	74 (58,7%)
2.	<ul style="list-style-type: none"> - Circular shape - The size is medium - Convex - Possessing flagella - Spread - Smell salty - Gram-negative (bacilli) 	<i>Proteus mirabilis</i>	21 (16,6%)
3.	<ul style="list-style-type: none"> - Circular shape - The size is big - Convex - Mucoid - Shiny - The edge is smooth - Gram-negative bacilli 	<i>Klebsiella</i>	7 (5%)
4.	<ul style="list-style-type: none"> - Circular shape - Slightly Convex - The edge is smooth - The color is yellowish white - The size is 2-5 mm - β hemolytic - Positive-gram (cocci) - Aciniform (Grouped like grapes) 	<i>Staphylococcus aureus</i>	14 (11%)
5.	<ul style="list-style-type: none"> - Circular shape - Slightly Convex - The edge is smooth - The color is white - The size is small - Cocci - Positive-gram - Aciniform (Grouped like grapes) 	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	4 (3%)

Meanwhile in fungi identification, when we were doing observation of isolation process, we found a colony that had hypha in it. We did gram staining test and the result was positive pseudohyphae. Then, the samples were growth in blood agar and saboraud agar. The colony did not grow in blood agar but grew in saboraud agar in circular shape, white, and slightly mucoid. The result can be seen in Table 3 below:

Tabel 3. Morphologic Analysis of Fungi from the isolates of Pathogenic Bacteria

No.	Characteristics	Isolate	Number of Isolate
1.	- Positive-gram - Pseudohypha + - Didn't grow in blood agar - Grow in saboraud - Circular shape, white, and slightly mucoid	<i>Candida sp</i>	6 (4,7%)

Biochemical Test

The result of biochemical test of the isolates can be seen in Table 4 below:

Tabel 4. Result of Biochemical Test of the Isolate

No.	Test	Result	Number of Isolate	Isolate
1.	TSIA	K/K	74	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
2.	Gas	+		
3.	H2S	-		
4.	SC	+		
5.	Sulfur	+		
6.	Indole	-		
7.	Motile	+		
1.	TSIA	K/A	21	<i>Proteus mirabilis</i>
2.	Gas	+		
3.	H2S	+		
4.	SC	+		
5.	Sulfur	+		
6.	Indole	-		
7.	Motile	+		
1.	TSIA	A/A		<i>Klebsiella</i>
2.	Gas	+		
3.	H2S	-		
4.	SC	+		
5.	Sulfur	-		
6.	Indole	-		
7.	Motile	-		
1.	Catalase	+	14	<i>Staphylococcus aureus</i>
2.	Gas	+		
3.	Coagulase	+		
4.	Novobiocin	Sensitive		
1.	Catalase	+	4	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
2.	Gas	+		
3.	Coagulase	-		

4.	Novobiocin	Sensitive		
----	------------	-----------	--	--

From the result of morphology identification in Table 2 and 3, we can see the shape, color, size of colony from each isolate and also the gram test result. From all result above, the pathogenic bacteria in the secretion of CSOM patients in X Hospital are *Pseudomonas aeruginosa* (58,7%), *Staphilococcus aureus* (11 %), *Staphilococcus epidermidis* (3%), *Proteus mirabilis* (16,6 %), *Klebsiela sp* (5%) and 1 fungi *Candida sp* (4,7%). This result is supported by the result of biochemical test in table 4. This matter also has been reported by other scientists but there were a few differences about the pathogenic bacteria and fungi found in the secretion of CSOM patients. Sthrestha et.al (2011) said that pathogenic bacteria and pathogenic fungus of CSOM patients were *Staphylococcus aureus* 32,2%, *Streptococcus pnemoni* 6,1 %, *Pseudomonas aeruginosa* 26,9 % , *Klebsiella sp* 10,4 % , *Proteus mirabilis* 6,9 % , *E.coli* 6,9%, fungi *Aspergillus sp* 6,9 % *Candida sp* 2,6 %.

CONCLUSION

From all result above, we can conclude that:

1. There were 126 isolates of pathogenic bacteria from the secretion of CSOM patients
2. There were 5 kinds of pathogenic bacteria in the secretion of CSOM patients in X Hospital; *Pseudomonas aeruginosa*; *Klebsiella*, *Proteus*; *Staphylococcus aureus*; *Staphilococcus epidermidis* and one species of fungi *Candida spp*.

RECOMMENDATION

We recommend other researchers to identify the pathogenic bacteria and pathogenic fungi molecularly using PCR in order to get the more accurate identification result.

ACKNOWLEDGEMENT

This research would never be finished without helps form other people, and we want to thank everybody that helped us to finish this research:

5. Director of DRPM of Ministry of Research, Technology and Higher Education of the Republic of Indonesia for funding this research through First-year Fundamental Donation, contract number:

6. Prof.Dr. Rahmiana Zein that helped us from the beginning of this research.
7. The Head of Dr. M. Djamil Hospital that has given us permission to do this research.
8. The Head of Basic Laboratory of Kopertis X that also gave us permission and help to finish this research.

REFERENCE

- Gopala Kresna.2010. Coconut Oil: Chemistry,Production and Its Applications –A Review Indian Coconut Journal. July 2010 .page 15-27
- Helen, M (2009), “Otitis media: viruses, bacteria, biofilms and vaccines”, **MJA**•191 (9),S44-S49
- Handayani Rini, Joko Sulystio, Rita Dwi Rahayu. 2009. Extraction of Coconut Oil (*Cocos nucifera* L.) through Fermentation System. BIO DIVERSITAS Volume 10, Number 3, ISSN: 2085-4722 (electronic)Pages: 151-157
- Luz-Adriana Sarmiento-Rubiano¹, Bernard Berger², Déborah Moine², Manuel Zúñiga¹, Gaspar Pérez-Martínez¹,María J Yebra¹. 2010. Characterization of a novel *Lactobacillus* species closely related to *Lactobacillus johnsonii* using a combination of molecular and comparative genomics methods. Sarmiento-Rubiano et al. BMC Genomics, 11:504
- Mustaque Ali Mushtaque Ali Memon, Salman Matiullah (2008). Frequency of Un-Safe Chronic Suppurative Otitis Media in Patients with Discharging Ear JLUMHS MAY - AUGUST 2008.
- Nguyen H.T.H., F.B. Elegado, N.T. Librojo-Basilio, R.C. Mabesaand E.I. Dizon. 2010. Isolation and characterisation of selected lactic acid bacteria for improved processing of *Nemchua*, a traditional fermented meat from Vietnam. Beneficial Microbes; 1(1): 67-74.
- Prakash M, Laksmi K, (2013), Bacteriological Profile and Ttheir Antibiotic Susceptibility Pattern of Cases of Chronic Suppurative Otitis Media. *Asian J Pharm Clin Res*, Vol 6, Suppl 3, , 210-212
- Rajahmundry. 2012. Aerobic bacteriology of chronic suppurative otitis media in Rajahmundry, Andhra Pradesh, India. *Biology and Medicine*, 4 (2): 73-79.
- Rajahmundry (2014), “ Biofilm Pada Otitis Media Supuratif Kronis”, JMJ, 3(1), Hal: 68– 78
- Shyamala,R, (2012) ,” The study of bacteriological agents of chronic suppurative otitismedia - Aerobic culture and evaluation”, J. Microbiol. Biotech. Res., 2012, 2 (1):152-162
- Sadiah. 2011. Virgin coconut oil production by fermentation using *Saccharomyces cerevisiae*. *Proceedings of the 2nd International Seminar on Chemistry 2011* (pp. 141-144)

- Sri Redjeki and Ely Kurniati. 2013. The Kinetic Reacion of Virgin Coconut Oil (VCO) Fermentation in an Ideal Bioreactor Tank in a Batch Process. *J. Chem. Chem. Eng.* 7 : 159-163.
- Shyamala and P Sreenivasulu Reddy.(2012). The study of bacteriological agents of chronic suppurative otitismedia - Aerobic culture and evaluation *J. Microbiol. Biotech. Res.*, 2 (1):152-162
- Singh,AH, (2012), “Aerobic bacteriology of chronic suppurative otitis media in Rajahmundry, Andhra Pradesh, India”, *Research Article Biology and Medicine*, 4 (2): 73-79.
- Suryani, Abdi Dharma.(2014). Antimicrobial and Antifungal Activity of Lactic Acid Bacteria Isolated from Coconut Milk Fermentation.*Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* 5(6) page 1587-1595.
- Suryani, et.al, (2016),” Isolation and Characterization of Bacteriocin latobacillus plantarum strain nm178-5 from fermentation process which contained on coconut milk”,*Transylvanian Review* 24(6),p 614-628.
- Suryani, Abdi Dharma. 2014. DDBJ (Data DNA Bank Jepang) (*accession number*) AB890143.

