

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Dari hasil penelitian yang meliputi penentuan kadar hambat minimal dari sefadroksil dan kombinasi lisozim-sefadroksil terhadap *Staphylococcus aureus*. Sebagai upaya untuk meningkatkan daya antibakteri sefadroksil terhadap bakteri tersebut diperoleh hasil sebagai berikut.

Penentuan kadar hambat minimal dari sefadroksil dan kombinasi lisozim sefadroksil terhadap *Staphylococcus aureus*. Kadar hambat minimal (KHM) diperoleh dengan mengamati tabung subkultur yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri (jernih), dengan konsentrasi terendah. *Staphylococcus aureus* dikatakan sensitif terhadap sefadroksil apabila memiliki KHM ≤ 18 , intermediet 16, dan resisten apabila KHM ≥ 32 (CLSI, 2014).

Hasil rata-rata kadar hambat minimal dari sefadroksil dan kombinasi lisozim-sefadroksil terhadap *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada tabel 3

Tabel 3 Hasil Penentuan KHM Lisozim, Sefadroksil, dan Sefad-Lisozim dengan Metode Dilusi

NO	Obat	KHM ($\mu\text{g/ml}$)
1.	Sefadroksil	41,66
2.	Sefad-Lisozim	9,781
3.	Lisozim	300

Dari tabel dapat dilihat bahwa kadar hambat minimal sefadroksil sebesar 41,66 $\mu\text{g/ml}$, lebih besar dari kadar hambat minimal lisozim-

sefadroksil sebesar 9,718 $\mu\text{g/ml}$, lisozim 300 $\mu\text{g/ml}$. Berdasarkan hal tersebut menunjukkan lisozim memiliki efek antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* (hipotesa 1 diterima).

Penelitian ini menggunakan uji statistik non parametrik mann whitney test yang berfungsi menentukan tingkat signifikan suatu populasi yang tidak terdistribusi dengan normal setelah dilakukan dengan uji normalitas. Dari hasil uji statistik tersebut menunjukkan bahwa $P > 0,05$ yang berarti bahwa tidak ada perbedaan KHM yang signifikan antara sefadroksil dan kombinasi sefadroksil dengan lisozim. Dilihat dari hasil yang tidak signifikan banyak faktor yang bisa mempengaruhi tingkat signifikan pada uji statistik non parametrik seperti man whitney test (hipotesa 2 di tolak).

Dari 8 sampel bakteri yang di ujikan, ada 4 sampel bakteri menjadi sensitif, dan ada 4 sampel tetap resisten. Hal ini berarti bahwa meskipun terjadi peningkatan kepekaan bakteri terhadap sefadroksil, tetapi secara keseluruhan bakteri tersebut tetap saja resisten terhadap sefadroksil. Jadi 200 $\mu\text{g/ml}$ lisozim hanya mampu mengatasi resistensi bakteri uji yang masuk dalam kategori intermediet.

B. Pembahasan

Penelitian ini membuktikan bahwa lisozim memiliki efek anti bakteri, namun kombinasi sefadroksil-lisozim tidak dapat menurunkan kadar hambat minimal sefadroksil terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Lisozim atau *nasetil neuramide glikan hidrolase*, suatu enzim penghidrolisis yang dapat membunuh kuman tertentu. Enzim ini ditemukan oleh Alexander Fleming (1921), Gugus aktifnya adalah dua gugus karboksil. $\beta - 1,4$ Nac-N- Asetil yang melisis sel bakteri gram positif, namun spektrum lisis dari lisozim hanya terbatas bekerja terhadap gram positif (Melani, *et al.*, 2013).

Dari penelitian yang sudah dilakukan, membuktikan bahwa lisozim memiliki efek antibakteri seperti yang tertulis pada penelitian Dwijoseputuro, 1986 yang mengatakan bahwa 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.

Lisozim 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. Sasaran pemecahan oleh lisozim adalah di ikatan 1,4 antara asam N-asetilmuramat dan N-asetilglukosamin (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). 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).

Staphylococcus aureus adalah organisme yang memiliki faktor virulensi kuat, kemampuan bertahan, dan resistensi antimikrobia (Simor & Loeb, 2009). Untuk itu diperlukan alternatif terapi infeksi *Staphylococcus aureus*. Sefalosporin, seperti sefadroksil adalah antibiotik generasi pertama yang memiliki aktivitas bakterisidal yang luas dengan cara menghambat sintesis dinding sel, dan mempunyai masa kerja yang panjang. Secara *in vitro* memiliki aktivitas luas terhadap bakteri gram positif dan gram negatif, memiliki stabilitas yang tinggi terhadap β -laktamase baik penisilase maupun sefalosporinase yang dihasilkan bakteri gram positif dan gram negatif (Sweetman, 2009). Dari penelitian menurut Sultana & Arayne 2007,

menyatakan bahwa kadar hambat minimum sefadroksil terhadap *Staphylococcus aureus* adalah 4µg/ml.

Target utama proses antibakteri dari lisozim adalah pada bakteri dengan gram positif dan yang merupakan incarannya adalah dinding dari bakteri tersebut yang berupa peptidoglikan yang tidak dimiliki oleh bakteri gram negative (Benkerroum, 2008). Tidak adanya penurunan KHM kombinasi sefadroksil dan lisozim dibanding dengan KHM tunggal sefadroksil terhadap *Staphylococcus aureus* diperkirakan karena kedua antibakteri tersebut memiliki target kerja yang berbeda dan saling mendukung dalam mengakibatkan kerusakan pada sel bakteri.

Sefadroksil merupakan antibiotik spectrum tinggi yang berpotensi menjadi terapi yang sangat sensitif pada bakteri gram positif salah satunya *Staphylococcus aureus*. Dalam sefadroksil terkandung ikatan monohidrat dan trihidrat yang aktif pada bakteri gram positif, maka dari itu sedikit rendah bekerja pada bakterigram negatif (Sultana & Arayne, 2007). Lisozim adalah merupakan hidrolis enzim yang berfungsi merusak peptidoglikan yang merupakan kandungan dari dinding sel bakteri, seperti yang sudah di jelaskan bahwa lisozim bisa sangat sensitive pada bakteri gram positif salah satunya adalah *Staphylococcus aureus* (Benkerroum, 2008).

Dari ke dua variabel yang diamati menunjukkan bahwa, kombinasi 60 µg/ml lisozim dengan 200µg/ml sefadroksil tidak mampu menurunkan kadar hambat minimal sefadroksil terhadap *Staphylococcus aureus*. Tidak terjadinya penurunan kadar hambat minimal dari kombinasi sefadroksil dan

enzim lisozim terhadap *Staphylococcus aureus* ini disebabkan oleh tidak adanya interaksi antara lisozim dengan sefadroksil. Terdapat sifat saling mendukung antara lisozim dengan sefadroksil. Lisozim akan menghidrolisis ikatan C1 N-asetil muramat dengan C4 N-asetil glukosamin peptidoglikan *Staphylococcus aureus* yang diuji. Kemampuan lisozim untuk menghidrolisis dinding sel bakteri akan meningkat apabila keeratatan jalinan peptidoglikan dinding sel bakteri berkurang. 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).

Selanjutnya secara perhitungan statistik di dapatkan bahwa hasil yang di peroleh antara kombinasi sefadroksil dan lisozim ataupun tanpa kombinasi di dapatkan nilai yang tidak signifikan dalam perhitungannya. Tetapi dalam hal ini perhitungan statistik tidak berpengaruh besar pada hasil penelitian yang sudah di lakukan karena nilai yang di dapat untuk di masukkan kedalam rumus statistik tidak terdistribusi secara normal, dan hal ini merupakan hal yang wajar dalam suatu perhitungan statistika.

Kerentanan bakteri terhadap antibiotik terjadi bila bakteri tersebut dapat dihambat secara in vitro oleh obat dalam suatu konsentrasi, dengan keberhasilan terapeutik tinggi. Intermediet terjadi bila bakteri dihambat oleh antibiotik secara in vitro dalam suatu konsentrasi namun efek terapeutiknya belum jelas. Bakteri disebut resisten terhadap antibiotik apabila saat bakteri dihambat secara in vitro oleh suatu antibiotik, kemungkinan kegagalan

terapinya tinggi (Rodloff,*et al.*, 2008).

Menurut Jawetz (2010), jika antibiotik digunakan dalam kombinasi dengan antibiotik lain untuk menghambat pertumbuhan suatu isolat bakteri yang homogen, efek yang mungkin muncul adalah salah satu dari berikut:

1. Sinergisme, aksi kombinasi lebih baik secara signifikan daripada penjumlahan dari kedua efek antibiotik.
2. Aditif, aksi kombinasi sama dengan penjumlahan efek dari tiap antibiotik saat digunakan secara tunggal.
3. Indiferen, aksi kombinasi tidak lebih baik saat dibandingkan dengan penggunaan antibiotik secara tunggal.
4. Antagonisme, aksi kombinasi kurang efektif dibandingkan dengan penggunaan antibiotik secara tunggal.

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

Resistensi *Staphylococcus aureus* terhadap sefadroksil disebabkan karena bakteri tersebut memproduksi enzim betalaktamase. Sefadroksil termasuk dalam golongan beta laktam, pada bakteri gram positif, enzim ini di lepas dari sel dan merusak antibiotik yang ada di sekitarnya. Selain adanya enzim beta laktamase, yang membuka cincin beta laktam penicillin dan mengakibatkan inaktivasi antimikroba pada *Staphylococcus aureus*. Penyebaran jenis yang berbeda dari beta laktamase dengan spektrum yang diperluas (ESBL) seperti CTXm dan AmpC menyebabkan resistensi terhadap golongan penicillin dan cefalosporin (Gillespie & Bamford, 2009).

Kesulitan penelitian adalah munculnya kontaminasi pada saat proses dilusi. Hal ini dapat terjadi karena pemakaian alat maupun prosedur yang tidak steril. Untuk mengantisipasi, lakukan prosedur aseptik sebelum penelitian, pastikan semua alat dan bahan masih steril, kenakan gloves dan masker, hindari menggunakan bahan yang sudah terkontaminasi. Apabila terdapat bahan yang disimpan lama (dua minggu atau lebih) lakukan resteril. Selain itu, pertahankan alat dan bahan agar tidak terkontaminasi selama penelitian serta lakukan penelitian di dekat api.