

**EFEK LISOZIM PADA KADAR HAMBAT MINIMAL
(KHM) AMOKSISILIN TERHADAP *Staphylococcus
aureus* ATCC 25923**

FIHIRUDDIN

H521 05 088



	28-5-2007
	Fals. MIPA
	1 (sib) eks.
	H
	1018
	37507
	SKR = MP
	FIH
	e

**PROGRAM KONSENTRASI TEKNOLOGI LABORATORIUM KESEHATAN
JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2007**

**EFEK LISOZIM PADA KADAR HAMBAT MINIMAL (KHM)
AMOKSISILIN TERHADAP *Staphylococcus aureus*
ATCC 25923**

SKRIPSI

**Untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**

FIHIRUDDIN

H521 05 088

**PROGRAM KONSENTRASI TEKNOLOGI LABORATORIUM KESEHATAN
JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2007**

**EFEK LISOZIM PADA KADAR HAMBAT MINIMAL (KHM)
AMOKSISILIN TERHADAP *Staphylococcus aureus*
ATCC 25923**

FIHIRUDDIN

H521 05 088

Disetujui Oleh :
Pembimbing Utama,



Drs. M. Natsir Djide, M.S., Apt.
NIP. 130 785 083

Pembimbing Pertama,



Dr. Latifah Rahman, DESS., Apt.
NIP. 131 408 925

Pembimbing Kedua,



Dra. Sartini, M.Si., Apt.
NIP. 131 696 792

Pada Tanggal : Mei 2007

ABSTRACT

The research has been done about effect lysozyme against minimal inhibitory concentration of *amoxycillin* to *Staphylococcus aureus* by in vitro, that is using dilution method of liquid tube (thinning). This research is aimed to know minimal inhibitory concentration of *amoxicillin* to *Staphylococcus aureus* combined with lysozyme compared to without addition of lysozyme. The research was done at microbiology laboratory of Analist Health Academy (AHA) of Poltekkes Mataram.

The test against minimal inhibitory concentration and minimal bactericidal concentration of *amoxycillin* and combination *amoxycillin* with 200 mg/ml lysozyme. The data were analyzed by paired t-test. The result of reseach were the minimal inhibitory concentration of *amoxycillin* combined with 200 mg/ml lysozyme was decreased compared to without addition of lysozyme, is from 0.1812 mg/ml to 0.1064 mg/ml.

Keyword : *amoxycillin*, Lysozyme, and *Staphylococcus aureus*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, tiada kata yang patut diucapkan oleh seorang hamba yang beriman selain ucapan puji syukur ke hadirat Allah SWT, Tuhan Yang Maha Mengetahui, Pemilik segala ilmu, karena atas petunjuk-Nya maka skripsi ini dapat diselesaikan.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan tugas akhir ini banyak kendala yang dihadapi. Namun berkat dukungan dan bantuan semua pihak dan seizin Tuhan Yang Maha Kuasa, penyusunan tugas akhir ini dapat terselesaikan. Oleh karena itu, penulis dengan tulus menghaturkan banyak terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada;

1. Drs. M. Natsir Djide, M.S.,Apt. selaku Pembimbing Utama.
2. Dr. Latifah Rahman, DESS.,Apt. selaku Pembimbing Pertama.
3. Dra. Sartini, M.Si. Apt selaku Pembimbing Kedua.
4. Ir. Muchtar Mukkarim, selaku Direktur Poltekkes Mataram.
5. Yunan Juwintarum, S.Si. M.Kes. selaku Ketua Program Studi Analis Kesehatan Mataram.
6. Bapak Iswari Fauzi, SKM dan seluruh staf serta karyawan Akademi Analis Kesehatan Mataram.
7. DPP, DPW, DPC Persatuan Analis Teknologi Laboratorium Kesehatan Indonesia (PATELKI).
8. Ketua Program Konsentrasi Teknologi Laboratorium Kesehatan (TLK) UNHAS.

9. Ketua Jurusan Farmasi FMIPA UNHAS

10. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.

11. Para dosen Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam khususnya jurusan Farmasi Program Konsentrasi TLK UNHAS.

12. Seluruh staf dan karyawan jurusan Farmasi Program TLK UNHAS.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada semua teman sesama mahasiswa angkatan kedua (Nurul, Ningsih, Hartini, Narti, Tuti, Makmur, Baihaqi dan Murni) Program Konsentrasi Teknologi Laboratorium Kesehatan yang telah banyak membantu, saling mendukung dalam suka duka.

Penulis persembahkan karya tulis ini kepada semua keluarga di Lombok, khususnya orang tua tercinta, adik, seluruh keluarga, Om De, Isnaini serta teman – teman yang ada di gardu indah yang sudah mendukung baik moril dan materil. Semoga karya tulis ini bermanfaat untuk kemajuan ilmu pengetahuan, serta diberkati Tuhan Yang Maha Esa.

Makassar, Mei 2007

Fihiruddin

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Lisozim	4
II.1.1 Struktur Lisozim	4
II.1.2 Komplek Lisozim Subtrat	6
II.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	8
II.2.1 Klasifikasi	8
II.2.2 Morfologi dan Identifikasi	8
II.2.3 Patogenitas	9
II.2.4 Gambaran klinis	11
II.3 Antibiotika	12
II.3.1 Pengertian Antibiotika	12
II.3.2 Penggolongan Antibiotika	13

II.3.3 Mekanisme Kerja Antibiotika	15
II.3.4 <i>Amoksisilin</i>	18
II.3.4.1 Rumus Struktur <i>Amoksisilin</i>	18
II.3.4.2 Mekanisme Kerja <i>Amoksisilin</i>	18
II.3.5 Resistensi Antibiotika	19
II.3.5 Pengujian Aktivitas Antibiotika Secara Mikrobiologi	20
II.3.5.1 Metode Dilusi (pengenceran)	21
II.3.5.2 Metode Difusi (penyerapan)	21
BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN	23
III.1 Alat dan Bahan yang Digunakan	23
III.2 Penyiapan Sampel Penelitian	23
III.3 Pembuatan Media dan Standar Kekeruhan Mac Farland	23
III.3.1 Pembuatan Media Nutrien Agar	23
III.3.2 Pembuatan Media Muller Hinton Broth	23
III.3.3 Pembuatan Standar Kekeruhan 0,5 Mac Farland	24
III.4 Pembuatan Suspensi Bakteri	24
III.5 Pembuatan Larutan <i>Amoksisilin</i>	24
III.6 Pembuatan Larutan Lisozim	25
III.7 Pembuatan Larutan Campuran <i>Amoksisilin</i> dengan Lisozim	25
III.8 Metode Kerja.....	25
III.9 Cara Kerja	25

III.10 Pengumpulan dan Pengolahan Data.....	26
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	28
IV.1 Hasil Penelitian	28
IV.2 Pembahasan.....	33
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	36
V.1 Kesimpulan	36
V.2 Saran	36
DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPIRAN	40

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Uji Kadar Hambat dan Kadar Bunuh Minimal <i>Amoksisilin</i> , Campuran <i>Amoksisilin</i> dengan Lisozim , dan Lisozim	28
2. Standar Kekeruhahan Menurut Mac Farland	44

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar	
1. Struktur lisozim	5
2. Komplek lisozim dengan substrat	7
3. Morfologi <i>Staphylococcus aureus</i>	8
4. Rumus bangun <i>amoksisilin</i>	19
5. Grafik Perbandingan Kadar Hambat Minimal <i>Amoksisilin</i> dan Campuran <i>Amoksisilin</i> dengan Lisizom	30
6. Grafik Perbandingan Kadar Bunuh Minimal <i>Amoksisilin</i> dan Campuran <i>Amoksisilin</i> dengan Lisizom	31
7. Koloni <i>Staphylococcus</i> pada media nutrien agar	45
8. Hasil uji resistensi	45
9. Hasil uji KHM campuran <i>amoksisilin</i> dengan lisozim	46
10. Hasil uji KHM <i>amoksisilin</i>	46
11. Hasil uji KBM campuran <i>amoksisilin</i> dengan lisozim	46
12. Hasil Uji KBM <i>amoksisilin</i>	46

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran	
1. Skema Kerja	40
2. Hasil uji T berpasangan	41
3. Tabel nilai persentil untuk distribusi t (t tabel).....	42
4. Komposisi dan pembuatan media NA dan MHB.....	43
4. Standar kekeruhan Mac Farland	44
6. Koloni <i>Staphylococcus aureus</i> pada media NA dan hasil uji resistensi	45
7. Hasil uji kadar hambat dan kadar bunuh <i>amoksisilin</i> terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	46

DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN

Lambang/singkatan	Arti
ATCC	american type culture collection
DNA	deoksiribonukleat acid
FDA	food drug administrasi
KBM	kadar bunuh minimal
KB	kirbey bauer
KHM	kadar hambat minimal
MHB	muller hinton broth
MHC	major histocompatibility complex
NA	nutrien agar
NCCL	national committe for clinical laboratory standard
PBPs	penicillin binding proteins
RNA	ribonucleat acid
TSST	toksin sindrome syok toksik
WHO	world health organization

BAB I PENDAHULUAN

Dalam upaya pengobatan penyakit infeksi di Indonesia, telah digunakan bermacam-macam antibiotika. Pemakaian antibiotika tersebut kini makin meluas, bukan saja untuk tujuan pengobatan, tetapi juga untuk tujuan profilaksis. Penggunaan antibiotika tentu diharapkan mempunyai dampak positif, namun penggunaan antibiotik yang tidak rasional mempunyai dampak negatif, yaitu antara lain dapat meningkatkan masalah resistensi bakteri terhadap antibiotika (1).

Pemberian antibiotika berspektrum luas dan dalam bentuk kombinasi, yang telah digunakan sebagai tatalaksana pengobatan penyakit infeksi oleh para klinisi, menjadi faktor penunjang terjadinya perubahan pola resistensi terhadap berbagai antibiotika. Penetapan dosis yang tidak adekuat disertai penggunaan jangka panjang dapat menyebabkan timbulnya super infeksi dan kolonisasi bakteri yang resisten (2).

Penisillin merupakan antibiotika yang paling sering digunakan. Obat ini pertama kali diberikan pada penderita infeksi yang disebabkan oleh bakteri. *Penisilin* bertindak sebagai penghambat enzim yang mengkatalis sintesa dinding sel bakteri yang sedang bereproduksi. *Penisillin* menghambat pembentukan mukopeptida yang diperlukan untuk dinding sel mikroba (3,4,12).

Antibiotika turunan dari *penisillin* yang sering digunakan untuk pengobatan infeksi adalah *amoksisilin*. *Amoksisilin* merupakan antibiotika yang umum dipakai karena cukup manjur, dan penyerapannya cepat. *Amoksisilin* tunggal invitro aktif terhadap berbagai bakteri aerobik dan anaerobik gram positif dan gram negatif bukan penghasil betalaktamase (3,5).

Bakteri gram positif seperti *Staphylococcus aureus* mempunyai dinding sel yang disusun oleh peptidoglikan. Peptidoglikan dapat dirusak oleh asam kuat atau lisozim. Lisozim banyak terdapat dalam sekret manusia, bersifat bakterisid. Lisozim dalam keringat, ludah, dan air mata melindungi tubuh terhadap berbagai bakteri gram positif, oleh karena lisozim dapat menghancurkan lapisan peptidoglikan dinding sel bakteri, yaitu dengan menghidrolisis ikatan β -1,4 glukosida antara asam asetil muramat dan asetil glukosamin sehingga keeratn dinding sel berkurang (4,6,7,10). Hasil penelitian Soendjojo dkk (1980) menunjukkan bahwa penambahan lisozim 100 milligram terhadap 2,5 milligram tiamfenikol sebagai dosis tunggal peroral pada pengobatan gonorrhoeae dapat menurunkan angka kegagalan dari 12,2 % menjadi 4,9 % bila dibandingkan tanpa penambahan lisozim (8).

Sehubungan dengan kemampuan lisozim dalam menghidrolisis peptidoglikan dinding sel bakteri, maka perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh lisozim pada kadar hambat minimal (KHM) *amoksisilin* terhadap *Staphylococcus aureus*.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya efek penambahan lisozim pada pemeriksaan kadar hambat minimal *amoksisilin* terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Lisozim

Lisozim adalah enzim yang bersifat bakteriolitik dalam jaringan dan banyak terdapat dalam sekret manusia serta hewan. Berat molekul enzim lisozim dengan menggunakan inaktivasi radiasi yaitu sebesar 25.600 (29).

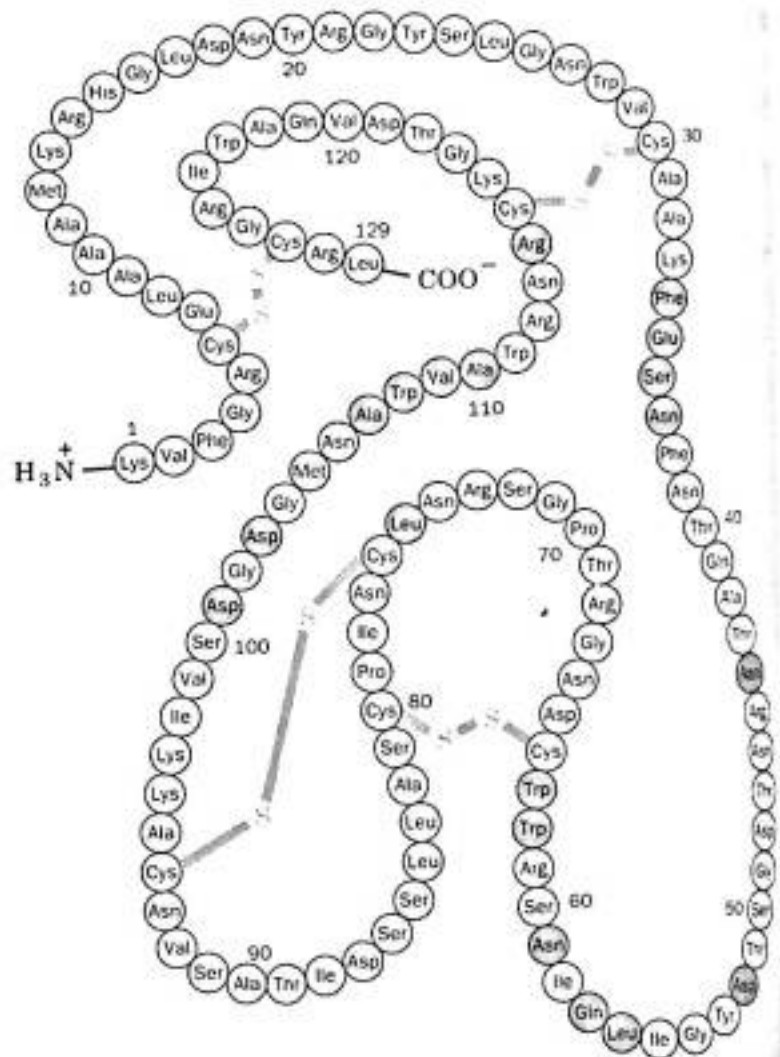
Lisozim bisa diperoleh dari telur ayam, juga dari limax amoeba. Lisozim dalam keringat, ludah dan air mata melindungi tubuh terhadap berbagai bakteri gram positif karena lisozim dapat menghancurkan lapisan peptidoglikan dinding sel bakteri, yaitu dengan menghidrolisis ikatan β -1,4 glukosida antara asam asetat muramat dan asetat glukosamin (6, 7).

Lisozim sebagai senyawa kimia yang banyak terdapat dalam cairan tubuh memiliki peranan penting dalam pertahanan tubuh terhadap zat asing. Lisozim merupakan enzim yang sanggup mencerna dinding sel bakteri sehingga bakteri akan kehilangan kemampuannya menimbulkan penyakit. Kerusakan dinding sel menyebabkan kematian pada sel bakteri (6,7).

II.1.1 Struktur Lisozim

Analisa sinar-x membuka ciri-ciri struktural enzim lisozim dan digunakan untuk uji kimiawi terhadap deret asam amino, spesifisitas substrat, dan identifikasi gugus fungsional spesifik pada sisi katalitik enzim (6, 30).

Analisis sinar-x membuka struktur sekunder, tertier, dan kuartener berbagai molekul enzim, sehingga dapat dibandingkan struktur-struktur ini dengan struktur protein globular nonkatalitik. Identifikasi sisi katalitik atau sisi aktif lisozim dan berbagai jenis enzim lainnya dapat dilakukan dengan analisis sinar-x. Lisozim tersusun dari 129 asam amino yang dihubungkan oleh ikatan peptida. Pada ujung asam aminonya berikatan dengan H_3N^+ dan ujung yang lainnya berikatan dengan CO_2^- (6,10).



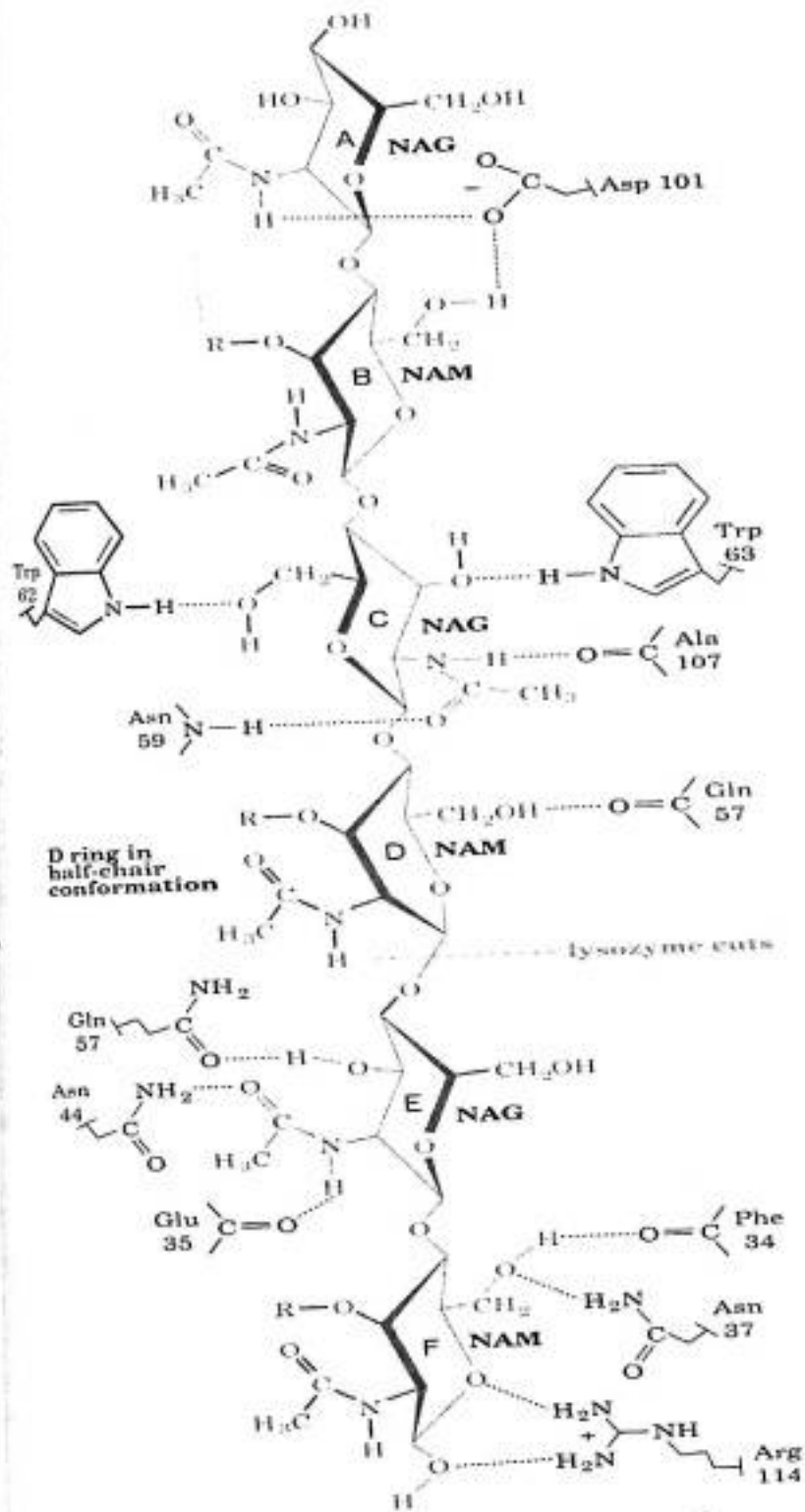
Gambar 1. Struktur lisozim (6).

II.1.2 Kompleks Lisozim – Subtrat

Kompleks enzim dan subtrat mengalami penguraian katalitik dengan kecepatan tinggi. Lisozim menghidrolisis ikatan β -1,4- glukosida pada kerangka polisakarida bakteri. Pengukuran pola difraksi sinar-x oleh David C. Philip menunjukkan, kristal kompleks lisozim dan subtratnya yang tidak reaktif disimpulkan sebagai satu analog subtrat normal enzim tersebut. (6,30)

Identifikasi sisi katalitik atau sisi aktif lisozim dan berbagai jenis enzim lainnya dapat dilakukan dengan analisa sinar-x. Sisi aktif lisozim berbentuk kantong yang dilapisi oleh residu asam amino dengan gugus polar bermuatan. Sedangkan pada enzim yang lain, sisi aktifnya dilapisi dengan simpul bolak-balik rantai peptida pada komformasi β . Molekul subtrat terletak pada selat atau celah molekul lisozim, dan dipertahankan pada posisinya oleh ikatan hidrogen spesifik (diperlihatkan oleh warna tebal) diantara enzim dan subtrat (6,30).

Molekul subtrat merupakan polimer yang mengandung unit-unit N-asetilglukosamin dan N-asetilmuramat secara bergantian, masing-masing dalam bentuk siklik yang dihubungkan oleh ikatan glikosidik. Molekul subtrat dari satu peptidoglikan akan mengadakan ikatan peptida dengan tetrapeptida monomer tetrapeptida glikan lainnya. Pada gambar dibawah menunjukkan, sisi tempat molekul subtrat (peptidoglikan) diuraikan oleh lisozim (6,30).



Gambar 2. Kompleks lisozim - substrat (6).

II.2 *Staphylococcus aureus*

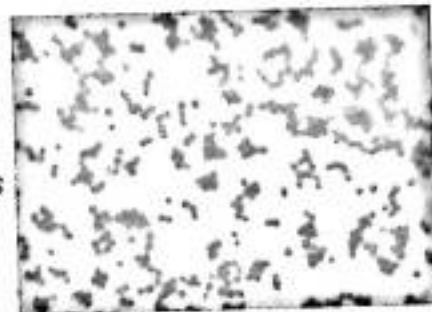
II.2.1 Klasifikasi

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut :

- Divisi : Garicilicutes
 Sub Divisi : Schizomycetes
 Kelas : Schizomycetes
 Ordo : Eubacteriales
 Famili : Mikroccocaceae
 Genus : *Staphylococcus*
 Spesies : *Staphylococcus aureus* (14).

II.2.2 Morfologi dan Identifikasi

Staphylococcus berasal dari perkataan Staphylo berarti kelompok buah anggur dan coccus berarti bulat. *Staphylococcus* adalah sel yang berbentuk bola dengan diameter 1 μm yang tersusun dalam bentuk kluster yang tidak teratur.



Gambar 3. Morfologi *Staphylococcus aureus*. Pewarnaan Gram perbesaran 1000 X (14).

Saphylococcus aureus bersifat nonmotil dan tidak membentuk spora, dibawah pengaruh obat seperti *penicillin* *Staphylococcus* mengalami lisis. Letak satu sama lain yang karesteristik bergerombol seperti buah anggur. Pasangan atau rantai pendek lebih sering terlihat dalam semar nanah dan kultur dalam kaldu (4,13, 16).

Staphylococcus aureus tumbuh dengan baik pada berbagai media

bakteriologi dalam suasana aerob atau mikroaerofilik. Pertumbuhan *Staphylococcus* cepat pada suhu 37°C dan pembentukan pigmen terbaik pada suhu kamar (20 – 35°C). Koloni *Staphylococcus* pada media padat berbentuk bulat, lembut dan mengkilap, biasanya membentuk koloni abu-abu hingga kuning emas (4,16).

II.2.3 Patogenitas

Staphylococcus aureus merupakan penyebab terjadinya infeksi yang bersifat piogenik. *Staphylococcus* dapat menyebabkan penyakit karena kemampuannya melakukan pembelahan dan menyebar luas ke dalam jaringan serta melalui produksi beberapa bahan ekstraseluler. Beberapa dari bahan tersebut adalah enzim atau dapat berupa toksin. Berikut ini adalah beberapa enzim dan toksin yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* :

1. Katalase

Staphylococcus aureus menghasilkan katalase yang mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen.

2. Koagulase

Merupakan protein menyerupai enzim yang mampu menggumpalkan plasma yang ditambah dengan oksalat atau sitrat dengan adanya suatu faktor yang terdapat dalam serum. Faktor serum bereaksi dengan koagulase untuk membentuk esterase dan aktivitas penggumpalan. Koagulase membentuk fibrin pada permukaan *Staphylococcus aureus* dan mengaktivasi protombin menjadi trombin.

3. Enzim lain

Enzim lain yang dihasilkan oleh *Staphylococcus* adalah hyaluronidase, enzim ini berfungsi sebagai faktor penyebaran. Stafilokinase berfungsi sebagai fibrinolisis tetapi lebih lambat daripada streptokinase. *Staphylococcus* juga menghasilkan enzim proteinase, lipase dan beta-lactamase.

4. Eksotoksin

Toksin yang bersifat letal jika disuntikkan pada binatang, menyebabkan nekrosis pada kulit dan berisi larutan hemolisis yang dapat dipisahkan dengan elektroforesis. Alfatoksin (hemolisin) adalah protein heterogen yang dapat melisis eritrosit dan merusak platelet. Alfatoksin mempunyai aksi yang sangat kuat terhadap otot polos vaskuler. Beta toksin menurunkan kadar spingomyelin dan toksik pada beberapa jenis sel, termasuk sel darah merah manusia. Toksin ini dan toksin gamma serta delta secara antigenik jelas berbeda dan tidak mempunyai kaitan dengan lisis *Streptococcus*.

5. Lekosidin

Toksin ini dapat membunuh sel darah putih pada berbagai binatang. Peran toksin dalam patogenesis tidak jelas karena *Staphylococcus* yang patogenik tidak dapat membunuh sel darah putih dan dapat difagositosis seefektif seperti yang nonpatogenik.

6. Toksin eksfoliatif

Toksin ini termasuk sedikitnya dua protein yang menghasilkan deskuamasi generalisata pada *Staphylococcal Scalded Skin Syndrome*.

7. Toksin Sindroma Syok Toksik (Toxic Shock Syndrome Toxin)

Sebagian besar galur *Staphylococcus aureus* diisolasi dari pasien syndrome syok toksin yang menghasilkan racun yang dinamakan Toxic Shok Syndrome Toxin -1 (TSST-1), yang secara struktural sama dengan enterotoksin B dan C. TSS-1 merupakan prototip superantigen yang mendukung menifestasi sindroma syok toksik. Gen untuk TSST-1 ditemukan sekitar 20 % dari *Staphylococcus aureus* yang diisolasi.

8. Enterotoksin

Enterotoksin adalah penyebab keracunan makanan, dihasilkan ketika *Staphylococcus aureus* tumbuh pada makanan yang mengandung karbohidarat dan protein. Enterotoksin adalah superantigen yang berikatan dengan molekul MCH kelas II, menimbulkan stimulasi sel T. Enterotoksin stabil terhadap panas (bertahan terhadap air mendidih selama 30 menit) dan resisten terhadap aksi enzim usus. Gen untuk enterotoksin terdapat dalam kromosom, tetapi plasmid dapat membawa protein yang mengatur produksi toksin. Domain molekul enterotoksin yang berbeda bertanggung jawab terhadap sindroma syok toksin dan keracunan makanan (4,13,16).

II.2.4 Gambaran Klinis

Infeksi *Staphylococcus aureus* lokal tampak sebagai jerawat, infeksi folikel rambut atau abses. Terdapat reaksi inflamasi yang kuat, terlokalisir dan nyeri yang mengalami supurasi sentral dan sembuh dengan cepat

jika pus dikeluarkan (4,13).

Infeksi *Staphylococcus aureus* dapat juga berasal dari kontaminasi langsung dari luka, misalnya pasca operasi. Penyebaran *Staphylococcus aureus* dan terjadinya bakterimia bisa menyebabkan endokarditis, osteomilitis hematogenus akut, meningitis, atau infeksi paru-paru. Manifestasi klinik mirip dengan yang tampak pada infeksi *Staphylococcus aureus* sistemik. (4,13, 16).

Keracunan makanan yang disebabkan oleh enterotoksin *Staphylococcus aureus* ditandai dengan periode inkubasi yang pendek (1-8 jam), mual hebat, muntah, diare dan cepat sembuh serta tidak ada demam (4) .

Sindroma syok toksik dimanifestasikan oleh demam tinggi yang terjadi tiba-tiba, muntah, diare, mialgia, ruam bentuk skarlet dan hipotensi dengan gagal jantung dan gagal ginjal pada kasus yang sangat berat. Penyakit ini sering terjadi dalam lima hari menstruasi pada wanita muda yang menggunakan tampon, tetapi juga sering terjadi pada anak-anak atau laki-laki yang mengalami infeksi luka akibat *Staphylococcus aureus*. Sindroma syok toksik yang berhubungan dengan *Staphylococcus aureus* dapat ditemukan di vagina, tampon, pada luka, infeksi yang terlokalisir atau pada tenggorokan, tetapi tidak pernah dialiran darah (4, 16).

II. 3 Antibiotika

II.3.1 Pengertian Antibiotika

Antibiotika adalah senyawa kimia yang dihasilkan oleh mikroorganisme

(khususnya dihasilkan oleh fungi) atau dihasilkan secara sintetik yang dapat membunuh atau menghambat perkembangan mikroorganisme lain, walaupun dalam konsentrasi terendah (3).

II.3.2 Penggolongan Antibiotika

Antibiotika dapat digolongkan secara kimia, berdasarkan mekanisme kerja dan berdasarkan manfaat dan sasaran kerja.

1. Penggolongan secara kimia

a. β Laktam

- 1) *Penisillin G dan Derivat*
- 2) *Fenoksi penisilin: Penisilin V, Fenetisilin, Propisilin, dll.*
- 3) *Metisilin dan Isoksazolil penisilin (Oksasilin, Kloksasilin, Dikloksasilin).*
- 4) *Aminopenisilin (Ampisilin, Metampisilin, Hetasilin Amoksisilin, dll).*
- 5) *Sefalosporin (Sefalotin Sefaloridin, Sefaleksin, dll).*

b. Aminoglikosida

Streptomisin, Kanamisin, Gentamisin, Tobramisin, Neomisin, Framisetm, Paromomisin, dll.

c. Kloramfenikol (Kloramfenikol, Thiamfenikol).

d. Tetrasiklin

Tetra (Oksi, Klor, Dimetil Klor, Rolitetrasiklin, Metasiklin, Doksisiklin, Minosiklin).

e. Makrolida dan yang berdekatan

- 1) *Eritromisin (Oleandomisin, Spiramisin)*

2) *Linkomisin (Klindamisin)*

3) *Sinergistin (Pristinamisin, Virginiamisin)*

f. *Rifamisin (Rifamisin, Rifampisin)*

g. *Polipeptida Siklik (Polimiksin B, Polimiksin E [Kolistin], Basitrasin).*

h. *Antibiotika Polien (Nistatin, Amfoterisin B).*

i. *Antibiotika lain (Vankomisin, Ristosestin, Novobiosin, Griseofulvin)*
(4,18,20).

2. Penggolongan berdasarkan mekanisme kerja

a. Antibiotika yang menghambat sintesa atau mengaktivasi enzim yang merusak dinding sel bakteri, sehingga menghilangkan kemampuan berkembang biak dan seringkali lisis.

Contoh : *Penisilin, Sefalosporin Sikloserin, Vankomisin, Ristosestin, Basitrasin* (4,20).

b. Antibiotika yang bekerja langsung terhadap membran sel, mempengaruhi permeabilitas, dapat menyebabkan kebocoran atau kehilangan senyawa intraseluler.

Contoh : *Polimiksin, Kolistimetat, Antifungus polien (nistatin, amfoterisin B)* (4,20).

c. Antibiotika yang mengganggu fungsi ribosom bakteri, menyebabkan inhibisi sintesa protein secara reversibel.

Contoh: Senyawa bakteriostatik *Kloramfenikol, Tetrasiklin-Tetrasiklin*, antibiotika *Makrolida (Eritromisin, Linkomisin, Klindamisin)* (20).

d. Antibiotika yang difiksasi pada sub unit ribosom 30 S. Timbunan

kompleks pemula sintesa protein, salah tafsir kode mRNA, produksi polipeptida abnormal.

Contoh: Antibiotika *Aminoglikosida* (bakterisidal) (20).

e. Antibiotika yang mengganggu metabolisme Asam nukleat.

Contoh: *Rifampin* (inhibisi RNA polimerase yang dependen DNA). (4).

3. Penggolongan berdasarkan manfaat dan sasaran kerja

a. Antibiotika yang mempunyai spektrum aktivitas sempit terutama bermanfaat terhadap coccus gram positif dan basil, Contoh :

Penisilin G (*Penisilin* semi sintetik yang resisten terhadap *Penisilinase*), *Makrolida* (*Linkomisin, Vankomisin, Basitrasin*).

Antibiotika yang terutama efektif terhadap basil aerob gram negatif.

Contoh : *Aminoglikosida, Polimiksin* (3,20).

b. Antibiotika yang secara relatif memiliki spektrum kerja yang luas; bermanfaat terhadap coccus gram positif dan basil gram negatif.

Contoh : *Penisilin* spektrum luas (*Ampisilin, Karbenisilin*), *Sefalosporin, Tetrasiklin-Tetrasiklin* dan *Kloramfenikol* (3,20).

II.3.3 Mekanisme Kerja Antibiotika

1. Bersifat sebagai antimetabolit

Antibiotika bekerja memblok tahap metabolit spesifik bakteri, seperti pada *Sulfonamida* dan *Trimetoprim*. *Sulfonamida* menghambat pertumbuhan sel dengan menghambat sintesis asam folat oleh bakteri. *Sulfonamida* bebas secara struktur mirip dengan asam folat, para amino benzoic acid (PABA), dan bekerja secara

kompetitif untuk enzim-enzim yang langsung mempersatukan PABA dan sebagian pteridin menjadi asam dihidropteroat (4,20).

Trimetoprim secara struktur analog pteridin yang dibagi oleh enzim dihidrofolat reduktase dan bekerja sebagai penghambat kompetitif enzim tersebut yang dapat mengurangi dihidrofolat menjadi tetrahidrofolat (18).

2. Penghambatan terhadap sintesa dinding sel

Antibiotika golongan ini dapat menghambat sintesis atau menghambat aktivitas enzim yang dapat merusak dinding sel mikroorganisme (4).

3. Penghambatan fungsi permeabilitas membran sel

Disini antibiotika bekerja secara langsung pada membran sel yang mempengaruhi permeabilitas dan menyebabkan keluarnya senyawa intraseluler mikroorganisme (bakteri). Dalam hal ini antibiotika dapat :

- a. Berinteraksi dengan sterol membran sitoplasma pada sel jamur seperti *Amfoterisin B* dan *Nistatin*.
- b. Merusak membran sel bakteri gram negatif, misalnya *Polimiksin* dan *Kolistin* (4,20).

4. Penghambatan sintesis protein sel

Antibiotika mempengaruhi fungsi ribosom mikroorganisme yang menyebabkan sintesa protein terhambat.

- a. Berinteraksi dengan ribosom 30S, termasuk kelompok ini adalah *Aminoglikosida*, *Tetrasiklin*, dan lain-lain.

Aminoglikosida menyebabkan akumulasi sintesis protein awal yang kompleks. *Tetrasiklin* bekerja menghambat ikatan aminoasil-tRNA dengan ribosom mRNA kompleks.

b. Berinteraksi dengan ribosom 50S, misalnya pada *Kloramfenikol*, *Linkomisin*, *Klindamisin*, *Eritromisin* (4,18,20).

5. Penghambatan asam nukleat

Dalam hal ini antibiotika mempengaruhi metabolisme asam nukleat. Sebagai contoh rifampisin, mengikat dan menghambat DNA-dependent RNA polimerase yang ada pada bakteri. dan metronidazol menghambat sintesis DNA (4,20).

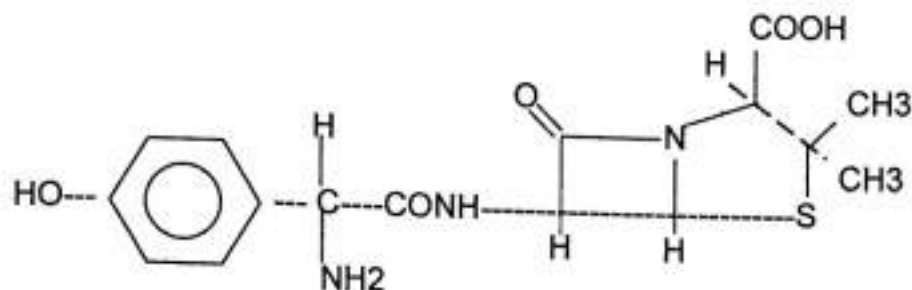
II. 3.4 Amoksisilin

Amoksisilin merupakan prototip aminopenisillin berspektrum luas, berupa serbuk putih dan tidak berbau. Absorpsi *amoksisilin* dalam saluran cerna jauh lebih baik dari pada *ampisilin*. Dengan dosis oral, *amoksisilin* mencapai kadar dalam darah yang tingginya kira-kira 2 kali lebih tinggi dari pada yang dicapai *ampisilin*. Penyerapan *amoksisilin* dalam usus tidak dipengaruhi oleh adanya makanan di dalam lambung. Bioavailabilitas oral *amoksisilin* paling tinggi bila dibandingkan dengan golongan *penicillin* yang lain, dimana kadar puncaknya dalam plasma sekitar 6,75 µg/ml (3).

II. 3.4.1 Rumus Struktur Amoksisilin

Amoksisilin merupakan asam organik, terdiri dari satu inti siklik dengan satu rantai samping. Inti siklik terdiri dari cincin tiazolidin dan

cincin betalaktam. Rantai samping merupakan gugus amino bebas yang dapat mengikat berbagai jenis radikal (3, 17).



Gambar 4. Rumus Bangun *Amoksisilin* (28).

II. 3.4.2 Mekanisme Kerja *Amoksisilin*

Daya kerja *amoksisilin* melalui penghambatan-penghambatan sintesis dinding sel bakteri. Dinding sel bakteri terdiri atas jaringan makromolekuler merupakan lapisan luar yang kaku disebut peptidoglikan. Antibiotika ini mencegah sintesis peptidoglikan yang utuh sehingga dinding sel akan melemah dan akibatnya sel bakteri akan mengalami lisis. Kerusakan sel bakteri terjadi pada lingkungan hipertonik. Kerusakan pembentukan dinding sel mengakibatkan terbentuknya *protoplas* pada organisme gram negatif dan *steroplas* pada organisme gram positif. Bentuk ini hanya dibatasi oleh selaput sitoplasma yang rapuh bila ditempatkan dalam lingkungan dengan tonisitas biasa, *steroplas* dapat menghisap cairan secara cepat, sel membengkak dan akhirnya pecah (4, 11, 25,28).

Langkah pertama daya kerja *amoksisilin* adalah mengikat obat pada reseptor sel yaitu protein pengikat penisilin atau *Penicillin Binding Proteins* (PBPs). Beberapa PBP diantaranya merupakan enzim dalam reaksi

transpeptidasi. Setelah perlekatan pada satu atau lebih reseptor reaksi *transpeptidase* dihambat dan sintesis peptidoglikan tertahan. Langkah berikutnya melibatkan pembuangan atau penghentian aktivitas penghambat enzim autolisis dinding sel. Pembuangan dan penghentian mengaktifkan enzim lisis akan menyebabkan sel bakteri lisis (11, 21,25,).

II.3.8 Resistensi Antibiotika

Sejak awal penemuannya oleh Alexander Fleming pada tahun 1928, antibiotika telah memberikan kontribusi yang efektif dan positif terhadap kontrol infeksi bakteri pada manusia dan hewan. Sejalan dengan perkembangan dan penggunaannya tersebut banyak bukti atau laporan yang menyatakan bahwa bakteri patogen menjadi resisten terhadap antibiotika. (21,23,).

Penggunaan antibiotika akan menyebabkan munculnya mikroorganisme resisten, tidak hanya mikroba sebagai target antibiotika tersebut, tetapi juga mikroorganisme lain yang memiliki habitat yang sama dengan mikroorganisme target. Hal ini dimungkinkan karena adanya transfer materi genetik yaitu plasmid atau transposon, antara genus bakteri yang berbeda yang masih memiliki hubungan dekat (25, 31, 32).

Mekanisme resistensi obat pada bakteri meliputi :

1. Mikroorganisme menghasilkan enzim yang merusak obat.
2. Mikroorganisme mengubah permeabilitasnya terhadap obat.
3. Mikroorganisme mengembangkan sasaran struktur yang diubah terhadap obat.

4. Mikroorganisme mengembangkan jalur metabolisme lain yang memintas reaksi yang dihambat oleh obat.
5. Mikroorganisme membentuk enzim yang telah mengalami perubahan tetapi enzim masih dapat menjalankan fungsi metabolismenya serta tidak begitu dipengaruhi oleh obat seperti pada bakteri yang peka (4).

II.3.8.1 Plasmid Resistance (R) Bertanggung Jawab atas Terjadinya Resistensi Antibiotika

Plasmid merupakan elemen genetik diluar kromosom yang dapat mengadakan replikasi secara otonom di dalam sel tuan rumahnya. Molekul plasmid resistance (R) adalah transposon potongan DNA yang bersifat mobile yang dapat menyisip masuk ke dalam berbagai lokasi pada kromosom bakteri, plasmid atau DNA bakteriofag (27, 32, 34).

Transposon mempunyai kemampuan mengadakan transposisi yaitu proses rekombinasi diantara molekul DNA dengan tidak tergantung adanya kesamaan sekuen DNA. Hal ini akan mempermudah terjadinya transfer gen resistensi diantara spesies bakteri dari spesies yang sama maupun berbeda melalui proses konjugasi (27, 31, 33).

II.3.9 Pengujian Aktivitas Antibiotika Secara Mikrobiologi

Penentuan kepekaan bakteri patogen terhadap antibiotika dapat dilakukan dengan 2 metode pokok yaitu dilusi dan difusi. Penggunaan metode standar penting sekali untuk mengendalikan semua faktor yang mempengaruhi aktivitas antibiotika. Metode standar yang dipergunakan

sesuai dengan metode *National Committee for Clinical Laboratory Standard* (NCCLS) (21,24).

II.3.9.1 Metode Dilusi (pengenceran)

Metode ini menggunakan antibiotika dengan kadar yang menurun secara bertahap baik dengan media cair atau padat. Kemudian media diinokulasi bakteri uji dan dieramkan. Tahap akhir dilarutkan antibiotika dengan kadar yang menghambat atau mematikan (23,26).

Uji kepekaan cara dilusi agar dan dilusi cair dengan menggunakan tabung memakan waktu dan penggunaannya dibatasi pada keadaan tertentu saja. Prinsip dari metode ini adalah penghambatan pertumbuhan kuman dalam media oleh antibiotika yang dicampurkan dalam media tersebut. Cara uji kepekaan dilusi yang lebih sederhana dan banyak dipakai yakni menggunakan *Microdilution plate* (4,13).

Keuntungan uji mikrodilusi cair adalah bahwa uji ini memberikan hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah antibiotika yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (23).

II.3.9.2 Metode Difusi (penyerapan)

Metode yang paling sering digunakan pada uji kepekaan antibiotika adalah metode difusi agar dan cakram kertas. Cakram kertas saring berisi sejumlah tertentu obat yang ditempatkan pada permukaan medium padat yang telah diinokulasi, diameter zona hambatan sekitar cakram dipergunakan mengukur kekuatan hambatan obat terhadap organisme uji

Metode ini dipengaruhi oleh faktor fisik dan kimia, faktor obat, faktor organisme uji: sifat medium, kemampuan difusi, ukuran molekular dan stabilitas obat. Dengan standarisasi faktor-faktor tersebut memungkinkan melakukan uji kepekaan dengan baik. (22, 24).

Interpretasi terhadap hasil uji difusi didasarkan pada perbandingan terhadap metode dilusi. Beberapa data perbandingan digunakan sebagai standar referensi. Grafik regresi linier dapat menunjukkan hubungan antara log kadar hambat minimal (KHM) pada cara dilusi dan diameter zona hambatan pada difusi cakram (23).

Metode difusi yang digunakan untuk uji kepekaan dilaboratorium mikrobiologi direkomendasi oleh *Food Drug Administration (FDA)*, *National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS)*, dan *World Health Organization (WHO)* adalah uji kepekaan metode Kirby–Bauer (KB) (21).

BAB III

PELAKSANAAN PENELITIAN

II. 1 Alat dan Bahan yang Digunakan

Alat yang digunakan adalah mikropipet, tabung reaksi, ose, lampu spirtus, dan inkubator.

Bahan – bahan yang digunakan adalah nutrient agar (NA), muller hinton broth (MHB), standar kekeruhan Mac. Farland, *amoksisilin* dan kristal lisozim.

II. 2 Penyiapan Sampel Penelitian

Bakteri uji yang digunakan pada penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Sampel bakteri diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi AAK Depkes RI Mataram.

II. 3 Pembuatan Media dan Standar Kekeruhan Mac Farland

II. 3.1 Pembuatan Media Nutrien Agar (NA)

Ditimbang 20 g media NA dan dilarutkan dalam 1000 ml air suling, selanjutnya dicampur sampai homogen. Diperiksa pH nya (pH harus 7,2), kemudian dipanaskan sampai mendidih. Disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit. Dibiarkan sampai suhu 45⁰C, kemudian dituang pada cawan petri steril dan dibiarkan membeku.

II.3.2 Pembuatan Media Muller Hinton Broth (MHB)

Ditimbang 9,38 g media MHB dan dilarutkan dalam 1000 ml air suling, selanjutnya dicampur sampai homogen. Diperiksa pH nya (pH 7,4),

kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi, masing-masing 1 ml. Disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

II. 3.3 Pembuatan Standar Kekeruhan 0,5 Mac Farland

Dipipet larutan H_2SO_4 1 % sebanyak 9,95 ml, kemudian ditambahkan 0,5 ml BaCl_2 1,75 % sehingga terjadi kekeruhan. Kekeruhan yang terbentuk diperkirakan sesuai dengan jumlah kuman $1.5 \cdot 10^8$ kuman / ml (9).

II. 4 Pembuatan Suspensi Bakteri

Biakan bakteri uji ditanam pada media NA, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam secara aerob. Selanjutnya, satu ose bakteri diinokulasi dalam 2 ml media MHB, diinkubasi 37°C selama 4 jam sehingga terlihat adanya pertumbuhan bakteri. Kemudian dibandingkan kekeruhannya dengan 0,5 Mac Farland. Jika suspensi bakteri lebih keruh dari 0,5 Mac Farland, maka suspensi bakteri diencerkan dengan medium MHB sampai kekeruhannya sesuai. Suspensi bakteri yang dibuat sebanyak 30, sebagai sampel uji.

II. 5 Pembuatan Larutan *Amoksisilin*

Ditimbang sebanyak 100 mg serbuk *amoksisilin* selanjutnya didispersikan dengan larutan dapar fosfat pH 7,0 dalam labu tentukur 100 ml dan diencerkan hingga tanda batas. Diperoleh konsentrasi *amoksisilin* 1 mg/ml.

amoksisilin tabung I adalah 0,5 mg/ml, tabung II 0,250 mg/ml dan seterusnya sampai tabung X adalah 0,009765 mg/ml.

3. Ditambahkan masing – masing 0,1 ml suspensi kuman ke dalam tabung I sampai tabung X, sedangkan tabung XI ditambahkan dengan 0,1 ml larutan *amoksisilin* sebagai kontrol negatif, sedangkan tabung XII ditambahkan suspensi kuman 0,1 ml sebagai kontrol positif.
4. Diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam secara aerob. Diamati kekeruhan yang terjadi pada masing-masing tabung.
5. Pemeriksaan kadar hambat minimal *amoksisilin* tanpa lisozim dan pemeriksaan kadar hambat minimal lisozim caranya sama seperti di atas. (Dilakukan masing-masing terhadap 30 sampel uji)
6. Kadar hambat minimal akan ditunjukkan dengan tidak timbulnya kekeruhan (media pada tabung masih jernih) pada konsentrasi terendah dari *amoksisilin*.

II. 9.2 Uji Kadar Bunuh Minimal

1. Diambil 1 ose dari larutan jernih pada tiap tabung, kemudian digoreskan pada media NA.
2. Inkubasi 37⁰C selama 24 jam secara aerob, diamati adanya pertumbuhan koloni pada media.
3. Kadar bunuh minimal ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri pada NA dengan konsentrasi *amoksisilin* terendah.

II. 10 Pengumpulan dan Pengolahan Data

Data diperoleh dengan mencatat berapa kadar hambat dan kadar

bunuh minimal dari *amoksisilin*, kadar hambat dan kadar bunuh minimal dari amoksisilin yang dikombinasikan dengan lisozim serta kadar hambat dan kadar bunuh minimal lisozim. Data yang diperoleh ditabulasi, kemudian diolah secara statistika.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV. 1 Hasil Penelitian

Pada penelitian ini dilakukan penentuan kadar hambat minimal (KHM) amoksisilin, kombinasi amoksisilin dengan lisozim dan lisozim terhadap *Staphylococcus aureus*.

Hasil penentuan kadar hambat minimal amoksisilin dan kombinasi amoksisilin dengan lisozim serta kadar hambat minimal lisozim terhadap *Staphylococcus aureus* ditunjukkan pada tabel.

Tabel 1. Hasil Uji Kadar Hambat dan Kadar Bunuh Minimal Amoksisilin dan Campuran Amoksisilin dengan Lisozim

No sampel	Variabel					
	Kadar Hambat Minimal (KHM) dalam mg/ml			Kadar Bunuh Minimal (KBM) dalam mg/ml		
	A	A + L	L	A	A + L	L
1	0.125	0.063	> 200	0.25	0.125	> 200
2	0.125	0.125	> 200	0.25	0.25	> 200
3	0.25	0.125	> 200	0.5	0.25	> 200
4	0.125	0.063	> 200	0.125	0.063	> 200
5	0.125	0.063	> 200	0.5	0.125	> 200
6	0.125	0.125	> 200	0.25	0.25	> 200
7	0.5	0.125	> 200	0.5	0.25	> 200
8	0.25	0.125	> 200	0.5	0.125	> 200
9	0.125	0.125	> 200	0.25	0.25	> 200
10	0.125	0.063	> 200	0.25	0.125	> 200
11	0.063	0.031	> 200	0.125	0.063	> 200
12	0.25	0.25	> 200	0.5	0.5	> 200

13	0.125	0.125	> 200	0.25	0.25	> 200
14	0.125	0.063	> 200	0.25	0.125	> 200
15	0.25	0.125	> 200	0.5	0.25	> 200
16	0.125	0.125	> 200	0.25	0.25	> 200
17	0.125	0.063	> 200	0.125	0.063	> 200
18	0.25	0.125	> 200	0.5	0.25	> 200
19	0.125	0.063	> 200	0.25	0.125	> 200
20	0.125	0.125	> 200	0.25	0.25	> 200
21	0.125	0.031	> 200	0.25	0.125	> 200
22	0.25	0.125	> 200	0.5	0.25	> 200
23	0.5	0.25	> 200	0.5	0.125	> 200
24	0.125	0.063	> 200	0.25	0.125	> 200
25	0.125	0.125	> 200	0.25	0.25	> 200
26	0.125	0.063	> 200	0.25	0.125	> 200
27	0.25	0.125	> 200	0.5	0.25	> 200
28	0.125	0.125	> 200	0.25	0.25	> 200
29	0.125	0.063	> 200	0.25	0.125	> 200
30	0.25	0.125	> 200	0.5	0.25	> 200
$\sum x$	5.438	3.192		9.875	5.814	
x	0.181266667	0.1064		0.329166667	0.1938	
SD	0.104240416	0.0515227		0.137258147	0.0918261	
$\sum (xi-x)^2$	0.31487158	0.076915		0.546289282	0.24439	

Keterangan :

A : Amoksisilin

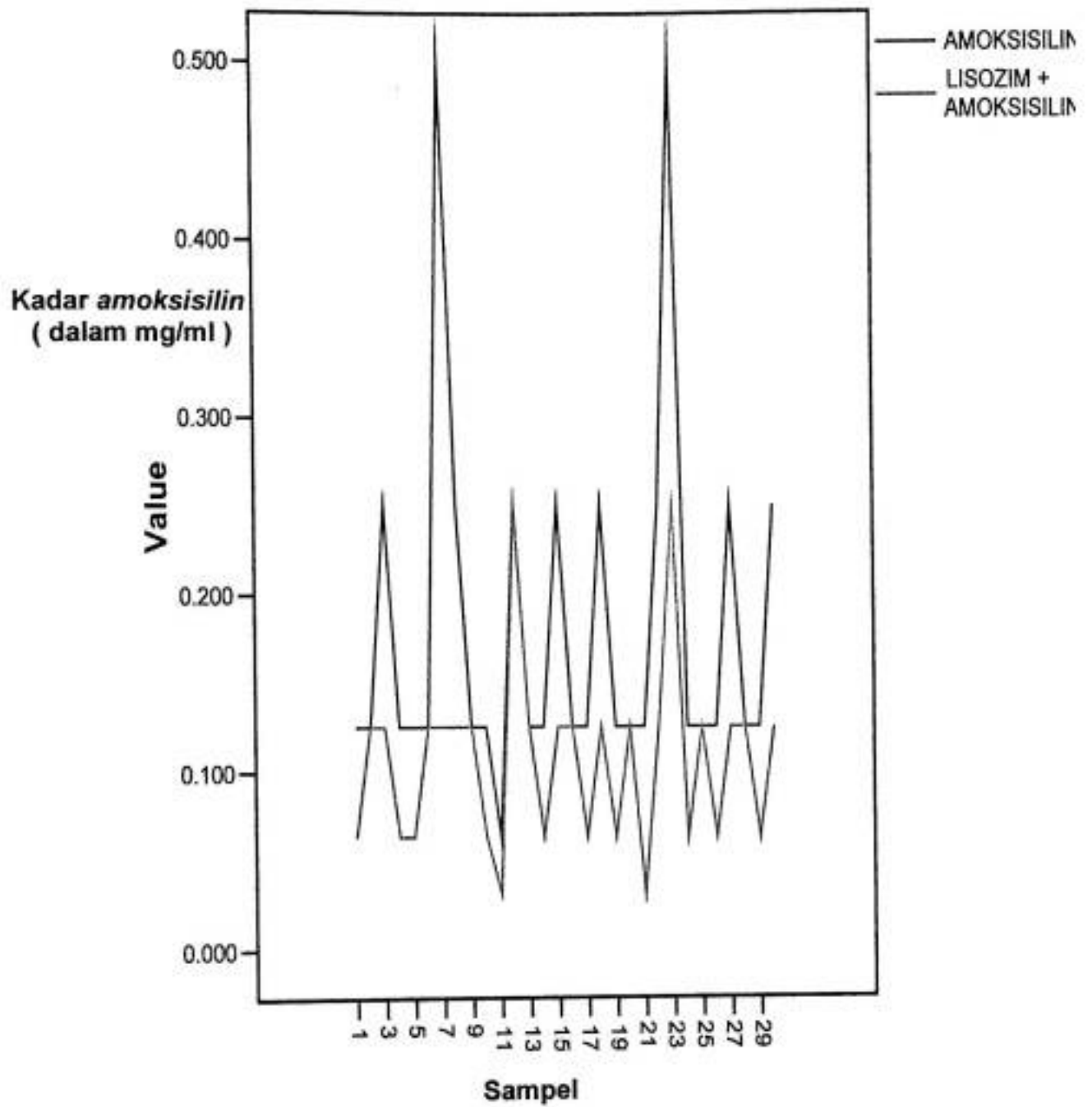
A + L : Campuran amoksisilin dengan lisozim

L : Lisozim

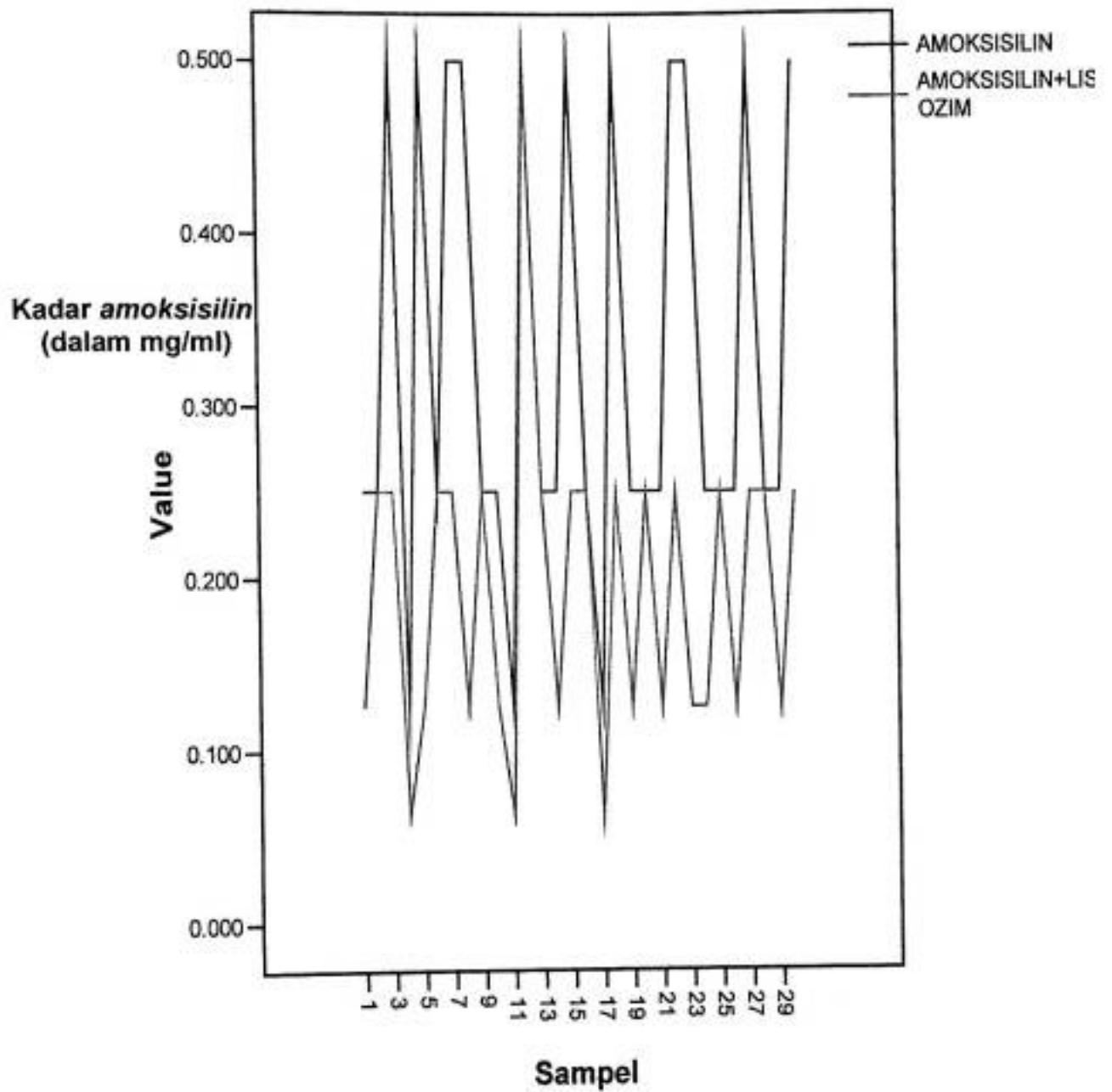
$\sum x$: Jumlah kadar keseluruhan

X : Kadar rata – rata amoksisilin

SD : Standar Deviasi



Gambar 5. Grafik Perbandingan Kadar Hambat Minimal Amoksisilin dan Campuran Amoksisilin dengan Lisizom



Gambar 6. Grafik Perbandingan Kadar Bunuh Minimal Amoksisilin dan Campuran Amoksisilin dengan Lisizom

Pada tabel diatas, kadar hambat minimal dari *amoksisilin* menunjukkan kadar rata-rata dan simpangan bakunya adalah; $\bar{x}_1 = 0.181266667$, $SD_1 = 0.104240416$, sedangkan kadar hambat minimal dari gabungan *amoksisilin* dan lisozim menunjukkan kadar rata-rata dan simpangan bakunya adalah; $\bar{x}_2 = 0.1064$, dan $SD_2 = 0.0515227$. Berdasarkan hasil perhitungan statistik didapatkan t hitung (t') untuk kadar hambat minimal *amoksisilin* dan gabungan *amoksisilin* dengan lisozim adalah 5,001 dan t tabel (t) adalah 1,70.

Menurut kriteria pengujian, bahwa H_0 diterima bila ; $-t < t' < t$, dari hasil tersebut tampak bahwa t hitung (t') lebih besar dari t tabel (t); yaitu $t' > t$; $5,001 > 1,70$ sehingga H_0 ditolak. Penambahan lisozim pada *amoksisilin* memberikan perbedaan kadar *amoksisilin* yang berarti pada pemeriksaan kadar hambat minimal *amoksisilin* terhadap *Staphylococcus aureus* pada taraf 5 %.

Kadar bunuh minimal rata – rata dari *amoksisilin* dan simpangan bakunya adalah; $\bar{x}_1 = 0,329166667$, $SD_1 = 0,137258147$, sedangkan kadar bunuh minimal dari gabungan *amoksisilin* dan lisozim dan simpangan bakunya adalah; $\bar{x}_2 = 0,1938$, dan $SD_2 = 0,0918261$.

Pengolahan secara statistik didapatkan t hitung untuk kadar bunuh minimal *amoksisilin* dan gabungan *amoksisilin* dengan lisozim adalah 5,97. t hitung (t') lebih besar dari t tabel (t); yaitu $5,97 > 1,70$ sehingga H_0 ditolak. Penambahan lisozim pada *amoksisilin* memberikan perbedaan kadar *amoksisilin* yang berarti pada

pemeriksaan kadar bunuh minimal *amoksisilin* terhadap *Staphylococcus aureus* pada taraf 5 %.

Penambahan lisozim pada pemeriksaan kadar hambat *amoksisilin* terhadap *Staphylococcus aureus* memberikan hasil yang bermakna terhadap kadar hambat dan kadar bunuh *amoksisilin* terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Hal ini dapat dilihat dari hasil uji t terhadap kedua pemeriksaan tersebut.

IV. 2 Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian yang ditunjukkan pada tabel hasil pemeriksaan diatas didapatkan, kadar hambat minimal *amoksisilin* rata-rata adalah 0,1812 mg/ml, sedangkan kadar hambat minimal campuran *amoksisilin* dengan lisozim rata-rata adalah 0,1064 mg/ml. Sedangkan hasil penentuan kadar hambat minimal dari lisozim lebih besar dari 200 mg/ml. Pada konsentrasi 200 mg/ml lisozim masih belum memberikan efek terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

Kadar bunuh minimal rata-rata *amoksisilin* adalah 0,2391 mg/ml dan kadar bunuh minimal rata-rata campuran *amoksisilin* dengan lisozim adalah 0,1938 mg/ml. Kadar hambat minimal dan kadar bunuh minimal rata-rata *amoksisilin* lebih besar daripada kadar hambat minimal kombinasi *amoksisilin* dengan lisozim.

Pengamatan kadar hambat minimal dan kadar bunuh minimal dari dua variabel menunjukkan bahwa kombinasi *amoksisilin* dengan

lizozim mampu menurunkan kadar hambat minimal *amoksisilin* terhadap *Staphylococcus aureus*, demikian pula dengan kadar bunuh minimalnya. Hasil uji statistika dengan menggunakan uji *t* berpasangan menunjukkan bahwa kadar hambat minimal *amoksisilin* lebih besar daripada kadar hambat minimal kombinasi *amoksisilin* dengan lizozim dengan $t_{hitung} > t_{(0.95),29}$, yaitu $5,001 > 1,70$. Demikian juga kadar bunuh minimalnya yaitu; t hitungnya 5,97 dan t tabel 1,70.

Terjadinya penurunan kadar hambat minimal *amoksisilin* terhadap *Staphylococcus aureus* disebabkan oleh karena adanya interaksi antara lizozim dengan *amoksisilin*. Terdapat sifat saling menunjang antara lizozim dengan *amoksisilin*. Lizozim akan menghidrolisis ikatan C1 N-asetil muramat dengan C4 N - asetil glukosamain peptidoglikan dari dinding sel bakteri (15).

Kemampuan lizozim untuk menghidrolisis dinding sel *Staphylococcus aureus* akan meningkat apabila keeratatan jalinan peptidoglikan dinding sel *Staphylococcus aureus* berkurang. *Amoksisilin* bekerja dengan cara mencegah terjadinya ikatan kimia antara komponen penyusun peptidoglikan dinding sel *Staphylococcus aureus* (3, 30).

Amoksisilin menghambat D-alanin-transpeptidase pada pembentukan dinding sel *Staphylococcus aureus* sehingga pita glikan dinding sel tidak menyatu dan dinding sel menjadi tidak stabil, sehingga dinding sel menjadi renggang (3). Akibat dinding sel yang

renggang, lisozim dengan mudah berikatan dengan peptidoglikan sel *Staphylococcus aureus* dan menghidrolisisnya dengan cepat, sehingga membantu amoksisilin menghambat pertumbuhan bakteri.

Kadar amoksisilin yang dibutuhkan untuk menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* lebih kecil bila dibandingkan dengan dengan amoksisilin yang tidak dikombinasikan dengan lisozim.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V. 1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, bahwa penambahan lisozim mempunyai efek terhadap penurunan kadar hambat minimal *amoksisilin* terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Kadar hambat minimal rata-rata *amoksisilin* terhadap *Staphylococcus aureus* yang dikombinasikan dengan lisozim adalah 0,1064 mg/ml, sedangkan tanpa penambahan lisozim adalah 0,1812 mg/ml.

V. 2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek lisozim yang dikombinasikan dengan antibiotika golongan betalaktam yang lain terhadap berbagai bakteri khususnya bakteri gram positif.

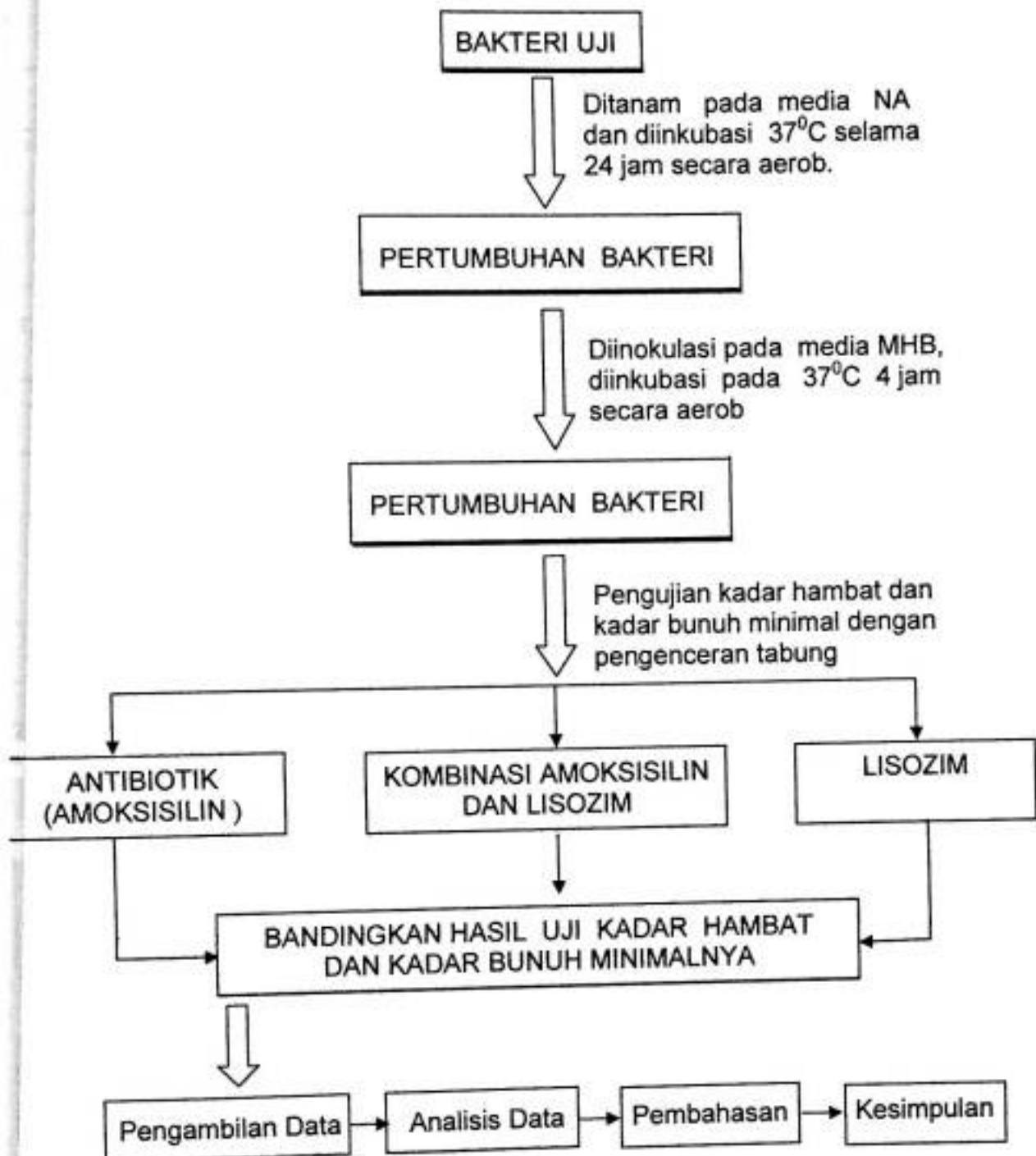
DAFTAR PUSTAKA

1. Supardi, I. 1988. Pola Kepekaan Kuman Isolat dari Bahan Klinik di Bandung Terhadap Berbagai Jenis Antibiotok. *Majalah Kesehatan Ilmiah Bandung XXI (2).* 41,48
2. Diarti, M.W. 2000. *Bakteriologi klinik.* Akademi Analis Kesehatan Depkes RI. Mataram. 30
3. Syarif, A., Setiawati, A., Muchtar, A. dkk. 2001. *Farmakologi dan Terapi.* Edisi 4. Gaya Baru. Jakarta. 647
4. Brooks, G.F., Butel, J.S., Morse, S.A. 2005. *Jawetz, Melnick & Alderberg's Mikrobiologi Kedokteran.* Edisi kedua. Penerjemah : Bagian Mikrobiologi FK Unair. Salemba Medika. Jakarta. 29
5. Yulian, F. 2004. *Antibiotik Amoksisilin.* [WWW.YulianFirdaus.Or.id / 2004/ 12/ 08/ Antibiotik- Amoksisilin.](http://WWW.YulianFirdaus.Or.id/2004/12/08/Antibiotik-Amoksisilin) Diakses 14 November 2006
6. Voet,D., Voet, J.G. 1995. *Biochemistry.* Second edition. Jonn Wiley & Sons, INC. New York. 381
7. Baratawidjaja, K.G. 2004. *Imunologi Dasar.* Edisi 6.. Gaya Baru. Jakarta. 6
8. Soendjojo, A., Barakbah, J., Idajadi, A. 1980. Thiamphenikol plus Lisozim Pada Pengobatan *Gonorrhoeae.* *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Mutiara Medika.* **1 (1).** 5-10
9. Soemarno. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri.* 2000. Akademi Analis Kesehatan Depkes RI Jogjakarta. 121
10. Stryer, L. 1995. *Biochemestry.* 4 edition. WH Freeman and Co. New York. 135
11. Koneman, W.E., Allen, S.D., Dowell, V.R., Janda,M.W., Sommers, H.M., Winn, C.W. 1986. *Color Atlas Text Book of Diagnostik Mikrobiologi.* Third edition. J B Lippincott Company. Sydney. 313, 317
12. Willbraham, A.C., Matta, M.S. 1992. *Pengantar Kimia Organik dan Hayati.* Penerjemah : dr. Suminar achmadi. ITB. Bandung. 258
13. Departemen Kesehatan RI. 1986. *Bakteri Klinik.* Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 54

14. Soeputra, D. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Djembatan. Jakarta. 23
15. Jawetz., Melnick., and Adelberg's. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 22. Salemba Medika. Jakarta. 374
16. Williams, S.T. Staley J.T., Sneath P.H.A, Krieg N.R. and Holt J.G. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Ninth Edition. Williams & Willkins. USA. 93
17. Josodiwondo, S. 1994. *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi Revisi. Bina Rupa Aksara. Jakarta. 63-64
18. Wattimena, dkk. 1991. *Farmakodinamik dan Terapi Antibiotik*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 236-245
19. Ansel, H.C. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi Edisi IV*. Universitas Indonesia Press. Jakarta 175-181
20. Anief, M. 1995. *Prinsip Umum dan Dasar Farmakologi*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 120
21. Ballow, D.A., Piet, P., Vandepitte, J. 1985. *Second Part of Bench Level Procedure Manual on Basic Bacteriology*. WHO. 245
22. Forbes, B.A, Sahm D.F and Weissfeld A.S. 2002. *Diagnostic Microbiology*. Eleventh Edition. The C.V. Mosby, Inc. St. Louis, Missouri. 251
23. Murray, P.R., Ellen J.B., Michael A.P., Fred C.P. and Robert H.Y. 1995. *Manual of Clinical Microbiology*. Fourth Edition. Washington D.C.
24. National Commite of Clinical Laboratory Standard. 2001 *Performance Standards For Antimicrobial Susceptibility Testing Eleventh Informational Supplement*. Vol : 21 No. 1 NCCLS. USA. 78-88
25. Prescott, L. M., Harley J.P. and Klein D.A. 1999. *Microbiology General Topics*. Fourth Edition. The MC Graw-Hill Companies. Inc. North America. 27
26. Stokes, E.J. and Ridgway G.L. 1987. *Clinical Microbiology*. Sixth Edition, Edward Arnold. 1032
27. Tortora, G.J., Funke B.R. and Case C.L. 1998. *Microbiology an Introduction*. Sixt Edition. Benjamin Publishing Company, Inc. USA. 636

28. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 95
29. LIPI. 2004. *Peran Senyawa Kimia dalam Sistem Pertahanan Tubuh* <http://www.kimianet.lipi.go.id/utama.artikel>. Diakses 14 November 2006
30. Lehninger, A.L. 2005. *Dasar-Dasar Biokimia*. Penerjemah: Dr.Ir. Maggy Thenawidjaja. Erlangga. Jakarta. 259-260.
31. Tricu-Cuot, P., Gerbaud G., Lambert T. and Courvalin, P. 1985. *In vivo Transfer of Genetic Information Between Gram Positif On Gram Negative Bacteria*. *Embo J.* 3583
32. Drlica, K. 1984. *Plasmids and Phages in Understanding DNA and Gene Cloning*, John Wiley and Sons, New York. 172
33. Ralison, GN. 1998. *Forty Years β -Lactam Research*. *J. Antimicrobiol Chemo.* 589-603
34. Smith, C.J., and Parker, A.C. 1996. *A gene Product Related Total is Required For Mobilization of Bacterioides Mobile Transposon and Plasmid*. *Moleculer Microbiology.* 741

Lampiran 1. Skema Kerja



mpiran 2. Hasil Uji T berpasangan.

T-Test Kadar Hambat Minimal

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
ir 1	AMOKSISILIN	.18127	30	.104240	.019032
	AMOKSISILIN + LISOZIM	.10640	30	.051523	.009407

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
ir 1	AMOKSISILIN & AMOKSISILIN + LISOZIM	30	.640	.000

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
ir	AMOKSISILIN - AMOKSISILIN + LISOZIM	.074867	.081505	.014881	.044432	.105301	5.031	29	.000

T-Test Kadar Bunuh Minimal

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
r 1	AMOKSISILIN	.32917	30	.137258	.025060
	AMOKSISILIN+LISOZIM	.19380	30	.091826	.016765

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
r 1	AMOKSISILIN & AMOKSISILIN+LISOZIM	30	.472	.009

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
r 1	AMOKSISILIN - AMOKSISILIN+LISOZIM	.135367	.124039	.022646	.089050	.181684	5.977	29	.000

Lampiran 3. Tabel distribusi t

TABEL DISTRIBUSI t
DUNJUK DUA ARAH

d.f	t _{0,250}	t _{0,100}	t _{0,050}	t _{0,025}	t _{0,010}	t _{0,005}	d.f
1	1,000	3,078	6,314	12,706	31,821	63,657	1
2	0,816	1,886	2,92	4,303	6,965	9,925	2
3	0,765	1,638	2,353	3,182	4,541	5,841	3
4	0,741	1,533	2,132	2,776	4,047	4,604	4
5	0,727	1,476	2,015	2,571	3,365	4,032	5
6	0,718	1,44	1,943	2,447	3,143	3,707	6
7	0,711	1,415	1,895	2,365	2,896	3,499	7
8	0,706	1,397	1,86	2,306	2,896	3,355	8
9	0,703	1,383	1,833	2,262	2,821	3,250	9
10	0,700	1,372	1,812	2,282	2,764	3,169	10
11	0,697	1,363	1,796	2,201	2,718	3,106	11
12	0,695	1,356	1,782	2,179	2,681	2,055	12
13	0,694	1,350	1,771	2,160	2,650	3,012	13
14	0,691	1,345	1,761	2,145	2,624	2,977	14
15	0,691	1,341	1,753	2,131	2,602	2,947	15
16	0,690	1,337	1,746	2,120	2,583	2,921	16
17	0,689	1,333	1,740	2,110	2,567	2,898	17
18	0,688	1,330	1,734	2,101	2,552	2,878	18
19	0,688	1,328	1,729	2,093	2,539	2,861	19
20	0,687	1,325	1,725	2,086	2,528	2,845	20
21	0,686	1,323	1,721	2,080	2,518	2,831	21
22	0,686	1,321	1,717	2,074	2,508	2,819	22
23	0,685	1,319	1,714	2,069	2,500	2,817	23
24	0,685	1,318	1,711	2,064	2,492	2,797	24
25	0,684	1,316	1,708	2,060	2,485	2,787	25
26	0,684	1,315	1,706	2,053	2,479	2,779	26
27	0,684	1,314	1,703	2,052	2,473	2,771	27
28	0,683	1,313	1,701	2,048	2,467	2,763	28
29	0,683	1,311	1,699	2,045	2,462	2,756	29
30	0,683	1,310	1,697	2,042	2,457	2,750	30
40	0,681	1,303	1,684	2,021	2,423	2,704	40
60	0,679	1,296	1,671	2,000	2,390	2,680	60
120	0,677	1,289	1,658	1,980	2,358	2,617	120
x	0,674	1,282	1,645	1,96	2,326	2,576	x

Lampiran 4. Komposisi dan cara pembuatan media NA dan MHB

1. Media NA

a. Beef extack	: 3 g
b. Pepton (bacto)	: 10 g
c. Natrium klorida (NaCl)	: 5 g
d. Agar	: 15 g

pH akhir 7,2

Dilarutkan dengan air suling 1000 ml. Diperiksa pH nya, kemudian dipanaskan sampai larut sempurna. Disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit . Dibiarkan sampai suhu 45⁰C, kemudian dituang pada cawan petri steril dan dibiarkan membeku.

2. Media MHB

a. Beef extrack	: 3 g
b. Peptone (bakto)	: 17,5 g
c. Glukosa	: 1,5 g

pH akhir 7,4

Dilarutkan dengan air suling 1000 ml. Diperiksa pH nya, kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi masing-masing 1 ml. Disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit.

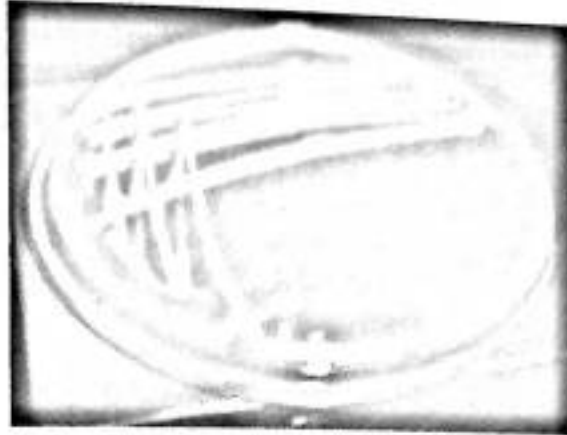
Lampiran 5. Standar kekeruhan Mac Farland dan larutan uji

Tabel 2. Standar Kekeruhan Mac Farland

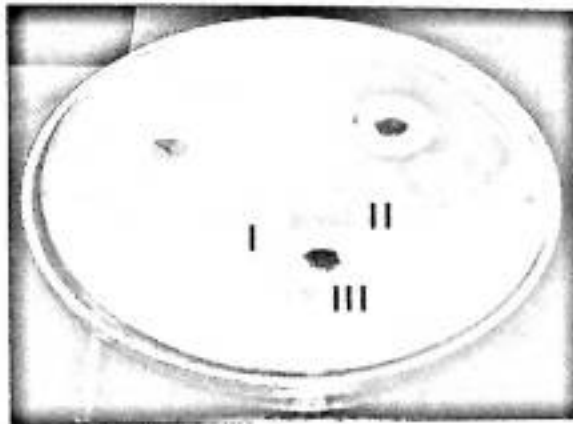
Reaksi : $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{BaCl}_2 \longrightarrow \text{BaSO}_4$ (endapan putih keruh)

No	Standar Mac Farland	H_2SO_4 1 %	BaCl_2 1,75 %	Perkiraan jumlah kuman
1	0,5	9,95 ml	0,05 ml	150 juta kuman / ml
2	1	9,9 ml	0,1 ml	300 juta kuman / ml
3	2	9,8 ml	1,2 ml	600 juta kuman / ml
4	3	9,7 ml	0,3 ml	900 juta kuman / ml
5	4	9,6 ml	0,4 ml	1200 juta kuman / ml
6	5	9,5 ml	0,5 ml	1500 juta kuman / ml
7	6	9,4 ml	0,6 ml	1800 juta kuman / ml
8	7	9,3 ml	0,7 ml	2100 juta kuman / ml
9	8	9,2 ml	0,8 ml	2400 juta kuman / ml
10	9	9,1 ml	0,9 ml	2700 juta kuman / ml
11	10	9,0 ml	1,0 ml	3000 juta kuman / ml

Lampiran 6. Koloni *Staphylococcus aureus* pada media NA dan hasil uji resistensi



Gambar 7. Koloni *Staphylococcus* pada media nutrien agar



Gambar 8. Hasil uji resistensi

- I : *Amoksisilin*
- II : Campuran *amoksisilin* dan lisozim
- III : Lisozim