



**EFEK PENAMBAHAN VITAMIN C TERHADAP AKTIVITAS
KLINDAMISIN DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN
Streptococcus pneumoniae SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh

**Bagus Dwi Kurniawan
NIM 122010101070**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2015**



**EFEK PENAMBAHAN VITAMIN C TERHADAP AKTIVITAS
KLINDAMISIN DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN
Streptococcus pneumoniae SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan
Program Studi Pendidikan Dokter (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran (S.Ked)

Oleh

**Bagus Dwi Kurniawan
NIM 122010101070**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2015**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Allah SWT yang telah memberi cinta dan kesempatan-Nya kepada saya untuk belajar, berkarya dan mengembangkan ilmu demi kebermanfaatannya bagi orang lain;
2. Bapak Sudibyo, S.Pd dan Ibu Dra. Retno Widodo yang senantiasa selalu memberikan doa, bimbingan, dukungan, harapan, dan kasih sayang tiada henti, serta pengorbanan yang tak ternilai hingga saya dapat berada pada kondisi saat ini;
3. Nenek, saudaraku tercinta Eka Yudha Dharmawan dan keluarga yang selalu mendoakan dan mendukung sepenuh hati;
4. Para pahlawan tanpa tanda jasa yang telah memberikan ilmu dan mendidikku penuh kesabaran untuk menjadikanku manusia yang berilmu dan bertakwa;
5. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

MOTO

“Diwajibkan atas kamu berperang, padahal berperang itu adalah sesuatu yang kamu benci. Boleh jadi kamu membenci sesuatu, padahal ia amat baik bagimu, dan boleh jadi (pula) kamu menyukai sesuatu, padahal ia amat buruk bagimu; Allah mengetahui, sedang kamu tidak mengetahui.”
(Terjemahan Q.S Al-Baqarah [2]:216)*)

*) Departemen Agama Republik Indonesia. 2005. Al Qur'an dan Terjemahannya. Bandung: PT Sygma

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Bagus Dwi Kurniawan

NIM : 122010101070

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Efek Penambahan Vitamin C terhadap Aktivitas Klindamisin dalam Menghambat Pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae* secara *In Vitro*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 22 Desember 2015

Yang menyatakan,

Bagus Dwi Kurniawan
NIM 122010101070

SKRIPSI

**EFEK PENAMBAHAN VITAMIN C TERHADAP AKTIVITAS
KLINDAMISIN DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN
Streptococcus pneumoniae SECARA *IN VITRO***

Oleh

Bagus Dwi Kurniawan
NIM 122010101070

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : dr. Dini Agustina, M.Biomed.
Dosen Pembimbing Anggota : dr. Erfan Efendi, Sp.An.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Efek Penambahan Vitamin C terhadap Aktivitas Klindamisin dalam Menghambat Pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae* secara *In Vitro*” telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal : Selasa, 22 Desember 2015

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji

Penguji I,

Penguji II,

dr. Enny Suswati, M.Kes.
NIP 19700214 199903 2 001

dr. Cholis Abrori, M.Kes, M.Pd.Ked.
NIP 19710521 199803 1 003

Penguji III,

Penguji IV,

dr. Dini Agustina, M.Biomed.
NIP 19830801 200812 2 003

dr. Erfan Efendi, Sp.An.
NIP 19680328 199903 1 001

Mengesahkan

Dekan,

dr. Enny Suswati, M.Kes.
NIP 19700214 199903 2 001

RINGKASAN

Efek Penambahan Vitamin C terhadap Aktivitas Klindamisin dalam Menghambat Pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae* secara *In Vitro*; Bagus Dwi Kurniawan, 122010101070; 2015: 44 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Streptococcus pneumoniae merupakan salah satu flora normal di hidung dan faring. Namun apabila terjadi peningkatan virulensi dan berpindahnya bakteri dari tempat flora normalnya, *S. pneumoniae* menjadi bakteri patogen. Manifestasi klinis dari infeksi *S. pneumoniae* adalah meningitis, bakterimia, pneumonia, dan otitis media. Pada kasus infeksi oleh *S. pneumoniae*, pemberian terapi antibiotik menjadi pilihan yang tepat untuk mengeradikasi bakteri salah satunya adalah pemberian klindamisin. Studi terbaru menunjukkan bahwa penambahan vitamin C dapat meningkatkan efek antibiotik dalam mengeradikasi bakteri. Hal ini disebabkan karena vitamin C memiliki sifat prooksidan yang menyebabkan terjadinya *DNA-damage* pada bakteri. Berdasarkan hal tersebut terapi kombinasi klindamisin dan vitamin C diharapkan dapat meningkatkan proses eradikasi bakteri sebagai antibakterial dan prooksidan. Tujuan penelitian ini ialah untuk mengetahui efek kombinasi klindamisin dan vitamin C terhadap pertumbuhan *S. pneumoniae* secara *in vitro* dan menentukan konsentrasi terkecil dari vitamin C dalam kombinasinya dengan klindamisin yang dapat meningkatkan aktivitas antibakteri klindamisin dalam menghambat pertumbuhan *S. pneumoniae*.

Jenis penelitian ini ialah *quasi experimental* secara *in vitro* dengan rancangan *posttest only control group design*. Penelitian dilakukan selama 1,5 bulan dari bulan Oktober sampai November 2015 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Sampel dalam penelitian ini ialah isolat bakteri *S. pneumoniae*. Variabel bebas berupa konsentrasi penambahan vitamin C sedangkan variabel terikat berupa diameter zona hambat yang diukur dengan menggunakan jangka sorong.

Dilakukan penelitian berupa uji sensitivitas kombinasi klindamisin dan vitamin C dengan metode *disk diffusion*. Larutan yang diteteskan pada cakram terbagi menjadi tujuh kelompok. Kelompok kontrol positif adalah cakram yang hanya berisi klindamisin 2 μ g/5 μ l, kelompok kontrol negatif berisi aquades, dan kelompok perlakuan diberi kombinasi klindamisin dan vitamin C dengan konsentrasi 2,5 mg/ml; 5 mg/ml; 10 mg/ml; 20 mg/ml; dan 40 mg/ml. Selanjutnya dilakukan penempelan cakram pada media MHA (*Mueller Hinton Agar*) yang disuplementasi 5% darah domba yang telah diinokulasi *S. pneumoniae*. Indikator penghambatan pertumbuhan terlihat dari zona bening atau zona hambat yang terbentuk disekitar cakram yang diukur diameternya menggunakan jangka sorong. Rata-rata diameter zona hambat pada penambahan vitamin C konsentrasi 2,5 mg/ml; 5 mg/ml; 10 mg/ml; 20 mg/ml; dan 40 mg/ml ialah 24,62; 26,08; 27,58; 28,74; dan 29,76. Sedangkan pada kontrol positif yang hanya diberikan klindamisin saja berdiameter 24,12. Hal ini menunjukkan terjadinya peningkatan diameter zona hambat pada penambahan vitamin C apabila dibandingkan dengan kontrol positif. Data tersebut memiliki signifikansi uji normalitas *Shapiro-Wilk* 0,204 dan homogenitas 0,422 ($p > 0,05$). Pada uji korelasi Pearson menunjukkan signifikansi 0,910 yang menunjukkan hubungan searah yang erat. Pada uji regresi logaritmik didapatkan nilai konsentrasi minimal vitamin C dalam meningkatkan sensitivitas klindamisin adalah 1,767 mg/ml.

Penelitian ini menunjukkan bahwa vitamin C terbukti berperan dalam meningkatkan aktivitas antibakteri klindamisin dalam menghambat pertumbuhan *S. pneumoniae* secara *in vitro*. Dari hasil yang diperoleh perlu dilakukan penelitian lanjutan yaitu uji efektivitas kombinasi klindamisin dan vitamin C dalam sediaan oral secara *in vivo* terhadap infeksi *S. pneumoniae*.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah Swt. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efek Penambahan Vitamin C terhadap Aktivitas Klindamisin dalam Menghambat Pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae* secara *In Vitro*”. Skripsi ini disusun untuk melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat menyelesaikan Program Studi Pendidikan Dokter (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran (S.Ked.).

Skripsi ini tidak mungkin terwujud tanpa bantuan dari banyak pihak. Oleh sebab itu, penulis mengucapkan banyak terima kasih terutama kepada pihak-pihak sebagai berikut.

1. dr. Enny Suswati, M.Kes., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. Dini Agustina, M.Biomed. selaku Dosen Pembimbing Utama dan dr. Erfan Efendi, Sp.An. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran dan perhatian hingga penulisan skripsi ini dapat terwujud;
3. dr. Enny Suswati, M.Kes. dan dr. Cholis Abrori, M.Kes., M.Pd.Ked. sebagai dosen penguji yang berkenan memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
4. dr. Diana Chusna Mufida, M.Kes. dan dr. Hairrudin, M.Kes. yang telah memberikan bimbingan dan masukan dalam penelitian ini;
5. Febrina Frindiarini sebagai teman terdekat yang selalu memberikan motivasi, dukungan, doa, dan bantuan dalam menyelesaikan penelitian ini;
6. Intan Palupi, Kardiana Izza Ell Milla, dan Farmitalia Nisa Trisianti sebagai rekan satu penelitian yang sudah memberikan kontribusi yang besar, selalu memberikan semangat dan dukungan, serta bantuan yang luar biasa dalam menyelesaikan penelitian dan skripsi ini

7. Monica Bethari Primanesa dan Nyoman Defriyana Suwandi sebagai sahabat yang selalu memberikan semangat, dukungan, dan bantuan dalam menyelesaikan penelitian dan skripsi ini;
8. Nico Bagus Putranto, Windy Oktanaura, dan Herlina Pundi Rahayu sebagai sahabat sejak menengah pertama yang selalu memberikan dukungan, doa, dan motivasinya dalam menyelesaikan penelitian dan skripsi ini;
9. Teman-teman Yessie Elin Santoso, Edda Rachmadenawanti, Brenda Desy Romadhon, Geraldi Kusuma Wijaya, M. Nadzir Ansharullah A., Ardi Perkasa, Silvi Ahmada Chasya, Calysta Citra Sekarsari, Ivan Kristantya yang selalu memberikan motivasi, ilmu, dan masukan yang positif selama saya berada di kampus;
10. Analis Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember, Lilis Lestari, A.Md., Analis Laboratorium Anatomi, Ahmad Kodri Riyandoko, A.Md.Kep. dan Laksono Hadi Prasetyo, A.Md.Kep. yang telah memberikan bantuan dan dukungan serta masukan selama penelitian berlangsung;
11. Keluarga angkatan 2012 yaitu Panacea yang selalu memberikan dukungan selama ini
12. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis menerima kritik dan saran dari semua pihak dalam hal penyempurnaan skripsi ini. Akhirnya, semoga skripsi ini dapat menambah khasanah ilmu pengetahuan dan bermanfaat bagi masyarakat luas.

Jember, Desember 2015

Penulis

DAFTAR ISI

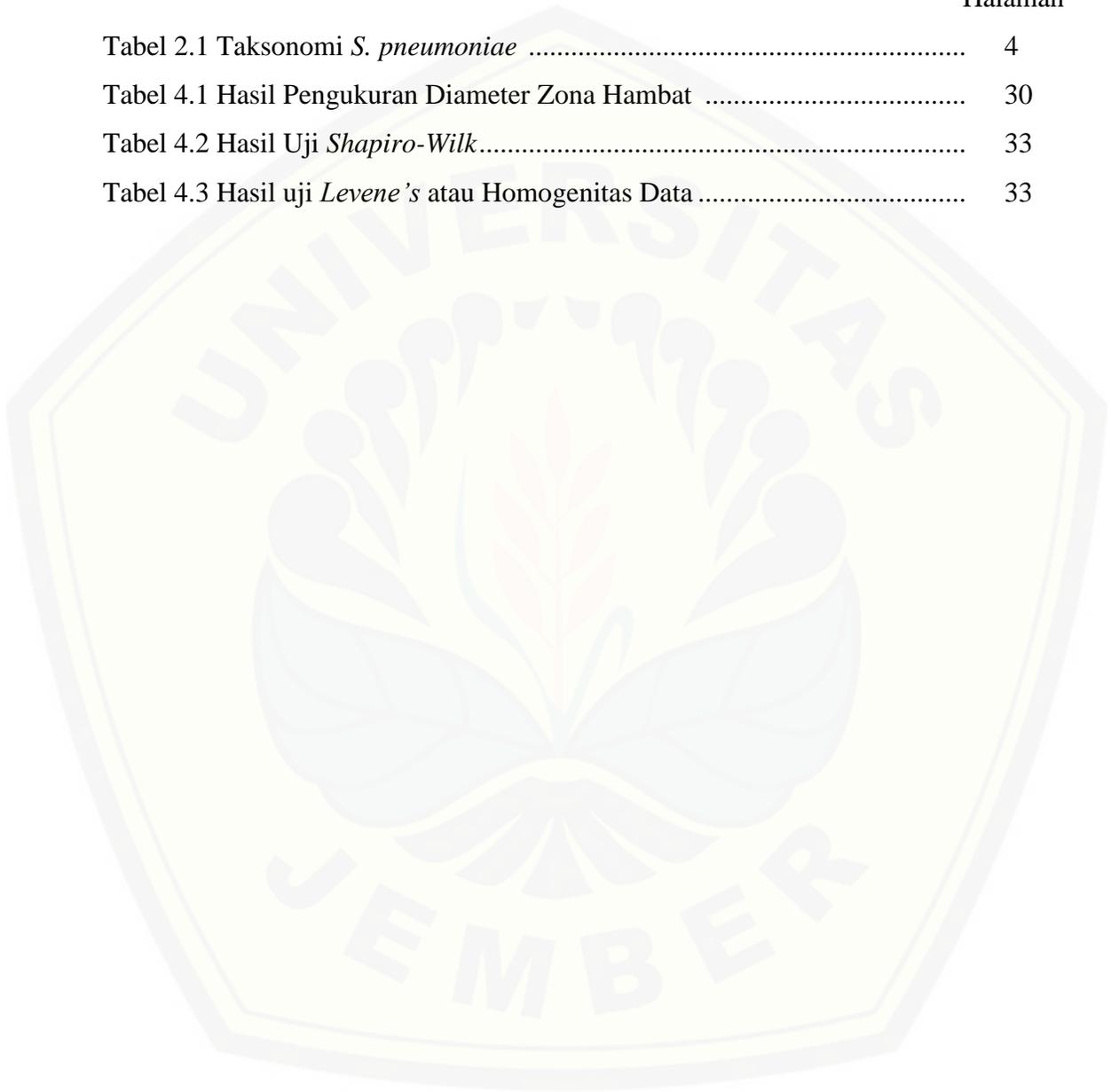
	Halaman
HALAMAN SAMBUTAN	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.4.1 Manfaat Teori	3
1.4.2 Manfaat Aplikatif	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 <i>Streptococcus pneumoniae</i>	4
2.1.1 Morfologi	4
2.1.2 Kultur	5

2.1.3 Patogenesis.....	7
2.1.4 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Kolonisasi Bakteri ...	7
2.1.5 Infeksi akibat <i>S. pneumoniae</i>	8
2.2 Klindamisin	9
2.2.1 Farmakokinetik	10
2.2.2 Efek Samping	10
2.2.3 Sediaan dan Posologi	11
2.2.4 Penggunaan Klinik	12
2.3 Vitamin C	12
2.3.1 Fisiologi dan Farmakodinamik	13
2.3.2 Farmakokinetik	13
2.3.3 Efek Samping	14
2.3.4 Sediaan	15
2.3.5 Sifat	15
2.4 Kerangka Konseptual.....	17
2.5 Hipotesis	18
BAB 3. METODE PENELITIAN	19
3.1 Jenis Penelitian	19
3.2 Rancangan Penelitian	19
3.3 Tempat dan Waktu Penelitian	21
3.4 Variabel Penelitian	21
3.5 Definisi Operasional	21
3.5.1 <i>Streptococcus pneumoniae</i>	21
3.5.2 Pertumbuhan Bakteri	21
3.5.3 Klindamisin	22
3.5.4 Vitamin C	22
3.5.5 Kombinasi Klindamisin dan Vitamin C	22
3.5.6 Diameter Zona Hambat	22
3.5.7 Uji Sensitivitas	22

3.6 Alat dan Bahan	23
3.7 Prosedur Kerja	23
3.7.1 Pembuatan Media dan Peremajaan Bakteri	23
3.7.2 Pembuatan <i>Mueller Hinton Agar</i>	24
3.7.3 Pembuatan <i>Stock Solution</i>	24
3.7.4 Pembuatan Cakram Kombinasi	25
3.7.5 Pembuatan Suspensi Bakteri	25
3.7.6 Inokulasi Bakteri	25
3.7.7 Uji Sensitivitas	26
3.8 Parameter yang Diukur	26
3.9 Interpretasi Efek Kombinasi	26
3.10 Analisis Data	26
3.11 Alur Penelitian	28
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	29
4.1 Hasil Penelitian	29
4.1.1 Waktu, Tempat, dan Sampel Penelitian	29
4.1.2 Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat	29
4.1.3 Analisis Data	32
4.2 Pembahasan	34
BAB 5. PENUTUP	40
5.1 Kesimpulan	40
5.2 Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	45

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Taksonomi <i>S. pneumoniae</i>	4
Tabel 4.1 Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat	30
Tabel 4.2 Hasil Uji <i>Shapiro-Wilk</i>	33
Tabel 4.3 Hasil uji <i>Levene's</i> atau Homogenitas Data	33



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Koloni <i>S. pneumoniae</i> pada Media Agar Darah.....	6
Gambar 3.1 Skema Rancangan Penelitian	20
Gambar 3.2 Alur Penelitian.....	28
Gambar 4.1 Kurva Rata-Rata Diameter Zona Hambat	32
Gambar 4.2 Zona Hambat pada Media <i>Mueller Hinton Agar</i>	32

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat Ijin Etik	45
Lampiran 2. Uji Normalitas	47
Lampiran 3. Uji Homogenitas.....	48
Lampiran 4. Uji Korelasi Pearson.....	49
Lampiran 5. Uji Regresi Logaritmik.....	50
Lampiran 6. Dokumentasi Kegiatan	52

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Streptococcus pneumoniae (*S. pneumoniae*) merupakan flora normal di hidung dan faring dapat dengan mudah ditransmisikan melalui droplet dari orang ke orang. Transmisi dari *S. pneumoniae* meningkat bersamaan dengan infeksi saluran nafas ketika sekresi mukus, batuk, dan bersin yang meningkat. Bakteri ini menyebabkan berbagai penyakit yang luas seperti meningitis, bakterimia, pneumonia, otitis media, dan berbagai penyakit infeksi lainnya yang tidak jarang seperti endokarditis dan artritis (Nugroho, 2010). *S. pneumoniae* merupakan patogen yang paling sering menyebabkan penyakit pneumonia. Berdasarkan data dari WHO dan UNICEF, 50% penyebab pneumonia disebabkan karena bakteri *S. pneumoniae*, 20% disebabkan karena *Haemophilus influenza* tipe B, dan 30% disebabkan oleh virus (WHO, 2006).

Pneumonia menjadi penyebab terbesar kematian balita di Indonesia sekitar 23% berdasarkan hasil survei Kematian Balita tahun 2005 (Depkes RI, 2009). Propinsi Jawa Timur merupakan salah satu propinsi dengan tingkat pneumonia yang tinggi. Berdasarkan laporan Kabupaten/Kota di Jawa Timur, Jumlah kasus pneumonia tahun 2009 sebanyak 84.392 kasus atau sekitar 27,08% dari jumlah penderita pneumonia di Indonesia (Dinkes Jawa Timur, 2012). Jumlah presentase penderita pneumonia balita di setiap kabupaten atau kota di Jawa Timur sangat beragam. Sedangkan di Jember jumlah penderita pneumonia sebesar 16,42% (Dinkes Jawa Timur, 2012).

Dari angka prevalensi kejadian pneumonia yang tinggi, pemberian antibiotik merupakan pilihan terapi yang tepat saat terjadi kasus infeksi oleh bakteri. Pilihan antibiotik yang sesuai untuk mengeradikasi infeksi bakteri *S. pneumonia* adalah klindamisin yang merupakan turunan dari linkomisin. Klindamisin bekerja dalam

menghambat sintesis protein bakteri dan mempunyai efek kerja bakteristatik dan bakterisidal, tergantung dari dosis obatnya. Klindamisin aktif melawan kebanyakan dari organisme gram positif, termasuk *S. pneumoniae*. Obat ini tidak efektif melawan bakteri gram negatif seperti *Escherichia coli*, *Proteus*, dan *Pseudomonas* (Setiabudy, 2012).

Pada kebanyakan kasus infeksi, pemberian terapi farmakologis tambahan tidak jarang pula diberikan. Salah satu terapi yang dipakai adalah pemberian vitamin C. Vitamin C diketahui dapat menghambat aktivitas enzim dari *S. pneumoniae* sehingga dapat mengurangi penyebaran bakteri patogen ini di fase awal invasi pneumokokus (Li *et al.*, 2001; Zheng *et al.*, 2012).

Terdapat beberapa penelitian yang menyebutkan bahwa penambahan vitamin C mampu meningkatkan kerja antibiotik dalam mengeradikasi bakteri. Hal ini disebabkan karena vitamin C memiliki sifat prooksidan (Vilcheze *et al.*, 2013). Mekanisme antibiotik dalam mengeradikasi bakteri salah satunya adalah dengan membentuk ROS. Sifat prooksidan dalam vitamin C mampu membantu pembentukan ROS sehingga dapat meningkatkan efek bakterisidal (Vilcheze *et al.*, 2013). Oleh karena itu peneliti ingin meneliti tentang efek penambahan vitamin C terhadap aktivitas klindamisin dalam menghambat pertumbuhan *S. pneumoniae* secara *in vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

- a. Apakah penambahan vitamin C pada klindamisin dapat meningkatkan hambatan pertumbuhan *S. pneumoniae* secara *in vitro*?
- b. Berapakah konsentrasi minimal vitamin C yang ditambahkan untuk dapat meningkatkan aktivitas klindamisin dalam menghambat pertumbuhan *S. pneumoniae* secara *in vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui efek penambahan vitamin C terhadap aktivitas klindamisin dalam menghambat pertumbuhan *S. pneumoniae* secara *in vitro*.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Untuk mengetahui pengaruh penambahan vitamin C pada klindamisin dalam menghambat pertumbuhan *S. pneumoniae* secara *in vitro* diukur dengan menggunakan diameter zona hambat.
- b. Untuk mengetahui konsentrasi minimal vitamin C yang ditambahkan pada klindamisin yang dapat meningkatkan hambatan pertumbuhan *S. pneumoniae* secara *in vitro* diukur dengan menggunakan uji analisis statistik regresi logaritmik.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teori

- a. Penelitian ini mampu menambah wawasan peneliti mengenai efek penambahan vitamin C terhadap aktivitas klindamisin dalam menghambat pertumbuhan *S. pneumoniae* secara *in vitro*.
- b. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi yang berguna mengenai efek penambahan vitamin C terhadap aktivitas klindamisin dalam menghambat pertumbuhan *S. pneumoniae* sehingga dapat digunakan sebagai bahan pengembangan untuk penelitian berikutnya.

1.4.2 Manfaat Aplikatif

Penelitian diharapkan dapat menjadi referensi kepada dokter untuk memberikan pengobatan kombinasi antara klindamisin dan vitamin C pada pasien yang terinfeksi *S. pneumoniae*.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Streptococcus pneumoniae*

2.1.1 Morfologi

Streptococcus pneumoniae adalah diplokokus Gram-positif yang merupakan flora normal pada saluran pernapasan bagian atas manusia. Bakteri ini berbentuk bulat, tersusun dalam bentuk rantai, mempunyai simpai polisakarida yang mempermudah penentuan tipe dengan antiserum spesifik (Kayser, 2005). Panjang rantai sangat bervariasi dan sebagian besar ditentukan oleh faktor lingkungan. Rantai panjang akan muncul bila ditanam dalam perbenihan yang hanya sedikit mengandung magnesium. Pneumokokus mudah dilisiskan oleh zat aktif permukaan, misalnya garam-garam empedu. Zat aktif permukaan mungkin menghilangkan atau menonaktifkan penghambat autolisis dinding sel (Brooks *et al.*, 2007).

Tabel 2.1 Taksonomi *S. pneumoniae*

Taksonomi bakteri <i>S. pneumoniae</i>	
Kingdom	Bacteriae
Phylum	Firmicutes
Class	Diplococcic
Ordo	Lactobacillales
Family	Streptococceae
Genus	Streptococcus
Spesies	<i>S. pneumoniae</i>

Sumber: Vasanthakumari, 2007

Kebanyakan *Streptococcus* tumbuh dalam pembedihan padat sebagai koloni diskoid dengan diameter 1-2 mm. *Strain* yang menghasilkan bahan simpai sering membentuk koloni mukoid (Brooks *et al.*, 2007). Sebenarnya pertumbuhan *Streptococcus* cenderung menjadi kurang subur pada pembedihan padat atau dalam kaldu, kecuali yang diperkaya dengan darah atau cairan jaringan. Kuman yang patogen bagi manusia paling banyak memerlukan faktor-faktor pertumbuhan.

Pertumbuhan dan hemolisis dibantu oleh pengeraman dalam CO₂ 10%. Kebanyakan *Streptococcus* patogen tumbuh paling baik pada suhu 37⁰ C. Kebutuhan makanan bervariasi untuk setiap spesies (Husain, 2012). Energi utama untuk pertumbuhan diperoleh dari penggunaan glukosa (Gillespie, 2006).

Varian strain *Streptococcus* yang sama dapat menunjukkan bentuk koloni yang berbeda. Organisme ini cenderung virulen dan terbungkus kapsul polisakarida sehingga relatif kebal terhadap fagositosis oleh leukosit manusia (Shimeld, 1999).

2.1.2 Kultur

Untuk pertumbuhan terbaik, *S. pneumoniae* perlu media dengan pH optimum 7,6. Kuman ini tumbuh aerob dan fakultatif anaerob. Suhu pertumbuhan optimum 37⁰ C (Vasanthakumari, 2007). Glukosa meningkatkan *multiplication rate*-nya, tetapi bertambahnya asam laktat selain menghambat dapat pula membunuhnya, kecuali bila dalam pembenihan ditambah kalsium karbonat 1% untuk menetralkannya.

Dalam media agar darah sesudah pengeraman selama 18 jam akan terbentuk koloni yang bulat kecil dengan diameter 0,5-1 mm dan dikelilingi zona kehijau-hijauan identik dengan zona yang dibentuk oleh *Streptococcus viridians*. Kuman ini lisis dalam larutan empedu 10% atau natrium desoksikholat 2% dalam waktu 5-10 menit, sifat ini penting untuk membedakan dari *Streptococcus viridian* (Vasanthakumari, 2007). Berikut koloni *S. pneumoniae* bulat kecil dikelilingi zona kehijau-hijauan sesuai Gambar 2.1.



Gambar 2.1. Koloni *S. pneumoniae* pada media agar darah terjadi proses hemolisis darah yang ditunjukkan dengan gambaran bulat kecil dikelilingi zona kehijau-hijauan (Buxton, 2013).

Agar darah adalah media yang sering digunakan untuk menumbuhkan organisme dan untuk membedakan bakteri berdasarkan sifat hemolitiknya. Di Amerika Serikat agar darah biasanya dibuat dari kedelai *Tryptic Soy Agar* (TSA) atau *Columbia Agar* dicampur darah domba 5%. Media agar darah umumnya digunakan untuk pertumbuhan *S. pneumonia* (CDC, 2013). Media yang terbuat dari 500 ml TSA cair atau TSA kaldu bubuk 20 gram yang dilarutkan kedalam 500 ml air harus dipanaskan sebelum proses *autoclaving*. Proses *autoclaving* ini dilakukan pada suhu 121° C selama 20 menit. Setelah 20 menit dinginkan sampai suhu 60 ° C, kemudian ditambahkan 5% darah domba defibrinated yang steril. Selanjutnya menuangkan media tadi kedalam cawan petri. Diamkan media tersebut pada suhu ruangan. Piring akan muncul warna merah cerah. Jika piring muncul merah gelap, kemungkinan penambahan darah domba dilakukan saat TSA masih terlalu panas dan tidak bisa digunakan (CDC, 2013).

2.1.3 Patogenesis

Selaput mukosa mulut dan faring seringkali steril waktu lahir, tetapi dapat terkontaminasi waktu keluar melalui jalan lahir. Dalam 4-12 jam setelah lahir, *S. viridas* menetap sebagai anggota flora normal yang paling utama dan tetap seperti ini selama hidup (Brooks *et al.*, 2007).

Patogenesis *S. pneumoniae* berawal dari melekatnya kuman pada epitel faring kemudian bereplikasi dan proses lolosnya kuman dari fagositosis oleh makrofag. Kuman menyebabkan infeksi diberbagai area tubuh melalui berbagai akses seperti penyebaran secara langsung, atau secara limfogen-hematogen. Kolonisasi kuman pada individu sehat menunjukkan bahwa kuman berhasil mengadakan perlekatan dan bereplikasi. Setelah membentuk koloni, kuman dapat menyebar secara langsung ke saluran pernapasan (Yunarto, 2010).

S. pneumoniae menyebabkan penyakit melalui kemampuannya berkembang biak dalam jaringan. Bakteri ini tidak menghasilkan toksin yang bermakna. Virulensi organisme disebabkan oleh fungsi simpanya yang mencegah atau menghambat penghancuran oleh fagosit. Serum yang mengandung antibodi terhadap polisakarida tipe spesifik akan melindungi terhadap infeksi. Bila serum ini diabsorpsi dengan polisakarida tipe spesifik, serum tersebut akan kehilangan daya pelindungnya (Yunarto, 2010).

2.1.4 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Kolonisasi *S. pneumoniae*

Terjadinya kolonisasi *S. pneumoniae* dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain usia (18%), riwayat ASI (2,5%), paparan asap (29%), riwayat antibiotika (29%) dan kepadatan hunian (22%) (Rasini, 2010). Menurut penelitian dari anak di bawah usia 2 tahun yang telah dilakukan di Finlandia, prevalensi pembawa *S. pneumoniae* pada anak meningkat dengan umur yaitu 9% pada usia 2 bulan, 17% pada usia 6 bulan, 22% pada usia 12 bulan, 37% pada usia 18 bulan dan 43% pada usia 24 bulan (Bogaert *et al.*, 2004).

Pemberian ASI secara eksklusif ini di anjurkan untuk jangka waktu setidaknya 6 bulan, dan setelah 6 bulan bayi mulai diperkenalkan dengan makanan pendamping ASI. Bayi yang diberikan ASI memiliki sistem pertahanan tubuh yang baik, dan akan berusaha mempertahankan atau melawan benda asing (bakteri, virus) yang masuk kedalam tubuh (Sugihartono, 2012).

Pembakaran obat nyamuk di dalam ruangan menghasilkan asap yang mungkin mengandung polutan yang dapat menimbulkan masalah kesehatan. Asap obat nyamuk bakar mengandung senyawa karbonil yang dapat mengakibatkan iritasi pada saluran pernapasan bagian atas, termasuk mempengaruhi kolonisasi *S. pneumoniae* faring (Liu *et al.*, 2003).

2.1.5 Infeksi akibat *S. pneumoniae*

Pneumococcus menyebabkan penyakit melalui kemampuan mereka memperbanyak diri di jaringan. *S. pneumoniae* tidak menghasilkan toksin yang bermakna. Virulensi organisme ini terletak pada fungsi simpainya yang mencegah atau menghambat pencernaan oleh fagosit. Serum yang mengandung antibodi terhadap polisakarida spesifik melindungi dari infeksi. Jika serum tadi diserap dengan polisakarida tipe spesifik, serum tersebut akan kehilangan daya proteksinya. Hewan atau manusia yang diimunisasi dengan tipe polisakarida *pneumococcus* tertentu menjadi kebal terhadap tipe *pneumococcus* tersebut dan memiliki antibodi yang dapat mempresipitasi dan mengopsonisasi tipe polisakarida tadi (Brooks *et al.*, 2013).

Infeksi *pneumococcus* menyebabkan aliran yang hebat cairan edema fibrinosa ke dalam alveoli diikuti masuknya eritrosit dan leukosit yang menyebabkan konsolidasi bagian-bagian paru. Banyak *pneumococcus* yang ditemukan dalam eksudat tersebut dan dapat mencapai aliran darah melalui aliran limfatik paru. Dinding alveolus tetap utuh selama infeksi. Selanjutnya sel mononukleus memfagositosis debris secara aktif dan fase cair tersebut direabsorpsi secara bertahap. *Pneumococcus* diingesti oleh fagosit dan dicerna secara intraseluler (Brooks *et al.*, 2013).

Penyakit yang disebabkan oleh infeksi *S. pneumoniae*, salah satunya adalah pneumonia. Pneumonia merupakan suatu penyakit infeksi saluran napas bagian bawah. Pneumonia adalah peradangan yang mengenai parenkim paru, distal dari bronkiolus terminalis yang mencakup bronkiolus respiratorius, dan alveoli serta menimbulkan konsolidasi jaringan paru dan gangguan pertukaran gas setempat. Pneumonia secara klinis dibagi menjadi pneumonia yang terjadi akibat infeksi di luar rumah sakit (Pneumonia komunitas) dan pneumonia yang terjadi di rumah sakit (Pneumonia nosokomial). Cara penularan pneumonia berkaitan dengan jenis kuman yang menyebabkan. Misalnya infeksi melalui droplet sering disebabkan oleh *S. pneumoniae*, oleh reaksi slang infus oleh *Staphylococcus aureus*, sedangkan infeksi pada pemakaian ventilator oleh kuman *Pseudomonas aeruginosa* dan *Enterobacter* (Sudoyo *et al.*, 2009).

Diagnosis pada penyakit pneumonia didasarkan pada tanda dan gejala, pemeriksaan fisik, dan pemeriksaan penunjang. Tanda dan gejala penyakit pneumonia antara lain adalah demam hingga $>38^{\circ}$ C, batuk, terutama batuk yang memproduksi banyak sputum, hipotermia, takipnea, takikardi, penggunaan otot bantu pernafasan. Selain itu pada pemeriksaan fisik biasanya terdapat tanda konsolidasi paru seperti perkusi yang pekak, rhonki nyaring, dan suara pernafasan bronkial (Sudoyo *et al.*, 2009)

2.2 Klindamisin

Klindamisin adalah obat antibiotik turunan dari linkomisin. Penggunaan linkomisin saat ini telah ditinggalkan karena daya antibakterinya yang lemah dan absorpsinya yang kurang baik dibandingkan dengan klindamisin. Obat ini pada umumnya aktif terhadap *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *S. anaerobic*, *S. viridans* dan *Actinomyces isreali*. Klindamisin juga aktif terhadap *Bacteriodes fragilis* dan kuman anaerob lainnya (Setiabudy, 2012).

2.2.1 Farmakokinetik

Klindamisin diserap hampir lengkap pada pemberian oral. Adanya makanan dalam lambung tidak banyak mempengaruhi absorpsi obat ini. Setelah pemberian dosis oral 150 mg biasanya tercapai kadar puncak plasma 2-3 µg/ml dalam waktu satu jam. Waktu paruh dari klindamisin kira-kira 2,7 jam.

Klindamisin didistribusikan dengan baik ke berbagai cairan tubuh, jaringan, dan tulang kecuali ke cairan serebrospinal walaupun sedang terjadi meningitis. Obat ini dapat menembus sawar uri dengan baik. Klindamisin dalam serum terikat dengan albumin sebesar 90%. Klindamisin berakumulasi dalam leukosit polimorfonuklear dan makrofag alveolar tetapi makna klinik dari fenomena ini belum jelas (Setiabudy, 2012).

Klindamisin diekskresikan dalam bentuk asal melalui urin sekitar 10% dan sejumlah kecil klindamisin dapat ditemukan dalam feses. Sebagian besar obat dimetabolisme menjadi N-demetilklindamisin dan klindamisin sulfoksid untuk selanjutnya diekskresikan melalui urin dan empedu. Waktu paruh eliminasi dapat memanjang sedikit pada pasien gagal ginjal sehingga diperlukan penyesuaian dosis dan pengukuran kadar obat dalam plasma. Hal ini dapat terjadi pada pasien dengan gangguan fungsi hepar yang berat (Setiabudy, 2012).

2.2.2 Efek Samping

Diare dilaporkan terjadi pada 2-20% pasien yang mendapatkan klindamisin. Pasien dilaporkan menderita kolitis pseudomembranosa yang ditandai oleh demam, nyeri abdomen, diare dengan darah dan lendir oleh tinja sebesar 0,01-10%. Pada pemeriksaan proktoskopik terlihat adanya membran putih kuning pada mukosa kolon. Kelainan yang dapat bersifat fatal ini disebabkan oleh toksin yang diekskresi oleh *C. Difficile*, suatu kuman yang tidak termasuk flora normal usus besar. Penyakit ini sekarang disebut *antibiotic-associated pseudomembranous colitis* karena dapat terjadi pada pemberian kebanyakan antibiotik klindamisin ini. Timbulnya penyakit tersebut tidak tergantung pada besarnya dosis dan dapat terjadi pada pemberian secara oral

maupun parenteral. Gejala dapat muncul selama terapi atau beberapa minggu setelah terapi dihentikan. Bila selama terapi timbul diare atau kolitis maka pengobatan harus dihentikan. Obat terpilih untuk keadaan ini adalah vankomisin yang diberikan empat kali 125 mg sehari secara per oral selama 7-10 hari atau metronidazol oral 3x500 mg/hari atau secara intravena. Indikasi penggunaan klindamisin harus dipertimbangkan dengan baik sebelum obat ini diberikan (Setiabudy, 2012).

2.2.3 Sediaan dan Posologi

Klindamisin tersedia dalam kapsul 150 dan 300 mg. Selain itu terdapat suspensi oral dengan konsentrasi 75 mg/5 ml. Dosis oral untuk orang dewasa adalah 150-300 mg tiap 6 jam tetapi apabila terjadi infeksi berat dapat diberikan 450 mg tiap 6 jam. Dosis oral untuk anak-anak adalah 8-16 mg perkilogram berat badan perhari yang dibagi dalam beberapa dosis tetapi apabila terjadi infeksi berat dapat diberikan sampai 20 mg perkilogram berat badan perhari (Setiabudy, 2012).

Pemberian secara intramuskular dan intravena digunakan larutan klindamisin fosfat 150 mg/ml dalam ampul berisi 2 dan 4 ml. Dosis untuk infeksi berat kokus gram positif aerobik adalah 0,6-1,2 gram sehari dibagi dalam dua hingga empat kali pemberian. Pada infeksi yang berat oleh *B. Fragilis*, *Peptococcus* atau *Clostridium* (kecuali *C. Perfringens*) diberikan dosis 1,2-2,7 gram perhari yang dibagi dalam beberapa kali pemberian. Dosis lebih dari 600 mg sebaiknya tidak disuntikkan pada satu tempat. Klindamisin tidak boleh diberikan secara bolus intravena tetapi harus diencerkan sampai kadar kurang dari 18 mg/ml dan diinfuskan dengan kecepatan maksimal 30 mg/menit (Setiabudy, 2012).

Pemberian pada anak atau bayi berumur lebih dari satu bulan dapat diberikan 15-25 mg perkilogram berat badan perhari apabila terdapat infeksi berat dosisnya 25-40 mg perkilogram berat badan perhari yang dibagi dalam beberapa dosis pemberian (Setiabudy, 2012).

2.2.4 Penggunaan Klinik

Klindamisin dapat mengobati beberapa jenis infeksi kokus gram positif tetapi obat ini harus dipertimbangkan dengan baik karena dapat menimbulkan kolitis pseudomembranosa. Klindamisin terutama bermanfaat untuk infeksi kuman anaerobik terutama *B. Fragilis*. Klindamisin dilaporkan efektif untuk beberapa infeksi serius oleh kuman yang peka yaitu sepsis, infeksi sendi, tulang, intraabdominal, pelvis, saluran napas bawah, kulit, dan jaringan lunak (Setiabudy, 2012).

2.3 Vitamin C (Asam Askorbat)

Vitamin C atau asam askorbat merupakan vitamin yang larut dalam air. Vitamin C bekerja sebagai suatu koenzim dan pada keadaan tertentu merupakan reduktor dan antioksidan. Vitamin ini dapat secara langsung atau tidak langsung memberikan elektron ke enzim yang membutuhkan ion-ion logam tereduksi dan bekerja sebagai kofaktor untuk prolil dan lisil hidroksilase dalam biosintesis kolagen. Zat ini berbentuk kristal dan bubuk putih kekuningan, stabil pada keadaan kering (Dewoto, 2007).

Vitamin ini dapat ditemukan di buah citrus, tomat, sayuran berwarna hijau, dan kentang. Vitamin ini digunakan dalam metabolisme karbohidrat dan sintesis protein, lipid, dan kolagen. Vitamin C juga dibutuhkan oleh endotel kapiler dan perbaikan jaringan. Vitamin C bermanfaat dalam absorpsi zat besi dan metabolisme asam folat. Beda halnya dengan vitamin yang larut dalam lemak, vitamin C tidak disimpan dalam tubuh melainkan diekskresikan di urine (Kamiensky, 2006).

Kebutuhan vitamin C berdasarkan U.S. RDA untuk pria dan wanita sebanyak 60 mg/hari, bayi sebanyak 35 mg/hari, ibu hamil sebanyak 70 mg/hari, dan ibu menyusui sebanyak 95 mg/hari. Kebutuhan vitamin C meningkat 300-500% pada penyakit infeksi, TB, tukak peptik, penyakit neoplasma, pasca bedah atau trauma, hipertiroid, kehamilan, dan laktasi (Kamiensky, 2006).

2.3.1 Fisiologi dan Farmakodinamik

Vitamin C berperan sebagai suatu kofaktor dalam sejumlah reaksi hidroksilasi dan amidasi dengan memindahkan elektron ke enzim yang ion logamnya harus berada dalam keadaan tereduksi dan dalam kondisi tertentu dapat bersifat sebagai antioksidan. Asam askorbat meningkatkan aktivitas enzim amidase yang berperan dalam pembentukan hormon oksitosin dan hormon antidiuretik. Dengan mereduksi ion feri menjadi fero dalam lambung, vitamin C meningkatkan absorpsi besi. Selain itu vitamin C juga berperan dalam pembentukan steroid adrenal (Kamiensky, 2006; Dewoto, 2007).

Pada jaringan fungsi utama vitamin C adalah sintesis kolagen, proteoglikan zat organik matriks antarsel lain misalnya pada tulang, gigi, endotel kapiler. Dalam sintesis kolagen selain berperan dalam hidroksilasi prolin vitamin C juga nampaknya berperan dalam menstimulasi langsung sintesis peptida kolagen. Pada pasien skorbut terjadi gangguan sintesis kolagen terlihat sebagai kesulitan penyembuhan luka, gangguan pembentukan gigi, dan pecahnya kapiler yang menyebabkan perdarahan seperti petekie dan ekimosis. Perdarahan tersebut disebabkan oleh kebocoran kapiler akibat adhesi sel-sel endotel yang kurang baik dan mungkin juga karena gangguan pada jaringan ikat perikapiler sehingga kapiler mudah pecah oleh penekanan (Kamiensky, 2006; Dewoto, 2007).

Pemberian vitamin C pada keadaan normal tidak menunjukkan efek farmakodinamik yang jelas. Namun pada keadaan defisiensi, pemberian vitamin C akan menghilangkan gejala penyakit dengan cepat.

2.3.2 Farmakokinetik

Vitamin C mudah diabsorpsi melalui saluran cerna. Pada keadaan normal tampak kenaikan kadar vitamin C dalam darah setelah diabsorpsi. Kadar dalam leukosit dan trombosit lebih besar daripada dalam plasma dan eritrosit. Distribusinya luas ke seluruh tubuh dengan kadar tertinggi dalam kelenjar dan terendah dalam otot dan jaringan lemak. Ekskresi melalui urin dalam bentuk utuh dan bentuk garam

sulfatnya terjadi jika kadar dalam darah melewati ambang rangsang ginjal yaitu 1,4 mg% (Dewoto, 2007)

2.3.3 Efek Samping

Vitamin dengan dosis lebih dari 1 gram perhari dapat menyebabkan diare. Hal ini terjadi karena efek iritasi langsung pada mukosa usus yang mengakibatkan peningkatan peristaltik usus. Efek iritasi juga menyebabkan uretritis nonspesifik terutama pada uretra distal. Dosis besar tersebut juga dapat meningkatkan faktor resiko terjadinya batu ginjal karena sebagian vitamin C dimetabolisme dan diekskresikan sebagai oksalat. Penggunaan kronik vitamin C dosis sangat besar dapat menyebabkan ketergantungan. Hal ini dapat dihindari dengan mengurangi asupan vitamin C secara bertahap. Vitamin C mega dosis parenteral juga dapat menyebabkan oksalosis yang meluas, aritmia jantung, dan kerusakan ginjal yang berat (Dewoto, 2007).

Dosis vitamin C 1 gram perhari diketahui dapat meningkatkan kadar etinil estradiol plasma. Interaksi ini dapat mengakibatkan *break through bleeding* dan kegagalan kontrasepsi bila pemakai kontrasepsi oral yang mengandung etinil estradiol tersebut menghentikan penggunaan vitamin C secara tiba-tiba (Dewoto, 2007).

Vitamin C meningkatkan absorpsi besi sehingga dosis besar dapat berbahaya pada pasien hemokromatosis, talasemia, dan anemia sideroblastik. Hemolisis ringan dilaporkan terjadi pada pasien dengan defisiensi G6PD. Hemolisis akut dapat mengakibatkan koagulasi intravaskular diseminata dan gagal ginjal akut yang dapat menyebabkan kematian. Vitamin C mega dosis juga dapat mengakibatkan krisis *Sickle cell* (Dewoto, 2007).

2.3.4 Sediaan

Vitamin C terdapat dalam berbagai preparat baik dalam bentuk tablet yang mengandung 50-150 mg maupun dalam bentuk larutan. Kebanyakan sediaan multivitamin mengandung vitamin C. Pada sediaan suntik didapatkan larutan yang

mengandung vitamin C 100-500 mg. Air jeruk mengandung vitamin C yang tinggi sehingga dapat digunakan untuk terapi menggantikan sediaan vitamin C. Kalsium askorbat dan natrium askorbat didapatkan dalam bentuk tablet dan bubuk untuk penggunaan per oral (Kamiensky, 2006; Dewoto, 2007).

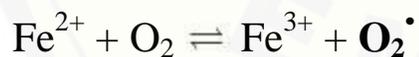
2.3.5 Sifat

Vitamin C memiliki sifat antioksidan yang mampu menangkal radikal bebas. Tetapi pada kasus infeksi oleh bakteri dan pada dosis tertentu vitamin C juga mampu bersifat prooksidan. Sifat dari prooksidan vitamin C ditandai dengan pembentukan ROS (*Reactive Oxygen Species*). ROS adalah senyawa pengoksidasi turunan oksigen yang bersifat sangat reaktif yang terdiri atas kelompok radikal bebas dan kelompok nonradikal. Kelompok radikal bebas meliputi *superoxide anion* (O_2^-), *hydroxyl radicals* ($OH\cdot$), dan *peroxyl radicals* ($RO_2\cdot$). Kelompok nonradikal meliputi *hydrogen peroxide* (H_2O_2) dan *organic peroxides* ($ROOH\cdot$). *Hydroxyl radical* yang merupakan bagian dari ROS mampu menyebabkan DNA-damage pada bakteri. Mekanisme pembentukan *hidroxyl radical* melalui kombinasi dari siklus Haber-Weiss dan reaksi Fenton (Vilcheze *et al.*, 2013).

- a. Vitamin C (asam askorbat, $AscH_2$) akan mereduksi ion ferri menjadi ion ferro



- b. Ion Ferro akan bereaksi dengan oksigen untuk memproduksi *superoxide*



- c. Dismutase *superoxide* menjadi *hydrogen peroxide*



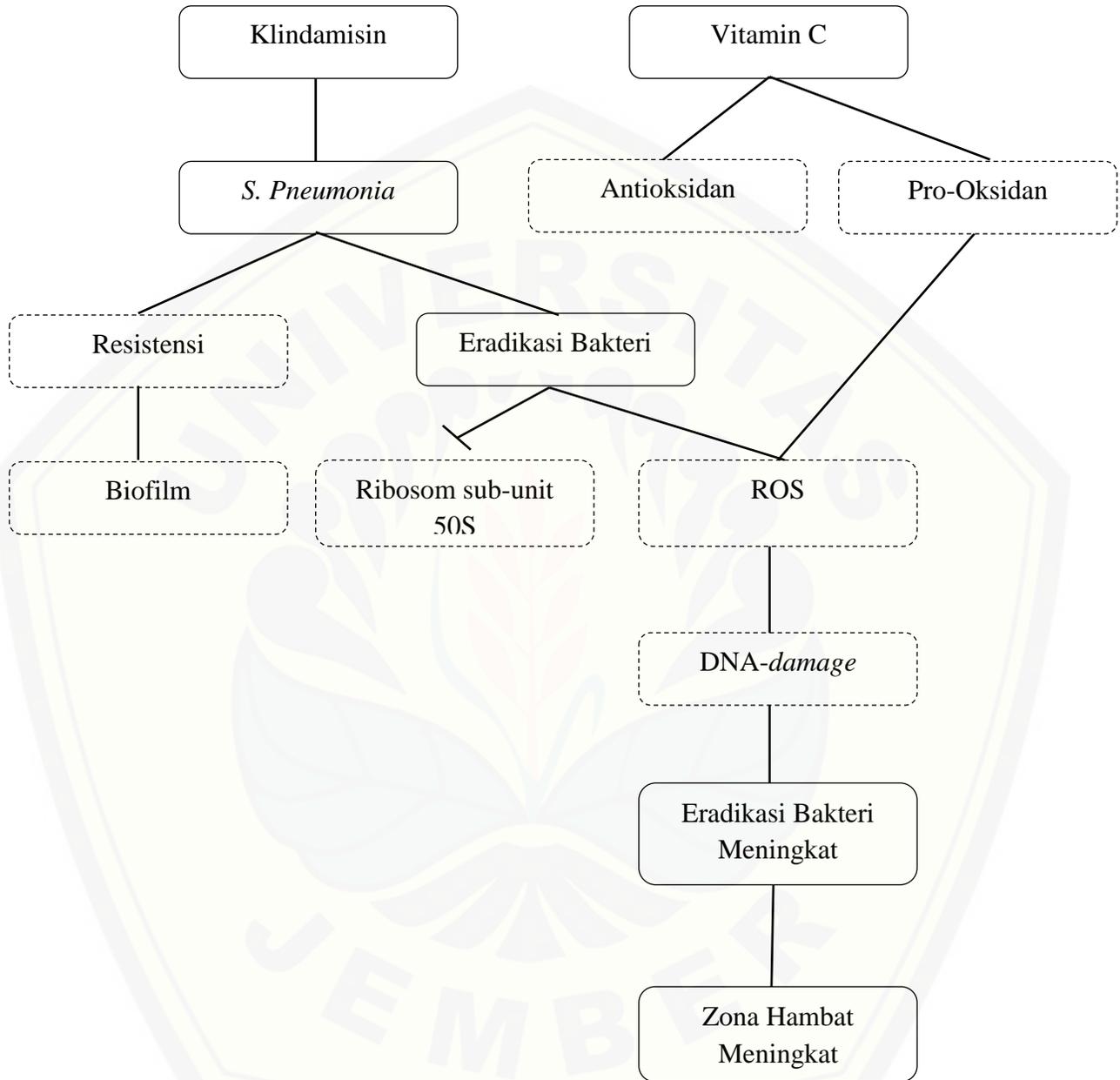
- d. *Hydrogen peroxide* akan bereaksi dengan ion ferro membentuk *hydroxyl radicals*



Radikal hidroksil merupakan salah satu ROS yang sangat reaktif, lebih toksik dibandingkan dengan radikal lain dan dapat bereaksi dengan protein, asam nukleat, lipid, dan molekul lain untuk mengubah struktur molekul-molekul tersebut sehingga dapat menyebabkan kerusakan jaringan (Murray *et al.*, 2009). Radikal hidroksil (OH) paling sering berasal dari reaksi fenton dimana Fe(II) mereduksi H₂O₂ sehingga elektron diberikan kepada hidroksil radikal.

Radikal hidroksil bereaksi langsung dengan asam nukleat dari DNA dengan membentuk 8-hydroxyguanosine, senyawa yang berperan dalam kerusakan DNA. Radikal hidroksil tersebut memutus salah satu untai DNA sehingga menyebabkan kerusakan oksidatif DNA (Lu *et al.*, 2010). Radikal hidroksil memecah protein, terutama pada prolin dan histidin, sehingga memicu kerusakan dan degradasi prematur protein.

2.4 Kerangka Konseptual



Keterangan :

————— : yang diteliti

----- : yang tidak diteliti

—|— : menghambat

2.5 Hipotesis

Terdapat efek penambahan vitamin C dalam meningkatkan aktivitas antibakteri klindamisin terhadap pertumbuhan *S. pneumoniae* yang ditunjukkan dengan peningkatan diameter zona hambat meningkat seiring bertambahnya konsentrasi vitamin C yang ditambahkan dalam uji sensitivitas.



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental, karena penelitian ini memberikan perlakuan terhadap obyek yang dapat mengendalikan variabel dan secara tegas menyatakan ada hubungan sebab akibat (Lusiana, 2015). Jenis penelitian eksperimental yang digunakan adalah *quasi experimental*.

3.2 Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimen di laboratorium yang menggunakan rancangan penelitian *posttest only control group design* yang merupakan rancangan eksperimental dengan pengukuran akhir setelah perlakuan (*posttest*) tanpa pengukuran awal sebelumnya (*pretest*) (Pratiknya, 2008).

Rancangan penelitian ini terbagi menjadi tujuh kelompok yang terdiri dari lima kelompok perlakuan dan dua kelompok kontrol. Pengulangan dalam percobaan ini menggunakan rumus Federer dalam Hanafiah (2010) :

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

Keterangan :

t = jumlah perlakuan

r = jumlah pengulangan

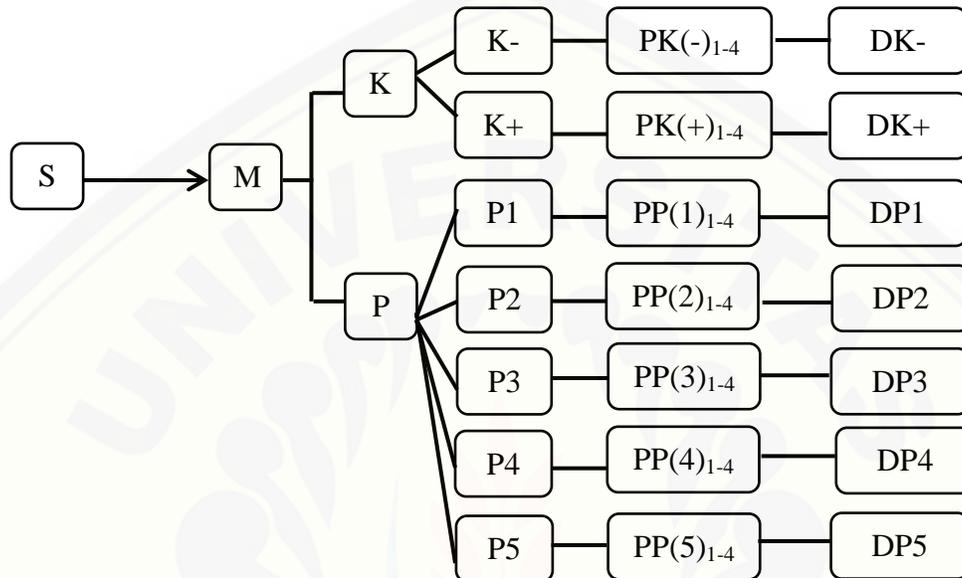
$$(7-1)(r-1) \geq 15$$

$$6r - 6 \geq 15$$

$$r \geq 3,5$$

Kelompok yang diberi perlakuan terdiri dari pemberian antibiotik klindamisin dengan dosis potensi $2\mu\text{g}/5\mu\text{l}$ dan pemberian kombinasi vitamin C dengan konsentrasi 2,5 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 20 mg/ml, 40 mg/ml dan antibiotik

klindamisin dengan dosis potensi $2\mu\text{g}/5\mu\text{l}$. Kelompok kontrol negatif menggunakan larutan aquades. Karena syarat $r \geq 3,5$, maka jumlah pengulangan yang dilakukan sebanyak empat kali. Rancangan penelitian ditunjukkan pada Gambar 3.1



Keterangan :

- S : Sampel Bakteri *S. pneumoniae*
M : Media *Mueller Hinton Agar*
K : Kelompok Kontrol
K+ : Kontrol positif berupa pemberian klindamisin dosis potensi $2\mu\text{g}$
K- : Kontrol negatif berupa pemberian aquades
P : Kelompok Perlakuan
P1 : Perlakuan 1 berupa penambahan Vit C $2,5\text{ mg/ml}$ dalam klindamisin $2\mu\text{g}$
P2 : Perlakuan 2 berupa penambahan Vit C 5 mg/ml dalam klindamisin $2\mu\text{g}$
P3 : Perlakuan 3 berupa penambahan Vit C 10 mg/ml dalam klindamisin $2\mu\text{g}$
P4 : Perlakuan 4 berupa penambahan Vit C 20 mg/ml dalam klindamisin $2\mu\text{g}$
P5 : Perlakuan 5 berupa penambahan Vit C 40 mg/ml dalam klindamisin $2\mu\text{g}$
PK : Pengulangan pada kelompok kontrol
PP : Pengulangan pada kelompok perlakuan
DK : Data pada kelompok kontrol
DK+ : Data pada kelompok kontrol positif
DK- : Data pada kelompok kontrol negatif
DP : Data pada kelompok perlakuan
DP1-5 : Data pada kelompok perlakuan 1 sampai 5

Gambar 3.1. Skema Rancangan Penelitian

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk persiapan strain bakteri, media, dan uji sensitivitas serta persiapan untuk pengenceran obat klindamisin dan vitamin C. Pelaksanaan penelitian dilakukan selama 1,5 bulan dari bulan Oktober hingga November 2015.

3.4 Variabel Penelitian

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi vitamin C dengan konsentrasi 2,5 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 20 mg/ml dan 40 mg/ml. Variabel terikat adalah pertumbuhan *S. pneumoniae* pada MHA dengan mengukur diameter zona hambat bakteri. Variabel terkontrol adalah bakteri *S. pneumoniae*, dosis antibiotik klindamisin, media, suhu inkubasi, lama perlakuan, cara pengamatan, pembuatan cakram kombinasi klindamisin dengan vitamin C.

3.5 Definisi Operasional

3.5.1 *Streptococcus pneumoniae*

Streptococcus pneumoniae merupakan bakteri gram positif yang berbentuk bulat dengan susunan berderet. Bakteri ini diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya.

3.3.2 Pertumbuhan Bakteri

Pertumbuhan bakteri yang dimaksud pada penelitian ini adalah pertumbuhan koloni *S. pneumoniae* pada media MHA (*Mueller Hinton Agar*) yang ditambah dengan 5% darah domba. Pertumbuhan bakteri ini dihambat dengan cakram antibiotik klindamisin dan cakram kombinasi klindamisin dan vitamin C yang ditunjukkan dengan zona bening di sekitar cakram atau diameter zona hambat.

3.3.3 Klindamisin

Klindamisin yang digunakan adalah klindamisin generik kapsul 300 mg. Klindamisin yang diberikan dalam dosis yang sama pada setiap kelompok perlakuan yaitu 2 μ g.

3.3.4 Vitamin C

Vitamin C yang digunakan adalah vitamin C dengan merek dagang ipi vitamin C tablet 50 mg. Vitamin C diberikan dalam konsentrasi yang berbeda pada setiap kelompok perlakuan. Konsentrasi yang digunakan adalah konsentrasi 2,5 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 20 mg/ml dan 40 mg/ml.

3.3.5 Kombinasi Klindamisin dan Vitamin C

Kombinasi obat klindamisin dengan konsentrasi sebesar 2 μ g/5 μ l dan vitamin C berbagai konsentrasi konsentrasi 2,5 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 20 mg/ml dan 40 mg/ml dengan dicampur pada sebuah vial masing-masing 1 ml. Kemudian ditetaskan sebanyak 10 μ l pada setiap perlakuan pada cakram kosong yang sudah disterilkan sebelumnya.

3.3.6 Diameter Zona Hambat

Diameter zona hambat menunjukkan terhambatnya pertumbuhan koloni dari bakteri yang ditandai dengan zona bening pada media. Diameter zona hambat setiap perlakuan diukur dengan menggunakan jangka sorong. Jangka sorong diletakkan di bagian dasar plate dan diukur sesuai diameter zona hambat. Apabila pada hasil tidak berbentuk bulat sempurna, ukur zona hambat sebanyak 3 kali pada sisi yang berbeda kemudian di rata-rata.

3.3.7 Uji Sensitivitas

Uji sensitivitas adalah tes yang digunakan untuk menguji kepekaan bakteri terhadap antibiotik. Uji sensitivitas bertujuan untuk mengetahui efektivitas antibiotik

dalam menghambat atau membunuh bakteri. Uji sensitivitas dilakukan dengan menggunakan metode *disc diffusion* dengan melihat kadar hambat berupa zona bening pada media.

3.6 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain *tube*, inkubator, sterilisator, cawan petri, autoklaf, tabung reaksi, vial, rak tabung reaksi, jarum ose, standar McFarland, *object glass*, *whatman filter paper*, lampu spiritus, korek api, jangka sorong, kertas label, gunting, kapas, spuit 1 ml dan 10 ml, *cotton bud*, dan selotip. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain bakteri *S. pneumoniae*, klindamisin merek dagang clindamycin kapsul 300 mg, vitamin C dengan merek dagang ipi vitamin C tablet 50 mg, etanol 96%, aquades steril, *Blood Agar Plate* (BAP), *Mueller Hinton Agar* (MHA), darah domba 12,5 ml, dan spiritus.

3.7 Prosedur Kerja

3.7.1 Pembuatan Media dan Peremajaan Bakteri

Media yang digunakan adalah *blood agar*. Pembuatan *blood agar* yang pertama adalah serbuk yang telah tersedia dalam kemasan kemudian ditimbang sesuai kebutuhan. Serbuk dilarutkan dalam aquades dan cara pembuatannya disesuaikan dengan petunjuk pada kemasan. Kemudian disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121° C selama 20 menit. Setelah itu dinginkan sampai mencapai suhu 60° C, kemudian tambahkan 5% darah domba defibrinated yang steril. Selanjutnya tuangkan media tadi ke dalam cawan petri. Diamkan media tersebut pada suhu ruangan, selanjutnya akan muncul warna merah cerah. Jika pada cawan petri muncul merah gelap kemungkinan penambahan darah domba dilakukan saat media masih terlalu panas dan tidak bisa digunakan. Selanjutnya dilakukan peremajaan bakteri *S. pneumoniae* dengan menumbuhkan pada *blood agar plate* (CLSI, 2012).

3.7.2 Pembuatan *Mueller Hinton Agar* Disuplementasi 5% Darah Domba

Pembuatan MHA yang pertama adalah serbuk yang telah tersedia dalam kemasan kemudian ditimbang 17 gram untuk 500 ml aquades. Autoklaf pada suhu 121° C selama 20 menit dan dinginkan pada suhu ruangan. Setelah dingin, MHA ditambahkan darah domba 5% kemudian goyangkan hingga homogen lalu tuangkan ke cawan petri dan letakkan pada suhu ruang (CLSI, 2012).

3.7.3 Pembuatan *Stock Solution*

Obat yang digunakan dalam penelitian ini adalah antibiotik klindamisin golongan linkomisin dan vitamin C atau asam askorbat. Dosis klindamisin yang dimasukkan ke dalam cakram adalah 2 µg. *Stock solution* untuk klindamisin dilarutkan dalam etanol 96%. Sedangkan vitamin C dibuat dalam konsentrasi 2,5 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 20 mg/ml, dan 40 mg/ml yang dilarutkan dalam aquades. Berikut proses pembuatan *stock solution* klindamisin dan vitamin C.

1. Pembuatan *stock solution* klindamisin dibutuhkan pelarut berupa etanol 96%. Berdasarkan CLSI, dalam satu disk klindamisin dosis potensinya 2 µg untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Sehingga dalam penelitian ini dibuat *stock solution* klindamisin dengan konsentrasi 2µg/5µl. Cara pembuatannya adalah kapsul yang berisi klindamisin 300 mg dibuka dan diletakkan ke vial lalu ditambahkan 10 ml etanol untuk menghasilkan konsentrasi 30mg/ml. Diambil lagi 1 ml lalu ditambahkan 4 ml etanol sehingga konsentrasinya menjadi 6mg/ml. Diambil lagi 1 ml lalu ditambahkan 4 ml etanol sehingga konsentrasi menjadi 1,2mg/ml. Diambil lagi 1 ml kemudian ditambahkan 2 ml etanol sehingga konsentrasi menjadi 0,4mg/ml. Konsentrasi 0,4mg/ml sama dengan 0,4µg/µl atau sama dengan 2µg/5µl (CLSI, 2012).
2. Pembuatan *stock solution* vitamin C dibutuhkan pelarut aquades. Vitamin C disiapkan empat butir tablet masing-masing dosisnya 50 mg. Selanjutnya dilarutkan dengan 5 ml aquades lalu dibuat pengenceran hingga memperoleh

larutan konsentrasi 2,5 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 20 mg/ml, dan 40 mg/ml (CLSI, 2012).

3.7.4 Pembuatan Cakram Kombinasi Klindamisin dan Vitamin C

Tetaskan cakram kosong menggunakan mikropipet 5 µl dengan antibiotik klindamisin pada konsentrasi 2µg/5µl dengan kombinasi vitamin C pada konsentrasi 2,5 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 20 mg/ml dan 40 mg/ml masing-masing 10 µl untuk perlakuan. Pembuatan cakram untuk kontrol positif ditetaskan klindamisin pada konsentrasi 2µg/5µl sebanyak 5 µl saja. Pembuatan cakram untuk kontrol negatif ditetaskan aquades sebanyak 5 µl (CLSI, 2012).

3.7.5 Pembuatan Suspensi Bakteri

Koloni dipindahkan dengan menggunakan ose dari media agar darah ke aquades steril. Densitas dari suspensi bakteri tersebut harus sesuai dengan 0.5 *Mc Farland standard* ($1-1,5 \times 10^8$ CFU/ml). Jika tidak sesuai maka diatur/didilusi dengan menambahkan aquades atau menambahkan koloni bakteri, kemudian divortex agar sama dengan standar 0.5 *Mc Farland*. Untuk mempermudah menyesuaikan dengan standar, caranya dengan membandingkan kekeruhan suspensi bakteri dengan *standard tes* pada kertas berlatar belakang putih dan memiliki garis hitam (CLSI, 2012).

3.7.6 Inokulasi Bakteri pada MHA dengan Suplementasi 5% Darah Domba

Suspensi bakteri divortex terlebih dahulu untuk memastikan bakteri telah tercampur merata. Celupkan lidi kapas ke dalam suspensi dan tiriskan cairan yang berlebih pada sisi tabung reaksi, lalu oleskan pada media MHA. Ratakan koloni bakteri pada permukaan media dengan cara mengoleskan menggunakan lidi kapas pada 3 arah sambil diputar 60°. Lalu biarkan agar 3-5 menit (Cavalieri, 2005).

3.7.7 Uji Sensitivitas

Suspensi bakteri yang sudah dibuat diswab dengan menggunakan kapas biakan bakteri secara merata pada media *Mueller Hinton Agar* ditambah darah domba dengan dua kali putaran dengan 60° pada setiap putarannya. Cakram yang sudah kering kemudian diletakkan di media. Media diinkubasi selama 20-24 jam pada suhu $35-37^\circ$ C. Amati daerah bening di sekitar cakram menggambarkan zona hambat. Diameter zona hambat diukur dengan menggunakan jangka sorong (CLSI, 2012).

3.8 Parameter yang Diukur

Parameter yang diukur adalah diameter zona bening pada media yang menandakan terjadinya penghambatan terhadap pertumbuhan *S. pneumoniae* dalam satuan milimeter (mm) dengan menggunakan jangka sorong.

3.9 Interpretasi Efek Kombinasi

Interpretasi efek kombinasi klindamisin dan vitamin C dilakukan dengan membandingkan kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol positif. Setelah dilakukan pengukuran diameter dengan menggunakan jangka sorong, bila didapatkan kelompok perlakuan memiliki diameter zona hambat yang lebih lebar dibandingkan dengan kelompok kontrol positif berarti menandakan bahwa vitamin C meningkatkan kerja antibiotik. Sebaliknya bila diameter zona hambat kelompok perlakuan lebih sempit berarti menandakan bahwa vitamin C justru menghambat kerja antibiotik dalam membunuh bakteri.

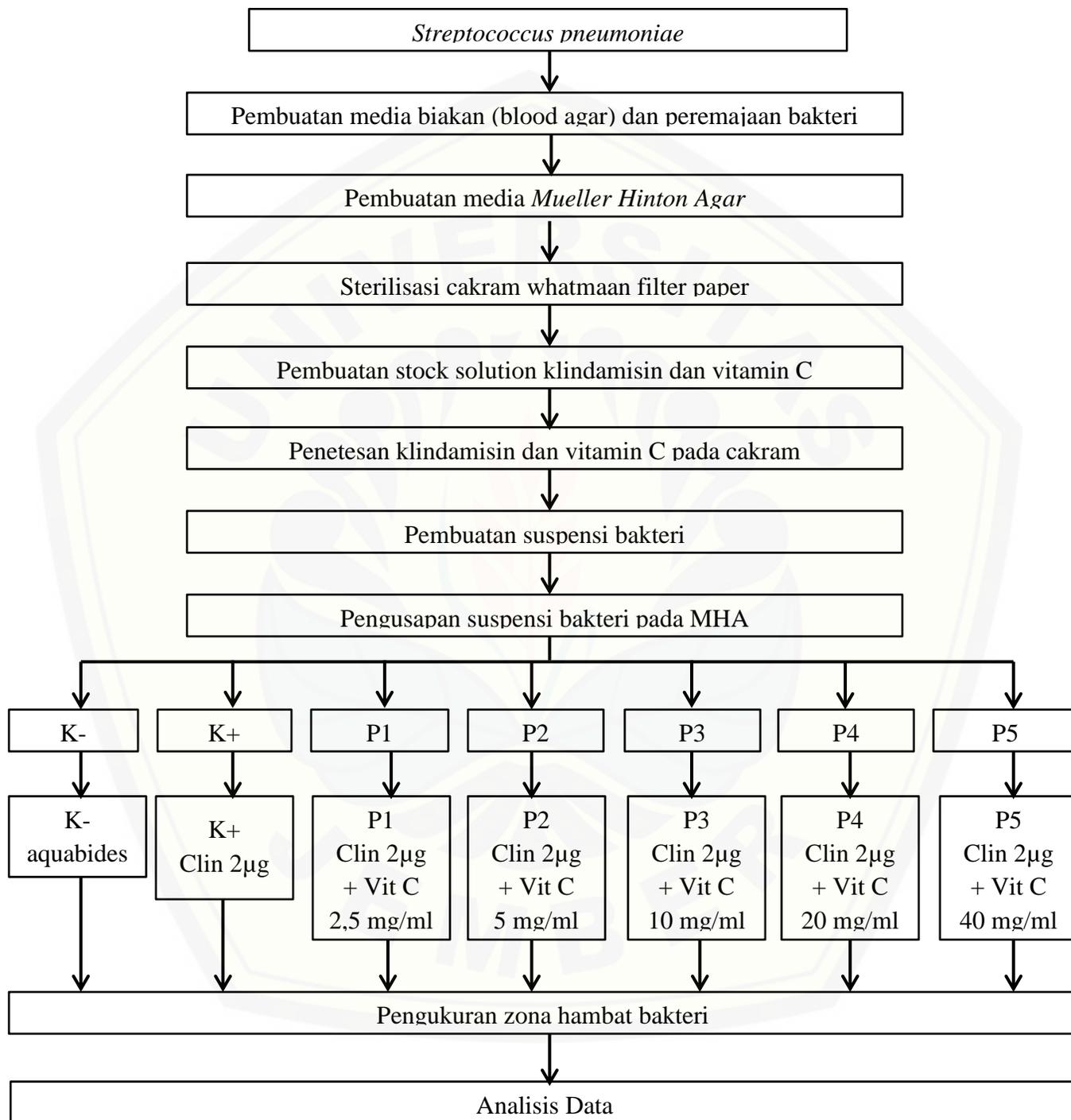
3.10 Analisis Data

Data penelitian yang diperoleh dari pengukuran diameter zona hambat pada media. Data yang diperoleh diuji normalitasnya terlebih dahulu dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk* untuk mengetahui data yang diperoleh terdistribusi normal atau tidak. Setelah data terdistribusi normal dilakukan uji varians *Levene's* untuk mengetahui variansi data homogen. Apabila hasil uji *Shapiro-Wilk* dan uji varians *Levene's*

menunjukkan hasil yang signifikan ($p > 0,05$), maka dilanjutkan dengan uji korelasi Pearson untuk mengetahui keeratan hubungan antar variabel. Apabila hasil uji korelasi Pearson menunjukkan hubungan yang sangat erat yaitu mendekati 1 atau -1, maka dilanjutkan dengan uji regresi logaritmik untuk mengetahui konsentrasi minimal vitamin C yang ditambahkan untuk meningkatkan sensitivitas dari klindamisin (Dahlan, 2009).



3.11 Alur Penelitian



Gambar 3.2. Alur Penelitian