

Naskah Publikasi

**EFEKTIFITAS LISOZIM PADA PENURUNAN KADAR
HAMBAT MINIMUM AMOKSISILIN TERHADAP
Streptococcus pneumoniae RESISTEN AMOKSISILIN**

Diajukan untuk Memenuhi Sebagian Syarat memperoleh Derajat Sarjana
Kedokteran pada Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas
Muhammadiyah Yogyakarta



**TOMY HARDIANTO
20150310093**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH YOGYAKARTA
2019**

HALAMAN PENGESAHAN NASKAH PUBLIKASI
EFEKTIFITAS LISOZIM PADA PENURUNAN KADAR
HAMBAT MINIMUM AMOKSISILIN TERHADAP
Streptococcus pneumoniae RESISTEN AMOKSISILIN


Disusun oleh:
TOMY HARDIANTO
20150310093


Telah disetujui dan diseminarkan pada tanggal:
8 April 2019



Dosen Pembimbing


Dosen Penguji


Dr. Dra. Lilis Suryani, M. Kes
NIK. 19680210199511173013


dr. Inayati Habib, M. Kes, Sp.MK
NIK. 19680113199708173025

Mengetahui
Kaprosdi Pendidikan Dokter FKIK
Universitas Muhammadiyah Yogyakarta




Dr. dr. Sri Sundari, M. Kes
NIK: 19670513199609173019

The Effectiveness of Lysozyme in Decreasing the Minimum Inhibitory Concentration against Amoxicillin-Resistant *Streptococcus pneumoniae*

Efektifitas Lisozim pada Penurunan Kadar Hambat Minimum Amoksisilin terhadap *Streptococcus pneumoniae* Resisten Amoksisilin

Tomy Hardianto¹, Lilis Suryani²

¹Microbiology Laboratory, Medical School, Faculty of Medicine and Health Science, Muhammadiyah University Yogyakarta.

²Departement of Microbiology, Faculty of Medicine and Health Science, Muhammadiyah University Yogyakarta.

ABSTRACT

Background: *Streptococcus pneumoniae* is a gram-positive bacterium that causes various types of respiratory diseases such as pneumoniae, sinusitis, otitis, bronchitis and meningitis. Amoxicillin is a class of penicillin β -lactam antibiotic which works to inhibit cell wall synthesis of gram-positive bacteria such as *Streptococcus pneumoniae*. Lysozyme is an enzyme that has a role in killing gram-positive bacteria by lyses the peptidoglycan cell wall.

Research Aims: To determine the effectiveness of lysozyme in reducing Amoxicillin minimal inhibitory levels against the bacteria *Streptococcus pneumoniae*.

Research Method: This research is experimental laboratory. Materials used include: Local *Streptococcus pneumoniae* strains, Amoxicillin, lysozyme (sigma), Tryptone Soya Agar (TSA) and Brain Heart Infusion (BHI) media. Determination of the combination of minimal lysozyme and Amoxicillin combination with a liquid dilution series method (tube dilution series).

Research Results: Based on the KHM examination with the dilution method, the following results are obtained: KHM lysozyme against *Streptococcus pneumoniae* $> 300 \mu\text{g} / \text{ml}$, MIC Amoxicillin against *Streptococcus pneumoniae* $166.67 \mu\text{g} / \text{ml}$, and a combination of lysozyme and Amoxicillin against *Streptococcus pneumoniae* $12,34 \mu\text{g} / \text{ml}$. The results of data analysis using One Way Anova were obtained $p < 0.05$ for MIC combination of lysozyme and Amoxicillin. This proves that the addition of lysozyme can reduce the rate of MIC in Amoxicillin against Amoxicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*.

Conclusion: Lysozyme with levels of $300 \mu\text{g} / \text{ml}$ does not have an antibacterial effect on Amoxicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*. The combination of lysozyme and Amoxicillin was able to reduce Amoxicillin minimal inhibitory concentration against Amoxicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*.

Key words: Amoxicillin, Lysozyme, *Streptococcus pneumoniae* Resistant to Amoxicillin, Minimum Inhibitory Level.

INTISARI

Latar Belakang: *Streptococcus pneumoniae* merupakan bakteri gram positif yang menyebabkan berbagai macam penyakit saluran pernafasan seperti pneumoniae, sinusitis, otitis, bronkitis dan meningitis. Amoksisilin merupakan antibiotik β -laktam golongan Penisilin yang bekerja menghambat sintesis dinding sel bakteri gram positif seperti *Streptococcus pneumoniae*. Lisozim adalah enzim yang memiliki peran dalam membunuh bakteri gram positif dengan cara melisiskan dinding sel peptidoglikan.

Tujuan Penelitian: Untuk mengetahui efektivitas lisozim pada penurunan kadar hambat minimal Amoksisilin terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae* resisten Amoksisilin.

Metode Penelitian: Penelitian ini bersifat eksperimental Laboratorium. Bahan yang digunakan antara lain: Strain *Streptococcus pneumoniae* lokal, Amoksisilin, lisozim (sigma), media Tryptone Soya Agar (TSA) dan Brain Heart Infusion (BHI). Penentuan kadar hambat minimal kombinasi lisozim dan Amoksisilin dengan metode seri dilusi cair (seri pengenceran tabung).

Hasil Penelitian: Berdasarkan pemeriksaan KHM dengan metode dilusi diperoleh hasil sebagai berikut: KHM lisozim terhadap *Streptococcus pneumoniae* $>300 \mu\text{g/ml}$, KHM Amoksisilin terhadap *Streptococcus pneumoniae* $166,67 \mu\text{g/ml}$, dan kombinasi lisozim dan Amoksisilin terhadap *Streptococcus pneumoniae* $12,34 \mu\text{g/ml}$. Hasil analisis data menggunakan One Way Anova diperoleh $p < 0,05$ untuk KHM kombinasi lisozim dan Amoksisilin. Hal ini membuktikan bahwa penambahan lisozim mampu menurunkan angka KHM Amoksisilin terhadap *Streptococcus pneumoniae* resisten Amoksisilin.

Kesimpulan: Lisozim dengan kadar $300 \mu\text{g/ml}$ tidak memiliki efek antibakteri terhadap *Streptococcus pneumoniae* resisten Amoksisilin. Kombinasi lisozim dengan Amoksisilin mampu menurunkan kadar hambat minimal Amoksisilin terhadap *Streptococcus pneumoniae* resisten Amoksisilin.

Kata Kunci: Amoksisilin, Lisozim, *Streptococcus pneumoniae* Resisten Amoksisilin, Kadar Hambat Minimal.

PENDAHULUAN

Streptococcus pneumoniae merupakan bakteri golongan gram positif, berbentuk lanset atau tersusun seperti rantai dengan disertai kapsul polisakarida yang dapat digunakan untuk menentukan tipe antiserum spesifik, bakteri ini menimbulkan penyakit pneumoniae dengan angka kematian tinggi. Pneumoniae merupakan salah satu infeksi pernafasan yang disebabkan karena masuknya berbagai macam mikroorganisme (bakteri, virus, fungi, dan parasit) di saluran pernafasan.¹

Hasil survey kesehatan nasional 2001 mencapai 22,8% kematian balita tertinggi dan infeksi pernafasan mencapai angka 12,7% dengan kematian terbanyak kedua.² Anak yang berusia dibawah 1 tahun rentan terkena pneumonia akut yang disebabkan karena bakteri *Streptococcus pneumoniae*.³

Pada penelitian yang dilakukan oleh⁴ (Balew arega *et al.*, 2018) resistensi obat

Amoksisilin-Clavulanic cid pada bakteri gram positif menduduki peringkat resistensi tertinggi ketiga (62,7%), resisten tertinggi pada obat Seftriakson (67,4%) dan kedua Oxacillin (67,4%). Pada bakteri gram negatif, resistensi obat tertinggi adalah Amoksisilin (80%) diikuti kedua adalah Seftriakson (73,3%), dan Sulvamethoxazole-Tri-Methoprim (73,3%). *Streptococcus pneumoniae* resisten terhadap Penisilin dengan median resisten (mr sebesar 26,7%).⁵

Organisme ini virulensinya ditentukan oleh kapsulnya yang dapat mencegah atau menghambat fagositosis serta memiliki struktur komponen peptidoglikan dan asam teikonat dimana polisakarida kapsular berikatan secara kovalen dengan peptidoglikan dan polisakarida dinding sel.¹

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.³

Amoksisilin termasuk golongan antibiotik β -laktam golongan Penisilin. Spektrum kerjanya aktif terhadap gram positif seperti *Streptococcus pneumoniae*.⁶

Antibiotik tersebut dianjurkan untuk pengobatan endokarditis, bronkitis, infeksi saluran kemih, infeksi pernafasan, otitis media dan faringitis yang disebabkan oleh *Streptococcus pneumoniae*. Amoksisilin bertindak dengan menghambat sintesis dari dinding sel bakteri dan menghambat hubungan silang antara rantai polimer peptidoklikan polimer linier.⁷ Amoksisilin termasuk golongan spektrum luas yang memiliki sifat bakterisid sehingga efektif terhadap bakteri.⁸ Menurut (Suryani *et al.*,

2011) hasil uji pola kepekaan bakteri isolat hidung pada penderita rinitis alergi dengan bakteri *Streptococcus* mencapai resisten 100% terhadap Amoksisilin.⁹

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.¹

Lisozim termasuk enzim bakteriolitik dikenal sebagai muramidase

atau N-acetylmuramoyl-hydrolase dan merupakan enzim hydrolase.¹⁰ Aktifitas antibakterial dari lisozim pada dasarnya digunakan pada bakteri gram positif dengan menghidrolis glukosamin N-Asetil.¹¹

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.¹² Lisozim akan kerjanya lebih aktif dengan bakteri gram positif dibandingkan pada bakteri gram negatif karena gram negatif memiliki komponen membran luar seperti lipopolisakarda sebagai

perlindungan¹³ dan komponen membran dalam sel bakteri yang terdiri dari lapisan-lapisan sehingga lebih sulit dirusak.¹⁴

Pada uraian diatas, penting dilakukan penelitian tentang efektifitas lisozim pada penurunan kadar hambat minimum Amoksisilin terhadap *Streptococcus pneumoniae* resisten Amoksisilin untuk mencari alternatif pengobatan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus pneumoniae* yang resisten terhadap Amoksisilin.

METODE

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorium. Bahan penelitian ini menggunakan *Streptococcus pneumoniae* strain lokal, serbuk Amoksisilin dan lisozim (sigma). Penentuan kadar hambat minimum Amoksisilin kombinasi Amoksisilin-lisozim menggunakan metode dilusi cair. Analisis data menggunakan uji One Way Anova.

HASIL

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 ≥ 8 .¹⁵

Hasil penelitian yang dilakukan untuk menentukan kadar hambat minimal dari liozim, Amoksisilin dan kombinasi liozim-Amoksisilin terhadap *Streptococcus pneumoniae*. Hasil penentuan KHM dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Penentuan KHM Liozim, Amoksisilin dan Liozim-Amoksisilin

NO	Liozim (ug/ml)	Amoksisilin (ug/ml)	Liozim-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
Rata-rata KHM	>300 ug/ml	166,67 ug/ml	12,34 ug/ml

Pada Tabel 1 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 liozim sebesar 12,34 $\mu\text{g/ml}$. Kadar hambat

minimum liozim sebesar >300 $\mu\text{g/ml}$, hal ini menunjukkan bahwa liozim 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).

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 perusakan mekanisme peptidoglikan pada membran dinding sel bakteri¹⁶¹⁷ sedangkan Amoksisilin termasuk antibiotik golongan β -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.¹⁸

Hasil tersebut sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh 19(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.²⁰ Sehingga pada kombinasi tersebut dapat menghambat pembentukan dinding sel bakteri serta dapat melisiskan.

Penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh ²¹ (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 kedalam 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 µg/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, ²²sehingga perlu dicari alternatif agar lisozim bekerja efektif yaitu melalui cara memodifikasi lisozim dengan perlakuan kimia, ultrafiltrasi, termokimia dan teknologi lainnya. ²³²⁴²⁵

Alternatif lain yang dapat meningkatkan aktivitas lisozim sebagai antibakteri dengan cara perlakuan enzimatik dan panas²⁶ melalui pemahan struktur protein, komponen asam amino dan urutan

asam amino. Lisozim ditemukan dalam dua bentuk dimer dan polimer aktif dengan suhu 20-30⁰C (titik transisi 25⁰C) dan PH dalam bentuk dimer 5-9.²⁷²⁸ Lisozim dengan modifikasi perlakuan panas mengalami denaturasi dengan suhu diatas 75⁰C²⁹ sehingga menyebabkan terjadinya akumulasi reaksi kimia seperti isomerisasi, imidesasi, deamidisasi dan resemisasi dari asam amino yang meningkatkan aktivitas antibakteri.

Penelitian yang dilakukan oleh³⁰(Ibrahim *et al.*, 1996) bahwa lisozim dari perlakuan panas memiliki fungsi yaitu dapat memepertahankan aktivitas bakteristatik terhadap bakteri gram positif sehingga memberikan efek bakterisidal yang kuat terhadap bakteri. Dari Perlakuan panas tersebut akan menyebabkan perubahan konformasi karena terdapat dua jembatan yang mengenai asam amino sistein terputus sehingga hidrofobisitas akan meningkat. Ketika ikatan disulfida lisozim terputus oleh proses panas maka asam amino triptofan 62,

63 dan 108 didalam molekul terekspos keluar.³¹ Sehingga dapat menyebabkan aktivitas kerja antibakteri meningkat terhadap bakteri perusak atau patogen yang dipicu karena ikatan membran sel akan meningkat.

Perlakuan enzimatik dengan menggunakan peptida lisozim sebagai antibiotik dan juga bisa digunakan untuk 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.³² 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.³³ 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 37⁰C. 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.³⁴ Resistensi pada bakteri gram positif terhadap golongan β -laktam disebabkan karena bakteri tersebut memproduksi enzim betalaktamase yang mengambil sebagian gen protein pengikat Penisilin dari bakteri lain. Pada golongan β -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 β -laktam dengan spektrum yang diperluas (ESBL) seperti CTXm dan AmpC menyebabkan resistensi terhadap golongan Penisilin.³⁵

Streptococcus pneumoniae memiliki virulensi yang kuat sehingga menyebabkan resistensi terhadap Penisilin dan antibiotik β -laktam lainnya yang telah ditemukan sejak tahun 1967 dan tahun 1978 telah berkembang multi drug resistant.³⁶ 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).³⁷ 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.³⁸

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.³⁴

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.³⁴

KESIMPULAN

1. Lisozim dengan kadar 300 µg/ml tidak memiliki efek antibakteri terhadap *Streptococcus pneumoniae* resisten Amoksisilin.

2. Kombinasi lisozim dengan Amoksisilin mampu menurunkan kadar hambatan minimum Amoksisilin terhadap *Streptococcus pneumoniae* resisten Amoksisilin.

SARAN

1. Perlu penelitian lanjut untuk kombinasi lisozim dengan antibiotik golongan lain.
2. Perlu penelitian lagi untuk meningkatkan daya kerja lisozim dengan perlakuan yang berbeda terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae*.
3. Perlu penelitian lanjut untuk melihat efektifitas kombinasi lisozim dan Amoksisilin terhadap bakteri patogen lain.

DAFTAR PUSTAKA

1. Brooks, G. F., Butel, J. S. & Morse, S. A., 2007. *Mikrobiologi Kedokteran Jawedz, Melnick dan Adelberg*. 23 Ed. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
2. Direktorat Bina Farmasi Komunitas dan klinik Direktorat Jendral Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan Departemen Kesehatan RI, 2005. *Pharmaceutical Care untuk Penyakit Infeksi Saluran Pernafasan*, Jakarta: Indonesia.
3. Irianto, K., 2013. *Mikrobiologi Medis*. Bandung: Alfabeta.
4. Arega Balew et al., 2018. *Microbial Spectrum and Drug-Resistance Profile of Isolates Causing Bloodstream Infections in Febrile Cancer Patients at a Referral Hospital in Addis Abba*. Ethiopia.
5. Tadesse et al. BMC INFECTIOUS DISEASE (2017) 17:616. Antimicrobial Resistance in Africa: a systematic review. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5594539> (akses 15 April 2019).
6. Kaur, S.P., Nanada, S. & Rao, R., 2011. Amoxicillin: Abroad Spectrum Antibiotic. *International Journal of Pharmaceutical and Pharmaceutical Sciences*. 3(3): 30-37.
7. Ashanagar, A. & Nasari, N. G., 2007. Analysis of Three Penicillin Antibiotics (Ampicillin, Amoxicillin and Cloxacillin) of Several Iranian Pharmaceutical Companies by HPLC. *E-Journal of Chemistry*, Volume 4.
8. Siswando., 2016. *Kimia Medisinal*. 2 ed. Surabaya: Airlangga University.
9. Suryani, L., Haq, W. S. & Aritama, H. E., 2011. *The sensitivity of Gram-Positive and Nasal Swabs of Allergic Rhinitis Persons against Amoxicillin and Ciprofloxacin*. Department of Microbiology, Faculty of Medicine and Health Science, Muhammadiyah University Yogyakarta.
10. Dekina SS, Romanovska 11, Ovsepyan AM, Bodyu MG, Toptikov VA. 2015. Isolation and Purification the hen Egg White. *Biothechnol Acta*. 8:41-47.
11. Jiang, F.M., Hong, H.R. dan Li Wang (2015). Molecular Cloning and Characterization of a new C-type Lysozyme Gene From Yak Mammary Tissue. *Asian Australas*, 28 (12): 1774-1783.
12. Susanto E., 2012. Kajian Ekstraksi Lisozim Putih Telur dengan Menggunakan Mika. *Program Studi Peternakan Fakultas Peternakan Universitas Islam Lamongan, Jl. Veteran No. 53.A Lamongan Jurnal Ternak*. 3:19-24. <http://journal.unisla.ac.id/pdf/18322012/edy%20susanto.pdf>, 10 September 2018.
13. Wulandari, dkk. 2015. Purification of egg white lysozyme from Indonesian kampung chicken dan ducks. *Department of Animal Production and Thechnology, Faculty of Animal Science, Bogor Agricultural University*. Penerbit, Media Peternakan, April 2015, 38(1):18-26. https://www.researchgate.net/profile/Dian_Herawati/publication/276177999_Purification_of_Egg_White_Lysozyme_from_Indonesian_Kampung_Chicken_and_Ducks/links/5557fdd508ae980ca60e2dbb/Purification-of-Egg-White-Lysozyme-from-Indonesian-Kampung-Chicken-and-Ducks.pdf?origin=publication_detail, 3 Juni 2017.
14. Lesniewski G, Cegielska-Radziejewska R, Kijowski J. 2001. Antimicrobial activity of thermally modified lysozyme. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*. 4: 1-9.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2017. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*, 27th Edition..
16. Callewaert Lien & Chris W Michiels. 2010. Lysozyme in the Animal Kingdom. Laboratory of Food Microbiology and Leuven Food Science and Nutrition Research Center (LForCe), Katholieke Universiteit Leuven, Kasteelpark Arenberg 22, B-3001 Leuven, Belgium.
17. Susanto E, Rosyidi D, Radiati LE, Manab A. 2013. Improved antibacterial spectrum of then egg white lysozyme with thermal modifiert. *Int J Engineering res Technol*. 2:589-593.
18. Akhavan BJ, Vijhani P. Amoxicillin. [Updated 2019 Mar 7]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL):

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6149984/> (akses 15 April 2019).

- StatPearls Publishing; 2019 Jan. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482250/> (diakses 16 April 2019).
19. Pratiwi, S. T. 2008. Mikrobiologi Farmasi. Jakarta: Penerbit Erlangga: 190-192.
 20. Saravana R, Shanmugam A, Preethi A, Sathish KD, Anand K, Amiteh S, Devadoss FR. 2009. Studies on isolation and partial purification of lysozyme from egg white of the lovebird (*Agapornis* species). *African Journal of Biotechnology*. 8(1):107-109.
 21. Chairul., 2006. Aktivitas Antimikroba pada Putih Telur dari Beberapa Jenis Unggas terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif [skripsi]. Bogor (D14201032): Institut Pertanian Bogor.
 22. Lesnierowski, G, Kijowski J., Stangierski J., 2003. DCS-PAGE and Spectrophotometry for Characterization of Modified Lysozyme. *Electronic Journal of Polish Agric. Universities. Food Science and Technology*. Vol 6. Issue 1.
 23. Cegielska-Radziejewska R, Lesnierowski G, Kijowski J. 2009a. Antibacterial activity of hen egg white lysozyme modified by thermochemical technique. *Eur Food Res Technol*. 228:841-845.
 24. Lesnierowski G. 2009. New methods of physicochemical modification of lysozyme. *Nauk Przyr Techn*. 3:1-18.
 25. Tribst AAL, Ribeiro LR, Cristianini M. 2017. Comparison of the effect of high pressure homogenization and high pressure processing on the enzyme activity and antimicrobial profile of lysozyme. *Innov Food Sci Eemerging Technol*. 43:60-67.
 26. Aminlari L, Hashemi MM, Aminlari M. 2014. Modified lysozymes chnol novel broad spectrum natural antimicrobial agents in foods. *J Food Sci*. 79: R1077-90.
 27. Cegielska-Radziejewska R, Lesnierowski G, Kijowski J. 2008. Properties and Application of Egg White Lysozyme and its Modified Preparations Review. *Polish Journal of Food and Nutrition Science. Agricultural University* 58:5-10, Poland.
 28. Onuma K, Inaka K. 2008. Lysozyme dimer association: similarities and differences compared with lysozyme monomer association. *J Cryst Growth*. 310:1174-1181.
 29. Belitz HD, Grosch W, Schieberle P. 2009. Eggs, In: *Food Chem*. Berlin (Germany): Springer; p. 546-562.
 30. Ibrahim HR, Higashiguchi S, Juneja LR, Kim M, Yamamoto T. 1996. A structural phase of heat-denatured lysozyme with novel antimicrobial action. *J Agric Food Chem*. 44:1416-1423.
 31. Vilcacundo R, Mendez P, Reyes W, Romero H, Pinto H, Carillo W. 2018. Antibacterial activity of hen egg white lysozyme by thermal and chemical treatments. *Sci Pharm*. 86:2-17.
 32. Kusumaningtyas E, Widiastuti R, Kusumaningrum HD, Suhartono MT. 2016a. Antibacterial and antioxidant activities of goat milk hydrolysate generated by bacillus sp. E. 13. *Glob Vet*. 16:105-110.
 33. Carrillo W, Lucio A, Gaibor J, Morales D, Vasquez G. 2018. Isolation of antibacterial hydrolysates from hen egg white lysozyme and identification of antibacterial peptides. *J Med Food*. 21:808-818.
 34. World Health Organization. 2016. Antimicrobial Resistance Global Burden. www.who.int/medicines/technical_briefing/tbs2016_A_MR_GAP.pdf (akses 15 April 2019)
 35. Gillette, S. & Bamford, K. 2009. Mikrobiologi Medis dan Infeksi Edisi 3. Jakarta: Penerbit Erlangga.
 36. Chiou., 2006. Does Penicillin Remain the Drug of Choice for Pneumococcal Pneumoniae in View of Emerging in Vitro Resistance, *CID*, 42: 224-233.
 37. Rudan I, Cynthia B P, Zrinka B, Kim. 2008. Epidemiology and Etiology of Childhood Pneumoniae, WHO International.
 38. Anonim. 2011. Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.