

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. *Streptococcus pneumoniae*

Streptococcus pneumoniae termasuk jenis diplokokus gram positif, yang memiliki bentuk lanset atau tersusun seperti rantai dengan disertai kapsul polisakarida yang dapat digunakan untuk menentukan tipe antiserum spesifik. Pada sputum atau pus bakteri ini terlihat kokus tunggal atau rantai kokus. Mikroskopis ini pada biakan membentuk koloni bulat kecil, yang awalnya berbentuk kubah dan kemudian timbul lekukan dibagian tengahnya dengan pinggiran yang meninggi (Jawetz *et al.*, 2007).

Streptococcus pneumoniae bersifat α -hemolitik yang berbeda dengan bakteri lainnya, pertumbuhannya ditingkatkan oleh 5–10% CO₂. *Streptococcus pneumoniae* merupakan salah satu dari bakteri yang paling sering menyebabkan penyakit pneumoniae sebanyak 50 – 75% dengan data yang didapatkan dari komunitas dimana 25 – 30% akan menimbulkan terjadinya bakteremia. Bakteremia merupakan komplikasi penting yang dapat diperoleh dengan mortalitas dan insidensi skuele yang tinggi beserta pengobatannya. Bakteri ini penyebab tersering pada orang dewasa dengan usia rata-rata diatas 40 tahun dan pada anak merupakan penyebab meningitis tersering kedua dimana vaksinasi *Haemophilus influenzae* tipe b (Hib) di berikan didalam komunitas (Irianto, 2013). *Streptococcus pneumoniae* dapat menimbulkan penyakit seperti pneumoniae, sinusitis, otitis, bronkitis,

meningitis dan proses infeksi pada jaringan lainnya. Organisme ini virulensinya ditentukan oleh kapsulnya yang dapat mencegah atau menghambat fagositosis. *Pneumococcus* memiliki struktur komponen peptidoglikan dan asam teikonat dimana polisakarida kapsular berikatan secara kovalen dengan peptidoglikan dan polisakarida dinding sel (Jawetz *et al.*, 2007).

Bakteri memiliki dinding sel yang memiliki fungsi kompleks terutama memberikan bentuk karakteristik bakteri dan sebagai selubung untuk melindungi protoplasma. Bakteri juga mempunyai makromolekul yang terdapat pada dinding sel yaitu peptidoglikan, peptidoglikan memiliki fungsi penting pada kehidupan bakteri untuk memelihara keutuhan dinding dan bentuk sel karena terdapat struktur melintang dan berhubungan sangat erat. Dinding sel bakteri gram positif mengantung 50-100 lapisan peptidoglikan (Siswandono, 2016).

Streptococcus pneumoniae telah mengambil sebagian gen protein pengikat Penisilin dari bakteri lain yang masih berkerabat. Gen yang diambil dari bakteri lain di aplikasikan di *pneumoniae* sehingga memproduksi protein yang berikatan dengan Penisilin lebih lemah, maka dari itu sintesis peptidoglikan dan dinding sel tidak rusak sehingga menyebabkan resistensi pada Penisilin (Irianto, 2013).

Sistem klasifikasi *Streptococcus pneumoniae* adalah sebagai berikut:

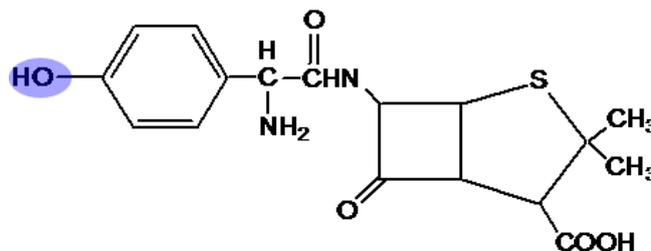
Kingdom : Bakteria
Subdivision : Firmicutes
Class : Diplococci
Ordo : Lactobacillales
Famili : Streptococcaceae

Genus : Streptococcus

Spesies : *Streptococcus pneumoniae* (Jawetz *et al.*, 2005)

2. Amoksisilin

Antibiotik jenis β -laktam salah satunya golongan Penisilin yang bekerja dalam menghambat sintesis dinding sel bakteri dan dapat menangani penyakit infeksi. Amoksisilin merupakan turunan dari Penisilin yang aktif terhadap bakteri gram positif. Golongan dari Penisilin semisintetik spektrum luas termasuk didalamnya adalah Ampisilin, Amoksisilin, Episilin, Karbenisilin, Piperasilin, Tikarsilin, Mezlosilin, Azlosilin, dan Karbenesilin (Irianto, 2013). Amoksisilin memiliki sifat tahan asam karena ada gugus penarik elektron, O, atau N pada posisi $C\alpha$ sehingga mencegah penataulangan menjadi asam amilat yang terjadi pada suasana asam. Amoksisilin juga mempunyai spektrum yang luas karena ada gugus hidrofil, seperti NH_2 . Amoksisilin lebih efektif dibandingkan Penisilin pada absorpsi obat dalam saluran cerna yaitu 80%-90%, sehingga memiliki efek pada saluran seni dan kadar darah dalam plasma lebih tinggi. Struktur dan nama kimia dari Amoksisilin adalah asam (2S, 5R, 6R)-6[[(2R)-2-amino-2-(4-hidroksifenil)asetil]-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-aza-isiklo [3,2,0] heptana-2-karboksilat (Kaur *et al.*, 2011).



Gambar 1. Struktur Amoksisilin
(Nanda *et al.*, 2011)

Amoksisilin termasuk golongan β -laktam memiliki kerja untuk menghambat biosintesis peptidoglikan sehingga dapat menyebabkan kekuatan atau sumber tenaga dari dinding sel sehingga sel mengalami kematian. Peptidoglikan tersebut memiliki kandungan struktur rangka dasar yaitu rantai oligosakarida yang dihubungkan melalui rantai cabang peptida pendek sedangkan rantai glikan mengandung residu pengganti yaitu N-asetilglukosamin dan asam N-asetilmuramat. Pada residu muramil diganti dengan peptida yang mengandung residu pengganti yaitu L dan D asam amino, asam amino memiliki rantai peptida adalah L-alanin-D-asamglutamat-L-alanin-D-alanin. Penisilin memiliki struktur yang sama seperti struktur bakteri yaitu asam N-asetil muramat, D-alanil-D-alanin dan L-alanil-D-asam glutamate, sehingga dapat menghambat kerja enzim transpeptidase pada mekanisme reaksi hubungan melintang antara peptidoglikan dengan enzim transpeptidase dengan cara mengikat enzim melalui ikatan kovalen sehingga dapat mencegah pembentukan dinding sel bakteri. Pada mekanisme kerja antibiotik β -laktam tersebut ditunjukkan serangan pada nukleofil dari gugus hidroksil ke enzim transpeptidase pada karbonil karbon cincin β -laktam yang bermuatan positif sehingga dapat menghambat biosintesis peptidoglikan yang menyebabkan dinding sel lemah, kemudian mendapat tekanan dari dalam dinding sel akan pecah dan lisis sehingga bakteri akan mengalami kematian (Siswando, 2016).

Amoksisilin adalah turunan golongan Penisilin yang digunakan untuk menyembuhkan infeksi saluran pernafasan, otitis, saluran kemih dan endocarditis. *Streptococcus pneumoniae* resisten terhadap golongan β -laktam seperti Amoksisilin

disebabkan karena perubahan atau hilangnya PBP (Penisilin Binding Protein). Mekanisme hilangnya PBP dikarenakan *Streptococcus pneumoniae* mengalami mutasi spontan di lokus yang mengontrol kerentanan terhadap obat antimikroba sehingga kerentanan pada obat antimikroba berubah. umumnya mutasi spontan memiliki frekuensi normal 10^{-12} – 10^{-17} sehingga jarang menimbulkan resistensi obat klinis, namun resistensi terjadi pada kasus tertentu dimana mutan kromosom dengan frekuensi tinggi 10^{-7} – 10^{-5} sehingga dapat menyebabkan hilangnya reseptor atau PBP resisten pada obat golongan β -laktam (Jawetz *et al.*, 2007).

Di daerah Papua Nugini ditemukan strain bakteri yang resisten terhadap Penisilin, selain daerah Papua resistensi Penisilin ditemukan di daerah Afrika Selatan, Jepang, Spanyol, dan diseluruh Dunia. Di Amerika Serikat, 5–10% *Pneumococcus* resisten terhadap Penisilin (MIC > 2 μ g/ml) dan sekitar 20% resisten sedang (MIC 0,1–1 μ g/ml). Resistensi terjadi karena perubahan perubahan pengikat Penisilin dan resisten terhadap *Pneumococcus* cenderung klonal. Selain golongan Penisilin, *Pneumococcus* resisten terhadap Eritromisin, Tetrasilin, Trimetripin dan Sulfametoksazol (Jawetz *et al.*, 2007).

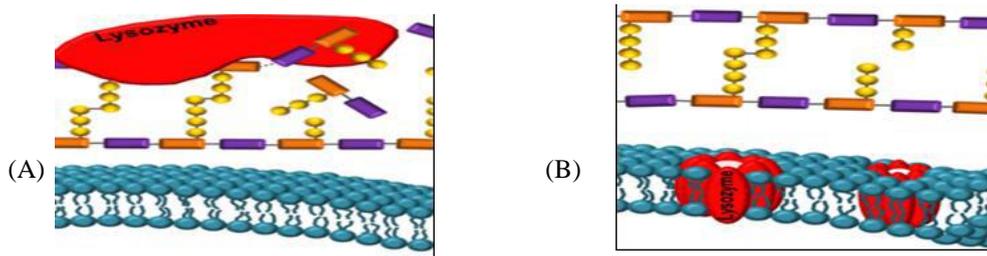
3. Lisozim

Lisozim memiliki rantai polipeptida tunggal yang terdiri atas 129 asam amino yang dihubungkan dengan ikatan peptida kovalen. Lisozim memiliki asam amino ujung C berupa leusin dengan gugus karboksil bebas dan asam amino ujung N berupa lisin dengan gugus amin bebas. Molekul lisozim memiliki empat jembatan disulfida (S-S) bersama dengan enam bagian helix yang menjaga stabilitas lisozim terhadap panas. Molekul lisozim termasuk molekul kompleks yang

susunanya padat dan mempunyai bentuk yang menyerupai ellipsoid dengan dimensi $4,5 \times 3,0 \times 3,0$ nm (Cegielska-Radziejewska *et al.*, 2008).

Lisozim digunakan dalam bidang industri, farmasi dan pakan ternak. Aktivitas kerjanya untuk mencegah timbulnya bakteri patogen dan mencegah kerusakan pangan dari bakteri perusak. Enzim ini lebih aktif terhadap bakteri gram positif tapi masih perlu dibutuhkan alternatif sehingga daya anti bakteri lisozim lebih efektif. Penggunaan alternatif lainnya dapat dilakukan dengan cara melalui perlakuan panas dan enzimatis agar meningkatkan aktivitas antibakteri lisozim (Kusumaningtyas *et al.*, 2018).

Lisozim merupakan suatu senyawa protein yang mengandung antibiotik yang berfungsi untuk menghancurkan beberapa bakteri sehingga dapat membantu untuk mencegah terjadinya kerusakan yang disebabkan oleh bakteri. Pada cara kerja antibakteri lisozim dengan bakteri gram positif dapat melalui hidrolisis ikatan glikosidik β 1-4 karbon homopolimer N-acetylglucosamine (NAG) dan karbon heteropolimer N-acetylmuramic acid (NAM) dari peptidoglikan dinding sel bakteri yang diilustrasikan pada Gambar 2A (Susanto, 2012). Lisozim akan kerjanya lebih aktif dengan bakteri gram positif dibandingkan pada bakteri gram negatif karena gram negatif memiliki komponen membran luar seperti lipopolisakarda sebagai perlindungan (Wulandari *et al.*, 2015) dan komponen membran dalam sel bakteri yang terdiri dari lapisan-lapisan sehingga lebih sulit dirusak (Lesnierowski *et al.*, 2001). Gambar 2B memperlihatkan mekanisme penyisipan lisozim melalui membran sehingga terbentuk lubang.



Gambar 2. Aksi lisozim pada membrane bakteri.

A. Pemutusan ikatan glikosidik

B. Penyisipan lisozim pada membrane.

(Sumber: Stephanie & Alson, (2017))

Lisozim aktifitas antimikrobanya memiliki strain gram positif dengan jumlah terbatas (Kijowski *et al.*, 2001). Pada kandungan bakteri gram positif terdapat dinding sel peptidoglikan yang lebih banyak dari pada lipid, sedangkan kandungan dari bakteri gram negatif lipidnya lebih banyak kandungannya dari pada peptidoglikannya (Sumarsih, 2003). Lisozim digunakan sebagai antibakteri yang dapat melisiskan dinding sel bakteri gram positif tertentu dengan cara memutus ikatan antara Asam N-acetilmuramic dan N-glucosamin dalam peptidoglikan, sehingga terjadi kerusakan pada membran dinding sel bakteri (Susanto, 2012).

4. Kadar Hambat minimum

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

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 10⁵-10⁸ CFU/ml (Hemawan *et al.*, 2007).

Antimikroba diukur secara *in vitro* supaya dapat ditentukan potensi suatu zat antimikroba dalam larutan, konsentrasi dalam cairan badan serta jaringan, dan kepekaan suatu mikroba terhadap konsentrasi obat yang dikenal (Jawetz *et al.*, 2018). Aktivitas antibakteri dapat diukur dengan menggunakan metode:

a. Metode Dilusi

Sejumlah zat antimikroba dimasukkan kedalam medium bakteriologi padat atau cair. Biasanya digunakan pengenceran dua kali lipat (log₂) 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 padat

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).

2) Metode dilusi cair

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 tepat terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai kadar bunuh minimal (KBM) atau Minimal Bactericidal Concentration (MBC) (Pratiwi, 2008).

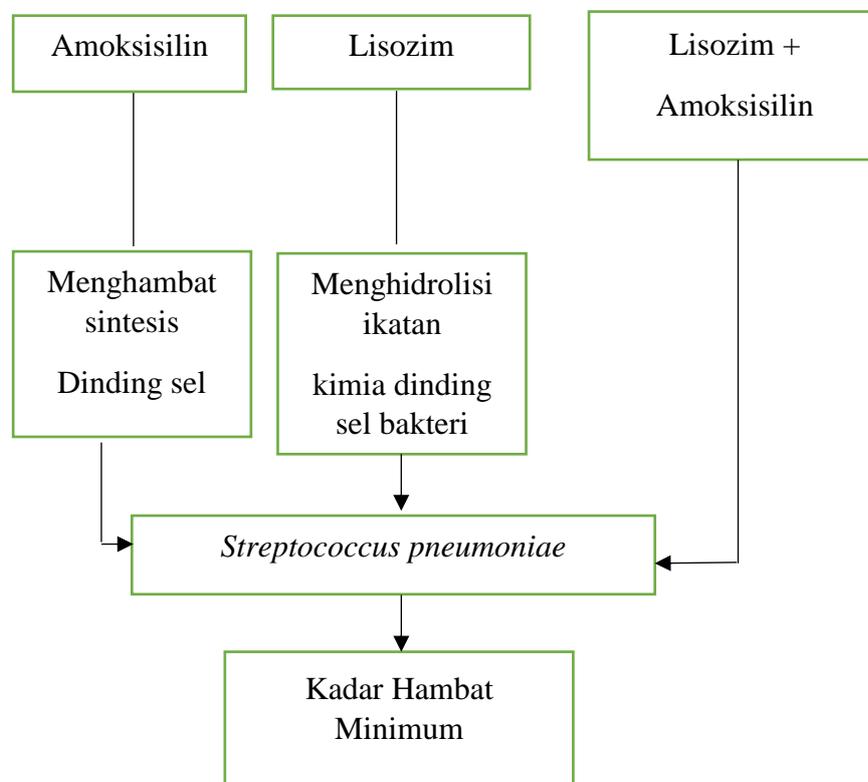
b. Metode Difusi

Metode difusi merupakan salah satu atau metode yang sering digunakan. Metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu metode silinder, metode cakram luas dan metode sumuran/lubang. Metode sumuran/lubang 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 disekeliling lubang (Agustini dan Kusmayati, 2007).

B. Kerangka Teori

Lisozim adalah salah satu enzim yang terdapat pada tubuh manusia yang mempunyai efek antibakteri. Enzim lisozim pada berbagai macam cairan jaringan dapat menyebabkan lisis bakteri. Enzim ini bekerja dengan memecahkan ikatan mukopeptida dinding sel bakteri gram positif seperti *Streptococcus pneumoniae*. Amoksisilin adalah antibiotik yang membunuh bakteri dengan menghambat pembentukan peptidoglikan. Kombinasi lisozim dengan Amoksisilin akan menurunkan kadar hambat minimum terhadap *Streptococcus pneumoniae* resisten Amoksisilin.

C. Kerangka Konsep



Gambar 3. Kerangka Konsep

D. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori dan tinjauan pustaka yang telah dikumpulkan, maka hipotesis dari penelitian ini adalah:

1. Lisozim dengan kadar 300 µg/ml memiliki efek antibakteri terhadap *Streptococcus pneumoniae* resisten Amoksisilin.
2. Kombinasi lisozim dengan amoksisilin mampu menurunkan kadar hambat minimam Amoksisilin terhadap *Streptococcus pneumoniae* resisten Amoksisilin.