

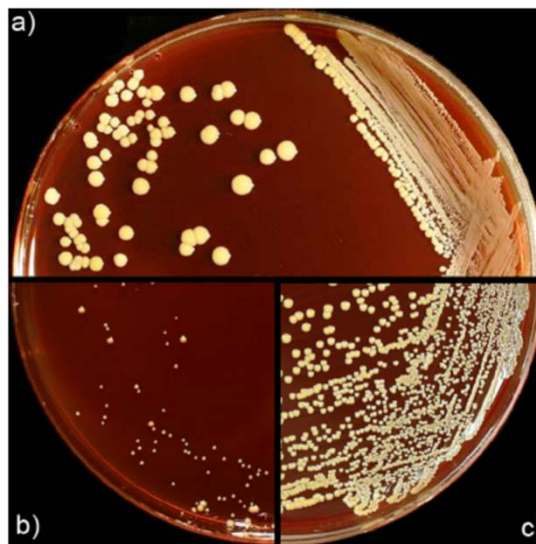
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. *Staphylococcus aureus*

Stafilokokus merupakan jenis sel sferis gram-positif, yang biasanya tersusun dalam kelompok seperti anggur yang tidak teratur dan juga stafilokokus dapat tumbuh dengan mudah di berbagai medium dan aktif secara metabolik, melakukan fermentasi karbohidrat dan menghasilkan pigmen yang bervariasi dari putih hingga kuning (Jawetz, *et al.*, 2007). Pada mikroskopi bakteri ini terlihat bergerombol seperti buah anggur, warna koloninya kuning keemasan dalam pengamatan pada mikroskop juga warnanya yang kuning keemasan (Brown & Cookson, 2003).



Gambar 1 Gambar makroskopik *Staphylococcus aureus*
(Latimer,*et al.*, 2012).

Staphylococcus aureus bersifat koagulasi-positif, yang membedakan dari spesies lainnya. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang terdistribusi secara global yang berpotensi menyebabkan penyakit yang serius dan fatal. Organisme ini memiliki faktor virulensi yang kuat, kemampuan bertahan, dan resistensi antimikrobia. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan infeksi di bagian tubuh manapun (Simor & Loeb, 2009).

Sistem klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bakteri
Divisi	: Eubacteric
Subdivision	: Firmicutes
Class	: Cocci
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Irianto, 2006).

Stafilokokus memproduksi katalase, memfermentasikan karbohidrat secara lambat tapi tidak menghasilkan gas. Stafilokokus resisten terhadap pengeringan, panas (tahan pada suhu 50⁰ C selama 30 menit), dan natrium klorida 9% tetapi mudah di hambat. Oleh bahan kimia tertentu, seperti heksaklorofen 3% (Jawetsz, *et al.*, 2007).

Stafilokokus dapat menyebabkan penyakit baik melalui kemampuannya untuk berkembang biak dan meanyebar luas di jaringan serta

dengan cara menghasilkan berbagai substansi ekstraseluler. Beberapa substansi tersebut adalah enzim, lainnya dianggap sebagai toksin, tetapi dapat berfungsi sebagai enzim (Jawetsz, *et al.*, 2007).

Staphylococcus aureus menghasilkan koagulase, suatu protein mirip enzim yang dapat menggumpalkan plasma yang mengandung oksalat atau sitrat. Memproduksi koagulase dianggap samadengan memiliki potensi menjadi patogen invasif. *Staphylococcus aureus* juga memiliki toksin yaitu leukosidin yang dapat membunuh sel darah putih pada manusia (Jawetsz, *et al.*, 2007).

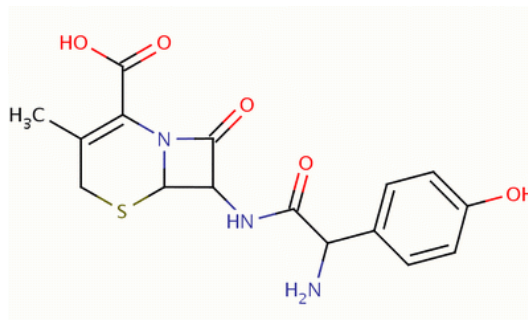
Staphylococcus aureus merupakan satu dari bakteri yang paling sering menyebabkan sepsis, infeksi luka dan kulit, osteomyelitis, endokarditis, infeksi nosokomial terutama pneumonia, infeksi area bedah, dan berlanjut menjadi penyebab utama dalam infeksi komunitas (Tara, Das, & Kumar, 2013). Bahkan, menurut Mohamed, *et al.*, (2014) *Staphylococcus aureus* tidak hanya mampu menginvasi osteoblas, tetapi juga dapat berproliferasi di dalamnya. Simor & Loeb (2009) menyatakan bahwa pada 10 tahun terakhir perkembangan signifikan dalam evolusi *Staphylococcus aureus* meliputi (MRSA) nosokomial, perkembangan resistensi glikopeptida pada staphylococci, dan penyebaran infeksi *Staphylococcus aureus* pada rumah sakit.

2. Sefadroksil

Antibiotik jenis sefalosporin yang bekerja menghambat sintesis pada dinding sel bakteri dan juga sering diresepkan untuk penanganan kasus infeksi. Sefalosporin dibedakan menjadi beberapa golongan berdasarkan struktur molekulnya, aktifitasnya, dan stabilisasinya terhadap beta-laktam (Karchmer, 2009 dalam Rahim, 2014). Generasi pertama dari sefalosporin termasuk di dalamnya adalah sefaridin, sefaleksin, sefadroksil, sefazolin dan sefalotoin. Sefadroksil merupakan derivat dari sefaleksin untuk perawatan infeksi dari yang baik sampai sedang dengan dosis penggunaannya 500 sampai 1000 mg/hari (Shetty, 1999 dalam Rahim, 2014).

Seperti yang sudah dijelaskan diatas sefadroksil adalah generasi pertama dari antibiotik golongan sefalosporin, yang digunakan untuk menyembuhkan infeksi dari saluran kemih, kulit dan infeksi dari struktur kulit, faringitis, dan tonsillitis. Seperti antibiotik golongan beta-laktam yang lainnya, sefadroksil menghambat penisilin spesifik penghambat protein (PBPs) yang terdapat di dalam dinding sel bakteri, menyebabkan terjadinya penghambatan pada tahap ketiga dan terakhir dari proses sintesis bakteri (Kalyani, 2010). Sefadroksil merupakan antibiotik monohidrat yang berupa serbuk kristalin putih kekuningan yang agak sukar larut dalam air (1110 mg/L) dan sangat sukar larut dalam etanol dengan struktur kristal dilaporkan jenis ortorombik (Nugrahan,*et al.*, 2013).

Dengan struktur kimia dari sefadroksil adalah a 7-[[2-amino-2-(4-hidroksifenil) asetil]amino]-3-metil-8-oxo-5-thia-1-azabisiklo [4.2.0] oct-2-ene-2-karboksil-asid.



Gambar 2: Struktur kimia Sefadroksil (Kalyani, *et al.*, 2010).

sefadroksil merupakan antibiotik yang mempunyai spektrum kerja aktif terhadap bakteri gram-positif seperti *Stapylococcus sp.*, *Streptococcus sp.* dan *Pnumonia sp.* (Susidarti, 2008). Menurut Tjay dan Rahardja (2002) dalam Susidarti (2008) mengatakan bahwa senyawa tersebut juga aktif terhadap bakteri gram-negatif seperti *Eschericia coli*, *Neisseria gonorrhoea*, *Klabsiella pneumonia*, *proteus mirabilis* dan *Haemophillus influenza*.

Dari penelitian pola resistensi bakteri didapatkan bahwa secara keseluruhan saat 46 antibiotik di periksa, 40 dari antibioti tersebut resisten terhadap bakteri. Resistensi tertinggi ditunjukkan oleh jenis antibiotik metronidazole, sefaleksi, sefuroksim, oksasilin dan sefadroksil (Nurmala, 2015). Nurmala, (2015) juga mengatakan metronidazole memiliki resistensi paling tinggi yaitu (96,43%), kemudian disusul tertinggi berikutnya adlah sefaleksin (95,8), sefuroksim (92,2%) dan sefadroksil (91,5%). Mekanisme

resistensinya adalah ketidakmampuan antibiotik untuk mencapai tempat kerjanya atau perubahan dalam PBP yang adalah merupakan targetnya. Ketidakmampuan antibiotik untuk mencapai target karena bakteri menghasilkan enzim beta-laktamase, baik bakteri gram positif maupun bakteri gram negative. Bakteri gram positif mensekresikan enzim beta-laktamase keluar sel dalam jumlah yang besar sehingga obat yang akan menembus dinding sel menjadi rusak dan tidak aktif. Sedangkan bakteri gram negatif hanya sedikit mensekresikan enzim beta-laktamase tapi tempatnya sangat strategis yaitu pada ruang periplasma.

3. Lisozim

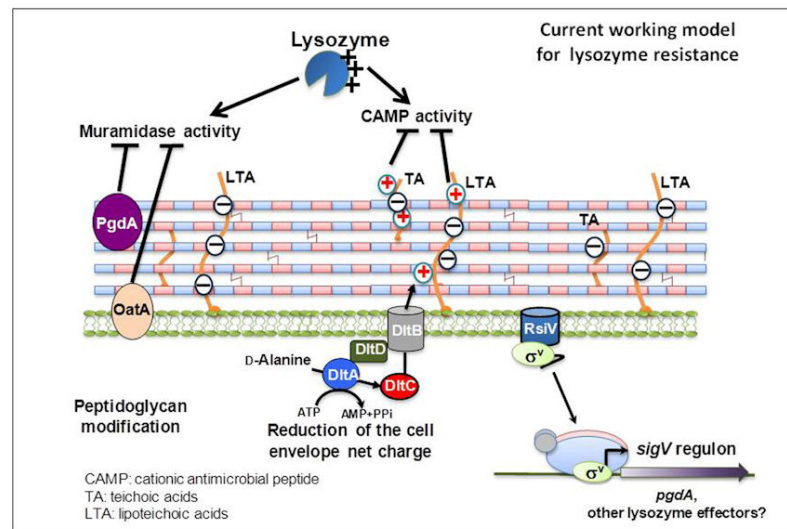
Lisozim atau nasetil neuramide glikan hidrolase, suatu enzim penghidrolisis yang dapat membunuh kuman tertentu. Enzim ini ditemukan oleh Alexander Fleming (1921), penemu penisilin. Enzim ini terdapat dalam cairan hidung, air liur, airmata, sel darah putih, selaput lendir lambung dan putih telur. Lisozim merupakan suatu protein dengan berat molekul 14.600, yang terdiri atas 129 asam amino berbentuk rantai polipeptida tunggal, dengan empat ikatan silang. Gugus aktifnya adalah dua gugus karboksil. β – 1,4 Nac-N- Asetil yang melisis sel bakteri gram positif, namun spektrum lisis dari lisozim hanya terbatas bekerja terhadap gram positif. Pemanfaatan lisozim agar dapat bekerja dengan efektif pada bakteri gram negatif, maka lisozim ditumbuhkan dengan bahan perusak membran seperti detergen dan *chelator* (Melani, *et al.*, 2013).

Enzim lisozim pada berbagai macam cairan jaringan dapat menyebabkan lisis bakteri. Enzim tersebut bekerja dengan memecah ikatan mukopetida dinding sel, jika lisozim bekerja terhadap kuman gram positif dalam lingkungan larutan hipertonik terjadilah bentuk protoplas yang terdiri dari membran sitoplasma dan isinya. Jika terjadi pada kuman gram negatif hasilnya adalah sferoplas. (Dwijoseputro, 1986).

Lisozim merupakan suatu senyawa protein yang mengandung antibiotik yang dapat menghancurkan beberapa bakteri, sehingga dapat membantu untuk mencegah terjadinya kerusakan yang dikarenakan oleh aktivitas bakteri (Idris, 1995). Fungsi lisozim adalah melisis sel bakteri sebagai pertahanan konstitutif melawan bakteri patogen. Beberapa bakteri gram positif sangat sensitif terhadap lisozim meskipun dalam konsentrasi yang sangat rendah. Sekresi lakrimal (air mata) dengan pengenceran 1:40.000 tetap memiliki kemampuan untuk melisis beberapa sel bakteri. Bakteri gram negatif kurang rentan untuk diserang oleh lisozim karena peptidoglikannya dilindungi oleh membran luar. Sasaran pemecahan oleh lisozim adalah di ikatan 1,4 antara asam N-asetilmuramat dan N-asetilglukosamin (Tommie Prasetyo, 2009).

Aktifitas antimikroba lisozim terbatas terhadap strain Gram positif (Lesnierowski, Kijowski, and Stangierski, 2003). Pada bakteri Gram positif, kandungan Peptidoglikan dinding selnya lebih banyak daripada lipid, dan sebaliknya pada bakteri Gram negatif, pada dinding selnya kandungan lipid lebih banyak daripada peptidoglikan (Sumarsih, 2003). Perbedaan antara

dinding sel bakteri gram positif dan bakteri gram negative. Lisozim, suatu enzim yang melarutkan dinding sel beberapa bakteri, terdapat di kulit dan dapat membantu memberikan perlindungan, terhadap beberapa mikroorganisme. Lisozim, jua ada dalam air mata dan secret pernapasan serta serviks (Jawetz, *et al.*, 2007).



Gambar 3 Cara kerja lisozim (Stephane, 2014).

4. Kadar Hambat Minimum

Kadar Hambat Minimum (KHM) didefinisikan sebagai angka minimum dari konsentrasi antimikrobal yang akan kelihatan dengan jelas menghambat masa pertumbuhan mikroba setelah masa inkubasi. KHM digunakan pada laboratorium sebagai perantara diagnostik untuk mengkonfirmasi adanya resistensi antimikroba tersebut (Andrews, 2001).

Setelah diperoleh nilai KHM tunggal dan KHM kombinasi, dapat dilakukan perhitungan nilai kadar hambat fraksional (KHF) dan indeks kadar hambat fraksional (IKHF), yang akan digunakan untuk menentukan bagaimana efek kombinasi sefadroksil dan lisozim terhadap *Staphylococcus*

aureus. Kadar hambat fraksional (KHF) adalah perbandingan antara KHM kombinasi dengan KHM tunggal pada masing-masing antibiotik. Sedangkan IKHF adalah penjumlahan dua KHF antibiotik.

Dengan metode checkerboard, sinergisme didefinisikan sebagai IKHF sebesar 0.5 atau kurang, dan aditivitas (sinergi parsial) 1.0; antagonisme didefinisikan dengan IKHF lebih dari 4,0. Indeks kadar hambat fraksional (IKHF) 2.0 cenderung mengindikasikan indiferen (tidak ada interaksi). Saat indeks KHF berkisar pada 0.5 sampai 4.0, akan sulit membedakan antara “indiferen” dan “aditif” (Pillai, Moellering Jr., & Eliopoulos, 2005)

Kalkulasi indeks KHF untuk kombinasi dua antimikrobia

$$\frac{(A)}{(KHM_A)} + \frac{(B)}{(KHM_B)} = KHF_A + KHF_B = \text{indeks KHF}$$

Dengan (A) adalah konsentrasi obat A dalam tabung dengan kadar hambat paling rendah pada barisnya. (KHMA) adalah KHM organisme terhadap obat A saja. KHFA adalah kadar hambat fraksional dari obat A. (B) adalah konsentrasi obat B dalam tabung dengan kadar hambat paling rendah pada kolomnya. (KHMB) dan KHFB didefinisikan sama seperti untuk obat B.

Uji aktivitas antimikroba bisa dilakukan dengan beberapa metode, yaitu metode difusi dan metode pengenceran. *Disc diffusion test* atau uji difusi disk dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (*clear zone*) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri. Syarat jumlah bakteri untuk uji kepekaan/

sensitivitas yaitu 10^5 - 10^8 CFU/ml (Hemawan, *et al.*, 2007).

Aktivitas antimikroba diukur secara *in vitro* supaya dapat ditentukan potensi suatu zat antimikroba dalam larutan, konsentrasi dalam cairan badan dan jaringan, dan kepekaan suatu mikroba terhadap konsentrasi obat yang dikenal (Jawetz,*et al.*, 1996). Zat antimikrobia terdiri dari antijamur dan antibakterial (Pelczar dan Chan, 2009).

Jawetz, *et al.*, (2008) juga mengungkapkan bahwa aktivitas antibakteri dapat diukur dengan menggunakan metode:

a. Metode Dilusi

Sejumlah zat antimikroba dimasukkan ke dalam medium bakteriologi padat atau cair. Biasanya digunakan pengenceran dua kali lipat (\log_2) zat anti mikroba. Tujuan akhirnya adalah untuk mengetahui seberapa banyak jumlah zat antimikroba yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri yang diuji. Keuntungan uji dilusi kaldu mikrodilusi adalah bahwa uji tersebut memungkinkan adanya hasil kuantitatif, yang menunjukkan jumlah obat tertentu yang diperlukan untuk menghambat (atau membunuh) mikroorganisme yang diuji. Metode dilusi cair dibagi menjadi dua yaitu :

1) Metode dilusi cair/*broth dilution test*

Metode ini mengukur MIC (minimum inhibitory concentration atau kadar hambat minimum, KHM) dan MBC (minimum bactericidal concentration atau kadar bunuh minimum, KBM). Prinsip metode pengenceran adalah senyawa antibakteri diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi, kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan suspensi bakteri uji dalam media cair. Perlakuan tersebut akan diinkubasi dan diamati ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri, yang ditandai dengan terjadinya kekeruhan. Larutan uji senyawa antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri uji, ditetapkan sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM) atau *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC). Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan bakteri uji ataupun senyawa antibakteri, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai Kadar Bunuh Minimal (KBM) atau *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC) (Pratiwi, 2008).

2) Metode dilusi padat/*solid dilution test*

Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (solid). Keuntungan metode ini adalah suatu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat

digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi, 2008).

b. Metode Difusi

Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan. Metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu metode silinder, metode lubang/sumuran dan metode cakram kertas. Metode lubang/sumuran yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diinjeksikan dengan ekstrak yang akan diuji. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang (Kusmayati dan Agustini, 2007).

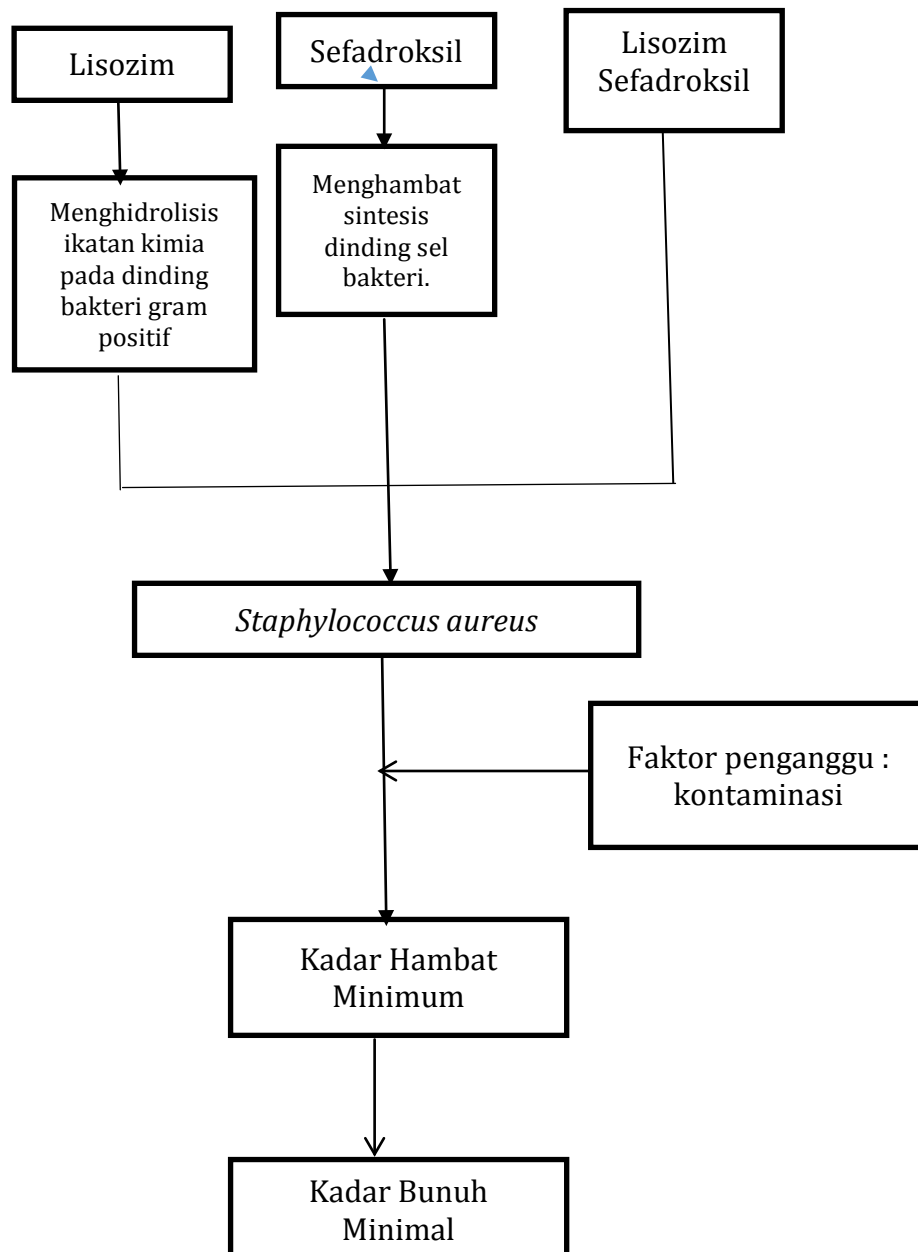
Metode yang paling sering digunakan dalam meneliti aktifitas antimikroba adalah metode difusi padat (agar), dengan keuntungan mudah untuk dikerjakan, lebih ekonomis, cepat dan hasil pembacaanya lebih mudah (Sherris & Ryan, 1994).

B. Landasan Teori

Lisozim adalah suatu enzim yang terdapat pada tubuh manusia yang mempunyai efek antibakteri. Enzim lisozim pada berbagai macam cairan jaringan dapat menyebabkan lisis bakteri. Ia bekerja dengan memecah

ikatan mukopetida dinding sel pada bakteri gram-positif seperti *Staphylococcus aureus*. Pada penelitian ini enzim lisozim akan di kombinasikan dengan antibiotik beta laktam yaitu jenis golongan sefalosporin yang mempunyai fungsi menghancurkan dinding seldari bakteri. Antibiotik golongan sefalosporin yang digunakan adalah golongan sefadroksil, antibiotik ini dikenal telah resisten terhadap bakteri gram positif terutama *Staphylococcus aureus*. Kombinasi dari lisozim dan sefadroksil akan di ujikan pada bakteri *Staphylococcus aureus*, sehingga analisis selanjutnya dapat dilihat bahwa kombinasi lisozim dan sefadroksil diharapkan akan dapat menjadi obat alternatif baru untuk membantu mengobati infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*. Dengan melihat fungsi lisozim sebagai pelisis dinding sel pada bakteri yang akan di gabungkan dengan antibiotic sefadroksil yang mempunyai peranan dalam menghancurkan peptidoglikan dinding bakteri gram positif diharapkan penelitian ini akan berhasil dalam menangani kasus infeksi yang disebabkan oleh bakteri gram positif seperti *Staphylococcus aureus*.

C. Kerangka Konsep



Gambar 4 Kerangka Konsep

D. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori dan tinjauan pustaka diatas, maka hipotesis dari penelitian ini adalah:

1. Lisozim dan sefadroksil memiliki efek antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.
2. Kombinasi lisozim dengan sefadroksil mampu menurunkan kadar hambat minimal sefadroksil terhadap *Staphylococcus aureus*