

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 subtilis* 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 subtilis* 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.

PENDAHULUAN

Santan termasuk salah satu bahan yang mengandung protein dan karbohidrat yang tinggi, sehingga bila difermentasi terdapat Bakteri Asam Laktat (BAL) seperti yang dilaporkan oleh Suryani dkk,(2014) dan Luz (2010). Bakteri Asam Laktat (BAL) mengandung bakteriosin, yaitu peptida yang dapat membunuh bakteri patogen dan tidak berbahaya untuk bakteri non patogen (Nguyen 2010).Santan bila difermentasi akan menghasilkan Virgin Coconut Oil (VCO). Suryani dkk (2014), 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 substilis* BTCCB, *Salmonella thypii*, dan *Listeria monocytogenes*. Selain itu (Virgin Coconut Oil) juga mampu menghambat pertumbuhan jamur patogen yaitu *Candida* , *Aspergillus niger*, dan *Rhizopus sp* (Suryani, 2014).

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 Suppurative 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 (Rajahmundry, 2014). Mustaque (2008) melaporkan bahwa Otitis Media Suppurativ adalah penyakit yang berbahaya dan dapat mengakibatkan komplikasi yang menyebabkan kematian di negara-negara berkembang, termasuk India, Nepal dan Indonesia .

Dari India, Prakash 2013) melaporkan bahwa bakteri yang ada dicairan telinga 80 sampel penderita Otitis Media Akut yang dianalisa, terdapat beberapa bakteri patogen yaitu *Staphylococcus 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 Suppurativ 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 “Isolasi bakteri patogen pasien penderita Infeksi Telinga Chronic suppurative otitis media “ Bila bakteri patogen yang terdapat pada cairan telinga penderita Otitis Media Suppurativ 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 Suppurativ, dan dapat mencegah terjadinya komplikasi penyakit ini, sehingga akan mengurangi akibat yang berbahaya yaitu kematian.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah cairan telinga yang berasal dari 42 orang penderita Otits Media Suppuratif Kronis. Media NA agar dan, MRS (15 g pepton, 5 g 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 alkohol, 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.

Metoda

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahap yaitu :

- a. Isolasi bakteri Patogen yang ada pada cairan telinga 42 orang penderita Otitis Media Suppuratif Kronis (OMSK) .
- b. Identifikasi bakteri Patogen nya patogen dengan uji gram positif dan negatif, uji pewarnaan bakteri dan uji morfologinya

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, dapat dikemukakan data dari 42 orang penderita OMSK yang berasal dari Rumah Sakit Umum Pusat (RSUP) M. Jamil Padang, yang diambil sekret / cairan telinganya seperti yang dipaparkan pada Tabel 1. berikut

Tabel 1. Data Sebaran Responden Penderita OMSK

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	30 tahun	MJ 4	RSUP M.Jamil
5.	Fajar Yolanda	7 tahun	MJ 5	RSUP M.Jamil
6.	Mahmud	21 tahun	MJ 6	RSUP M.Jamil
7.	Fatmawati	31 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.	Nasywahana	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	58 tahun	Kop 6	Kopertis
17.	Idral	30 tahun	Kop 7	Kopertis
18.	Azneti	39 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	23 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	23 tahun	Kop 17	Kopertis
28.	Yusri	73 tahun	Kop 18	Kopertis
29.	Gusriyal	33 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.	Temizulfahmi	23 tahun	Kop 23	Kopertis
34.	Burhanuddin	29 tahun	Kop 24	Kopertis
35.	Daffa	7 tahun	Kop 25	Kopertis
36.	SyafrianDeni	17 tahun	Kop 26	Kopertis

37.	Miss Maret	41 tahun	Kop 27	Kopertis
38.	Endang	31 tahun	Kop 28	Kopertis
39.	AryMukhlis	20 tahun	Kop 29	Kopertis
40.	AqilaSyardi	6 tahun	Kop 30	Kopertis
41.	Citra uliya.P	13 tahun	Kop 31	Kopertis
42.	VellaNurhamidah	19 tahun	Kop 32	Kopertis

Dari 42 sampel pasien OMSK di isolasi bakteri patogen nya dengan menggunakan media Blood Agar karena menurut Prakash (2012), Rajahmundry (2012) bahwa bakteri patogen yang banyak tumbuh pada sekret/ pus penderita OMSK adalah *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*, diusahakan koloni nya adalah koloni tunggal melalui metoda pengenceran.. Kalau masih belum dalam bentuk koloni tunggal maka ditanam lagi pada media Blood Agar sampai didapatkan koloni tunggal. Agar darah merupakan media differensial yang yang dapat menumbuhkan berbagai macam jenis bakteri terutama yang coccus. Agar darah juga merupakan media yang cocok untuk *Pseudomonas aeruginosa*, selain media McConkey. Dari tahap isolasi bakteri patogen ini didapatkan 42 isolat.

Berdasarkan Tabel 1.dari sebaran umur terlihat bahwa jumlah pasien yang berumur 0-20 tahun berjumlah 16 orang (38%) dan yang berumur diatas 20 tahun selebihnya yaitu 62 %.

Sama banyak penderita perempuan dengan laki-laki. Angka ini sangat berbeda dengan yang dilaporkan oleh Shyamala (2012). Otitis Media Suppurativ akut ini ditemukan sebagian besar pada penduduk yang berumur 0-20 tahun yaitu sebesar 73 % , dan lebih banyak perempuan yaitu 65 % dan 35 % laki-laki. Otitis Media Suppurativ akut menurut Rajahmundry (2012) penyakit ini banyak ditemukan di India, Nepal, Taiwan dan Indonesia yang termasuk negara yang sedang berkembang. Perbedaan ini perlu diteliti lebih lanjut, karena besarnya persentase penderita OMSK yang berumur dibawah 20 tahun daripada pasien OMSK yang berumur diatas 20 tahun adalah karena seiring dengan bertambahnya umur OMSK ini akan sembuh dengan sendirinya. Untuk hasil penelitian ini sesuai . Tetapi untuk penelitian yang dilaporkan Shyamala (2012) berbeda karena bertambah banyak pasien yang berumur lebih dari 20 tahun. Penyebabnya bisa jadi saja pasien ini menderita OMSK tidak darimasa kanak-kanak.

Isolasi bakteri patogen dari sekret penderita OMSK

Sampel diambil dari sekret atau cairan telinga pasien penderita OMSK kemudian ditanam di media agar darah atau Blood Agar, diinkubasi semalam maka akan tumbuh bakteri seperti Gambar 1. berikut:



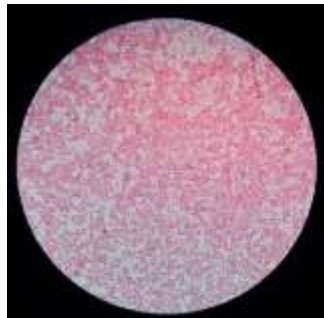
Gambar 2. Bentuk morfologi koloni bakteri pada media Blood Agar

Yang diambil adalah koloni yang tunggal, kalau rapat sekali tumbuh koloninya atau tidak tumbuh maka di gores atau ditanam lagi di media Blood agar, tetapi sampel terlebih dahulu sudah ditumbuhkan dalam Tioglikolat sebagai media pengkayaan. Sehingga tidak ada kemungkinan tidak didapatkan isolat dari bakteri patogen ini. Apalagi bila dilihat media yang dipakai adalah media selektif untuk bakteri patogen. Bila sampel tidak tumbuh di media Blood agar maka dipakai media McKonkey yang juga merupakan media selektif untuk bakteri patogen.

Identifikasi Bakteri

1) Uji Gram

Lalu diuji gram untuk menentukan gram positif atau gram negatif, yang fotonya dapat dilihat seperti pada Gambar 2 berikut:



Gambar 2. Hasil uji gram

2) Uji morfologis

Tabel 2. Data uji morfologis seperti tabel 2 berikut:

No.	Ciri-ciri morfologis	Jenis bakteri/ patogen
1.	-Koloni putih abu-abu -Bentuk keping -Ukuran sedang 6-15 mm	<i>Pseudomonas aureginosa</i>

	-Permukaan kasar -Membentuk pigmen hijau /meng hemodigesti -Berbau obat nyamuk	
2.	-Koloni bulat -Ukuran sedang agak cembung -Menyebar -Berbau ikan asin -Berflagel	<i>Proteus mirabilis</i>
4.	-Koloni bulat -Agak cembung -Pinggir rata -Kuning keputihan Ukuran 2-5 mm	<i>Stapyilococcus aureus</i>
5.	-Koloni bulat -Agak cembung -Pinggir rata -Putih agak kecil	<i>Staphylococcus epidermidis</i>

3) Uji Biokimia yaitu uji katalase, uji koagulase dan uji Novobiocin.

Dari uji- uji yang telah dilakukan terhadap 42 isolat maka didapatkan data seperti Tabel 3 . berikut

Tabel 3. Hasil Identifikasi bakteri patogen yang ada pada sekret pasien OMSK

No.	Kode sampel	Jenis bakteri patogen
1.	MJ. 1	<i>Staphylococcus 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>Candida sp</i>
6.	MJ.6	<i>Candida sp</i>
7.	MJ.7	<i>Proteus mirabilis</i>
8.	MJ.8	<i>Staphylococcus aureus</i>
9.	MJ.9	<i>Staphylococcus aureus</i>
10.	MJ.10	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
11.	Kop 1	<i>Staphylococcus aureus</i>
12.	Kop 2	<i>Klebsiela sp</i>
13.	Kop 3	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
14.	Kop 4	<i>Staphylococcus aureus</i>
15.	Kop 5	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
16.	Kop 6	<i>Staphylococcus aureus</i>
17.	Kop 7	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
18.	Kop 8	<i>Staphylococcus aureus</i>
19.	Kop 9	<i>Staphylococcus aureus</i>
20.	Kop 10	<i>Staphylococcus aureus</i>
21.	Kop 11	<i>Pseudomonas aureginosa</i>

22.	Kop 12	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
23.	Kop 13	<i>Staphylococcus aureus</i>
24.	Kop 14	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
25.	Kop 15	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
26.	Kop 16	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
27.	Kop 17	<i>Staphylococcus aureus</i>
28.	Kop 18	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
29.	Kop 19	<i>Staphylococcus aureus</i>
30.	Kop 20	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
31.	Kop 21	<i>Staphylococcus aureus</i>
32.	Kop 22	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
33.	Kop 23	<i>Staphylococcus aureus</i>
34.	Kop 24	<i>Staphylococcus aureus</i>
35.	Kop 25	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
36.	Kop 26	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
37.	Kop 27	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
38.	Kop 28	<i>Staphylococcus aureus</i>
39.	Kop 29	<i>Staphylococcus aureus</i>
40.	Kop 30	<i>Pseudomonas aureginosa</i>
41.	Kop 31	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
42.	Kop 32	<i>Pseudomonas aureginosa</i>

Dari Tabel 3. diatas dapat dilihat bahwa jenis bakteri patogen yang berhasil diisolasi dan diidentifikasi ada 4 dimana jumlah yang paling banyak adalah bakteri *Pseudomonas aureginosa* sebanyak 24 isolat diikuti oleh *Staphylococcus aureus* sebanyak 16 isolat dan sedikit yaitu masing-masing 1 isolat dari *Staphylococcus aureus* dan *Proteus mirabilis*.

Bila dibandingkan penelitian yang telah lalu bakteri yang ada di sekret pasien OMSK sering dilaporkan adalah *Pseudomonas aureginosa* dan *Staphylococcus aureus*. Seperti data yang ada pada poliklinik THT-KL RS Dr.M.Djamil Padang Periode 1 Januari 2010-31 Desember 2012 bakteri patogen yang berhasil diisolasi dari sekret penderita OMSK adalah *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus sp*, *Klebsiella sp*, dan *Haemophilus influenza* lebih banyak jenis nya dari pada yang ada pada penelitian ini. Bisa jadi karena pada penelitian ini jumlah sampel nya baru ada 42 sampel. Bila sampelnya ratusan atau lebih banyak dan waktu pengumpulan sampel nya lebih lama berkemungkinan jenis isolat yang didapatkan akan lebih banyak. Atau memang mungkin sudah berkurang jumlah jenis bakteri patogennya yang dapat diartikan kondisi kesehatan masyarakat sudah semakin bagus.

KESIMPULAN

Dari Isolasi bakteri patogen yang ada pada cairan telinga atau sekret pasien Otitis Media Suppurativ Kronis (OMSK) didapatkan sebanyak 42 isolat yang dapat dikelompokkan kedalam 4 jenis yaitu : *Pseudomonas aureginosa*, *Staphilococcus aureus*, *Staphilococcus epidermidis*, , *Klebsiela* sp. Penderita OMSK yang berumur dibawah 20 tahun sebanyak 40 % dan diatas 20 tahun 60%. Penderita OMSK laki – laki 50 % dan wanita 50 %

DAFTAR PUSTAKA

- Gopala. K. 2010. Coconut Oil: Chemistry, Production and Its Applications –A Review *Indian Coconut Journal*: 15-27
- Handayani, R, Sulystio, J, Rita ,R.D. 2009. Extraction of Coconut Oil (*Cocos nucifera* L.) through Fermentation System. *BIO DIVERSITAS* ,10,(3), 151-157.
- Luz. A , Bernard, B, Déborah M, , Manuel ,Z, Gaspar. P, María J. 2010. Characterization of a novel *Lactobacillus* species closely related to *Lactobacillus johnsonii* using a combination of molecular and comparative genomics methods 11:504
- Mustaque, A, Salman, M (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, Bacteriological Profile and Their Antibiotic Susceptibility Pattern of Cases of Chronic Suppurative Otitis Media. *Asian J Pharm Clin Res*, Vol 6, Suppl 3, 2013, 210-212
- Rajahmundry. 2012. Aerobic bacteriology of chronic suppurative otitis media in Rajahmundry, Andhra Pradesh, India. *Biology and Medicine*, 4 (2): 73-79.
- Sadiyah. 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 Reaction of Virgin Coconut Oil (VCO) Fermentation in an Ideal Bioreactor Tank in a Batch Process. *J. Chem. Chem. Eng.* 7 : 159-163.
- Shyamala dan P. S. R. 2012. The study of bacteriological agents of chronic suppurative otitis media - Aerobic culture and evaluation *J. Microbiol. Biotech. Res.*, 2012, 2 (1):152-162

Suryani, Dharma. A. 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, Abdi Dharma. 2014. DDBJ (Data DNA Bank Jepang) (acession number)AB890143.