

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil Penelitian

Kadar hambat minimum (KHM) dalam penelitian ini didapatkan dari pengamatan tabung reaksi yang tidak menunjukkan kekeruhan (jernih) yang menandakan bahwa tidak ada pertumbuhan bakteri pada tabung reaksi tersebut dengan konsentrasi terendah. *Streptococcus pneumoniae* dikatakan sensitif terhadap Amoksisilin apabila memiliki  $MIC \leq 2$ , intermediet 4 dan resisten  $\geq 8$  (CLSI, 2017)

Hasil penelitian yang dilakukan untuk menentukan kadar hambat minimum dari lisozim, Amoksisilin dan kombinasi lisozim-Amoksisilin terhadap *Streptococcus pneumoniae* dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil penentuan KHM lisozim, Amoksisilin dan lisozim-Amoksisilin

NO	Lisozim (ug/ml)	Amoksisilin (ug/ml)	Lisozim-Amoksisilin (ug/ml)
1	>300 ug/ml	125 ug/ml	12,34 ug/ml
2	>300 ug/ml	125 ug/ml	12,34 ug/ml
3	>300 ug/ml	250 ug/ml	12,34 ug/ml
<b>Rata-rata KHM</b>	>300 ug/ml	166,67 ug/ml	12,34 ug/ml

Pada Tabel 2 di atas bahwa nilai kadar mambat minimum (KHM) Amoksisilin sebesar 166,67  $\mu\text{g/ml}$ , lebih besar dari kadar hambat minimum

kombinasi antara Amoksisilin dengan lisozim sebesar 12,34  $\mu\text{g/ml}$ . Kadar hambat minimum lisozim sebesar  $>300 \mu\text{g/ml}$ , hal ini menunjukkan bahwa lisozim dengan kadar 300  $\mu\text{g/ml}$  tidak memiliki efek antibakteri terhadap *Streptococcus pneumoniae* resisten Amoksisilin (hipotesis 1 ditolak). Pada analisis data menggunakan Uji One Way Anova diperoleh hasil  $p < 0,05$  hal ini membuktikan bahwa kombinasi lisozim dengan Amoksisilin mampu menurunkan kadar hambat minimum Amoksisilin terhadap *Streptococcus pneumoniae* resisten Amoksisilin (hipotesis 2 diterima).

## **B. Pembahasan**

Penelitian ini menunjukkan bahwa kombinasi Amoksisilin dan lisozim dapat menurunkan kadar hambat minimum Amoksisilin terhadap *Streptococcus pneumoniae* resisten Amoksisilin secara signifikan ( $p=0,000$ ), dengan cara adanya pengaruh interaksi dari kedua reaksi antara lisozim dan Amoksisilin yang memiliki kinerja sama dalam menghambat dinding sel bakteri *Streptococcus pneumoniae*. Kinerja antibakteri lisozim lebih aktif terhadap bakteri gram positif dengan cara merusak mekanisme peptidoglikan pada membran dinding sel bakteri (Callewaert *et al.*, 2012; Susanto *et al.*, 2013) sedangkan Amoksisilin termasuk antibiotik golongan  $\beta$ -laktam yang cara kerjanya yaitu berikatan dengan Penisilin Binding Protein (PBP) yang akan menyebabkan terhambatnya proses transpeptidase dan akan memicu aktivasi autolitik enzim pada dinding sel bakteri. Dinding sel bakteri akan lisis dan menyebabkan kerusakan pada sel-sel bakteri. Proses pembunuhan

bakteri melalui mekanisme ini disebut sebagai bakteriosidal (Akhavan BJ *et al.*, 2019).

Hasil tersebut sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh (Pratiwi, 2008) Amoksisilin dapat menghambat sintesis dinding sel dengan cara mencegah ikatan silang peptidoglikan pada tahap akhir sintesis dinding sel sehingga protein pengikat Penisilin (PBP) terhambat. Protein ini merupakan enzim dalam membran plasma sel bakteri yang secara normal terlibat dalam penambahan asam amino yang berikatan silang dengan peptidoglikan dinding sel bakteri dan menghambat aktivitas enzim transpeptidase yang membungkus ikatan silang polimer-polimer gula panjang yang membentuk dinding sel bakteri sehingga dinding sel bakteri menjadi rapuh dan mudah lisis. Dari fungsi lisozim merupakan suatu senyawa protein yang mengandung antibiotik dimana dapat menghidrolisis katan B- 1,4 dari homopolymer N-asetilglukosamin (Glc nac) dan heteropolymer asam muramik Glc nac-N-Asetil, yang mengakibatkan lisisnya dinding sel bakteri gram positif (Araki *et al.*, 2003; Saravanan *et al.*, 2009). Sehingga pada kombinasi tersebut dapat menghambat pembentukan dinding sel bakteri serta dapat melisiskan.

Penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh (Chairul, 2006) dengan menunjukkan bahwa bakteri gram positif memiliki sensitivitas terhadap antimikroba yang terdapat pada putih telur, dimana struktur dinding sel bakteri gram positif memudahkan senyawa antimikroba masuk ke dalam sel bakteri dan menemukan sasaran kerja.

Lisozim secara tunggal tidak bisa membunuh bakteri gram positif dengan kadar 300 µg/ml dikarenakan dengan kadar konsentrasi 300 µg/ml lisozim tidak

memiliki efek daya kerja yang efektif dalam menghancurkan dinding sel bakteri meskipun secara teori lisozim memiliki daya antibakteri, jadi kadar dari lisozim harus ditingkatkan lebih dari 300  $\mu\text{g/ml}$  agar lisozim secara tunggal dapat memiliki efek terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae* resisten Amoksisilin. Daya kerja dari aktivitas antimikroba lisozim terbatas terhadap strain gram positif (Lesnierowski, Kijowski, dan Stangierski, 2003) sehingga perlu dicari alternatif agar lisozim bekerja efektif yaitu melalui cara memodifikasi lisozim dengan perlakuan kimia, ultrafiltrasi, termokimia dan teknologi lainnya (Cegielska-Radziejewska *et al.*, 2009; Lesnierowski 2009; Tribst *et al.*, 20017).

Alternatif lain yang dapat meningkatkan aktivitas lisozim sebagai antibakteri bisa dilakukan melalui perlakuan enzimatis dan panas (Aminlari *et al.*, 2014) melalui pemahan struktur protein, komponen asam amino dan urutan asam amino. Lisozim ditemukan dalam dua bentuk dimer dan polimer aktif dengan suhu 20-30<sup>0</sup>C (titik transisi 25<sup>0</sup>C) dan PH dalam bentuk dimer 5-9 (Cegielska-Radziejewska *et al.*, 2008; Onuma & Inaka 2008). Lisozim dengan modifikasi perlakuan panas mengalami denaturasi dengan suhu diatas 75<sup>0</sup>C (Belitz *at al.*, 2009) sehingga menyebabkan terjadinya akumulasi reaksi kimia seperti isomerisasi, imidesasi, deamidisasi dan resemisasi dari asam amino yang meningkatkan aktivitas antibakteri.

Penelitian yang dilakukan (Susanto *et al.*, 2013) menunjukkan adanya signifikan peningkatan terhadap antibakteri lisozim melalui perlakuan panas dengan melakukan perubahan konformasi dari molekul lisozim yang membentuk polimer terhadap bakteri gram negatif dibandingkan dengan lisozim secara tunggal.

Lisozim dari perlakuan panas juga dapat mempertahankan aktivitas bakteriostatik terhadap bakteri gram positif sehingga dapat memberikan efek bakterisidal yang kuat terhadap bakteri. Enzim ini juga mempunyai struktur bagian dalam molekul yang hidrofobik serta bagian luar molekul yang hidrofilik dan berkontak dengan molekul lain (Ibrahim *et al.*, 1996). Perlakuan panas akan menyebabkan perubahan konformasi karena terdapat dua jembatan yang mengenai asam amino sistein terputus sehingga hidrofobisitas akan meningkat. Ketika Cys64-Cys80 dan Cys76-Cys94 atau ikatan disulfida lisozim terputus oleh proses panas maka asam amino triptofan 62, 63 dan 108 didalam molekul terekspos keluar (Vilcacundo *et al.*, 2018). Sehingga dapat menyebabkan aktivitas kerja antibakteri meningkat terhadap bakteri perusak atau patogen yang dipicu karena ikatan membran sel akan meningkat.

Perlakuan melalui secara enzimatis seperti menggunakan peptida lisozim sebagai antibiotik dan juga bisa digunakan untuk masalah resistensi bakteri terhadap antibiotik sintesis. Peptida lisozim didapatkan secara alami melalui hidrolisis enzim seperti papain, pepsin dan tripsin. Kelebihan dari peptida lisozim ini yaitu lebih mudah didegradasi oleh tubuh sehingga dapat menurunkan kontaminasi dan akumulasi dalam tubuh berkurang serta mengurangi resiko bahaya pada manusia (Kusumaningtyas 2018). Aktivitas antibakteri peptida dapat terjadi melalui tiga model yaitu model *barrel-stave*, model *toroidal* dan model *carpet* (Khursid *et al.*, 2016), Cara kerjanya memiliki banyak perbedaan melalui muatan, susunan, polaritas dan berat molekul asam amino, tetapi mekanisme antibakteri terjadi melalui perusakan membran, perusakan fungsi intraseluler bakteri dan

penghambatan sintesis biopolimer ekstraseluler (Andersson *et al.*, 2016; Khursid *et al.*, 2016; Lee *at al.*, 2016; Lohner & Hilpert 2016). Peptida lisozim yang bermuatan positif dan memiliki bentuk *amphiplic* memicu interaksi peptide dengan permukaan membran dan kemudian menyebabkan membran bakteri gram positif berlubang sehingga memicu kerusakan (Carrillo *et al.*, 2018). Pada penelitian ini, perlakuan lisozim sebagai antibakteri terhadap *Streptococcus pneumoniae* tidak diberikan pemanasan dan penambahan peptide lisozim. Lisozim hanya dikontakkan dengan bakteri uji dalam medium pertumbuhan serta suhu inkubasi 37<sup>0</sup>C. Sehingga lisozim tidak bekerja optimal untuk menghambat pertumbuhan bakteri gram positif *Streptococcus pneumoniae*.

Penyebab dari resistensi antibiotik atau *Antimicrobial Resistance (AMR)* adalah suatu fenomena alam yang terjadi karena peningkatan penggunaan dari antibiotik sehingga menyebabkan resisten dari strain bakteri, virus, jamur dan parasit melalui mutase genetik dan pertukaran informasi genetik antar mikroba (WHO. 2016). Resistensi pada bakteri gram positif terhadap golongan  $\beta$ -laktam disebabkan karena bakteri tersebut memproduksi enzim betalaktamase yang mengambil sebagian gen protein pengikat Penisilin dari bakteri lain. Pada golongan  $\beta$ -laktam terhadap bakteri gram positif, protein ini akan berikatan dengan Penisilin sehingga dinding sel bakteri tidak mudah rusak dan menjadi resisten. Penyebaran jenis lain yang berbeda dari  $\beta$ -laktam dengan spektrum yang diperluas (ESBL) seperti CTXm dan AmpC menyebabkan resistensi terhadap golongan Penisilin (Gillespie & Bamford 2009).

*Streptococcus pneumoniae* memiliki virulensi yang kuat sehingga menyebabkan resistensi terhadap Penisilin dan antibiotik  $\beta$ -laktam lainnya yang telah ditemukan sejak tahun 1967 dan tahun 1978 telah berkembang multi drug resistant (Chiou, 2006). Mikroba ini menyebabkan resistensi pada makrolaid dan beberapa golongan antibiotik lainnya dengan kejadian pneumoniae terkontaminasi pada 15 negara, salah satunya di Indonesia (6 juta kasus baru pertahun) (Rudan *et al.*, 2008). Pneumonia adalah penyebab kematian tertinggi kedua setelah diare diantara balita (15,5%) dan selalu menduduki 10 besar penyakit terbanyak di Indonesia (Kemenkes, 2010). Maka perlu dilakukan upaya sebagai langkah alternative terapi infeksi *Streptococcus pneumoniae*. Penyebab lain resistensi adalah resistensi bakteri terhadap antibiotik yang terjadi dirumah sakit dan berkembang di masyarakat karena penggunaan obat yang tidak rasional di suatu sarana pelayanan kesehatan dan penggunaan antibiotik yang kurang tepat dapat menyebabkan resistensi, efek samping, toksisitas, pemborosan biaya, dan tidak tercapainya manfaat klinik yang optimal (Anonim, 2011).

Bahaya dari resistensi antibiotik atau *Antimicrobial Resistance (AMR)* yaitu kasus infeksi akan sulit diterapi sehingga akan menimbulkan lebih banyak kematian, lebih banyak berkembangnya infeksi kronis, lebih lama perawatan dirumah sakit, biaya pengobatan yang semakin tinggi, meningkatkan resiko kondisi penyakit yang lain seperti pembedahan, kanker, penyakit kronis dan Akan mengurangi produktivitas (WHO, 2016).

Penanganan resistensi antibiotik dibagi menjadi dua yaitu penanganan resistensi antibiotik secara sensitif dengan mencegah infeksi pada manusia dan

hewan melalui imunisasi, sanitasi lingkungan dan *Water, Sanitation, and Hygiene (WASH)* di fasilitas pelayanan kesehatan, meningkatkan sumberdaya manusia terutama petugas kesehatan dalam mendiagnosis, meresepkan obat dan *Infection Prevention and Control (IPC)* melalui latihan dan ketersediaan alat-alat kesehatan, mengatur dan mengendalikan obat-obatan yang meliputi kontrol kualitas dan mengurangi obat-obat yang dibawah standar, meningkatkan penggunaan obat-obat lini pertama dan mengatur perdagangan obat-obat yang sifatnya *over the counter (OTC)*. Penanganan resistensi antibiotik secara spesifik dengan cara penyuluhan tentang penggunaan antibiotik, meningkatkan sistem monitoring penggunaan antibiotik dan survailan mengenai prevalensi resistensi antibiotic (WHO, 2016).

Amoksisilin merupakan senyawa yang paling aktif diantara semua antibiotik  $\beta$ -laktam terhadap *Streptococcus pneumoniae* yang peka maupun yang resisten terhadap Penisilin (Goodman & Gilman, 2014). Lisozim adalah salah satu enzim yang efektif untuk melawan bakteri terutama jenis gram positif sehingga dapat sensitif pada bakteri *Streptococcus pneumoniae* (Hikima *et al.*, 2003). Sehingga enzim ini dapat mampu berperan dalam fagositosis bakteri (Saurabh dan Sahoo, 2008).

Penelitian ini juga berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh (Rizkiryanti, 2016) bahwa kombinasi Sefadroksil dengan enzim lisozim terhadap *Staphylococcus aureus* dapat menurunkan kadar hambat minimal bakteri *Staphylococcus aureus* tetapi hasilnya tidak signifikan.



### **C. Kelemahan Penelitian**

1. Alat untuk menimbang dalam satuan mikron tidak tersedia.
2. Ruangan penelitian banyak terkontaminasi.