

Modulasi Aktivitas Antibiotik terhadap *Streptococcus pneumoniae* oleh N-asetilsistein dan Vitamin C

Modulation of Antibiotic Activity Against *Streptococcus pneumoniae* by N-acetylcysteine and ascorbic acid

Dini Agustina¹, Bagus Dwi Kurniawan², Intan Palupi²

¹Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember

²Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Jalan Kalimantan No. 37 Kampus Tegalboto Jember Kode Pos 68121

e-mail korespondensi: dini.agustina83@gmail.com

Abstrak

Streptococcus pneumoniae adalah salah satu bakteri patogen yang menjadi penyebab kasus pneumonia. Pneumonia menjadi penyebab terbesar kematian balita di Indonesia sekitar 23%. Terapi utama pneumonia adalah antibiotik, namun pada beberapa kasus ditambah dengan vitamin C atau N-asetilsistein, yang berfungsi sebagai terapi tambahan. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui efek penambahan vitamin C atau N-asetilsistein pada antibiotik terhadap pertumbuhan *S. pneumoniae* secara *in vitro*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode uji kepekaan kuman *disc diffusion* dengan hambatan pertumbuhan *S. pneumoniae* ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat. Kontrol positif yang digunakan adalah klindamisin dan eritromisin. Rata-rata diameter zona hambat pada kontrol negatif, kontrol positif, dan perlakuan 1 hingga 5 pada penambahan klindamisin dengan vitamin C berturut-turut adalah 5; 24,12; 24,62; 26,08; 27,58; 28,74; dan 29,76 mm. Data tersebut memiliki korelasi yang kuat pada uji Pearson (koefisien korelasi +0,910). Pada uji regresi logaritmik didapatkan konsentrasi minimal vitamin C yang dapat menghambat adalah 1,767 mg/ml. Sedangkan pada penambahan eritromisin dengan N-asetilsistein berturut-turut adalah 28,02; 25,62; 23,46; 22,42; dan 21,68 mm. Hasil uji korelasi Pearson dari data tersebut terdapat hubungan berlawanan antara diameter zona hambat dan konsentrasi N-asetil sistein dengan koefisien korelasi sangat kuat. Dari uji regresi logaritmik konsentrasi minimal N-asetilsistein yang dapat menurunkan aktivitas antibakteri eritromisin dalam menghambat pertumbuhan *S. pneumoniae* adalah sebesar 1,66mg/ml. Kesimpulan penelitian ini adalah vitamin C meningkatkan aktivitas klindamisin dalam menghambat pertumbuhan *S. pneumoniae* secara *in vitro* sedangkan N-asetilsistein dapat menurunkan aktivitas antibakteri eritromisin dalam menghambat pertumbuhan *S. pneumoniae* secara *in vitro*.

Kata kunci: *S. Pneumoniae*, vitamin C, N-asetilsitein, zona hambat

Abstract

Streptococcus pneumoniae is one of the bacterial pathogens that cause pneumonia. Pneumonia is the biggest cause of infant mortality in Indonesia around 23%. The main therapy pneumonia is antibiotics, but in some cases combined with ascorbic acid or N-acetylcysteine, which serves as a complementary therapy. The purpose of this study was to determine the effect of adding ascorbic acid or N-acetylcysteine on antibiotics toward the growth of *S. pneumoniae* *in vitro*. The method used in this research is the method of germ-disc diffusion susceptibility test with *S. pneumoniae* growth inhibition is indicated by the formation of inhibition zone. Positive controls used clindamycin and erythromycin. The average diameter of inhibition zone on the negative control, positive control, and treatment of 1 to 5 on the addition of clindamycin with ascorbic acid are respectively 5; 24.12; 24.62; 26.08; 27.58; 28.74; and 29.76 mm. The data has a strong correlation to the Pearson test ($R=+0,910$). On a logarithmic regression analysis found minimal concentration of ascorbic acid can inhibit is 1.767 mg/ml. While the addition of erythromycin with N-acetylcysteine are respectively 28.02; 25.62; 23.46; 22.42; and 21.68 mm. Pearson correlation test results of these data are the opposite relationship between the diameter of inhibition zone and the concentration of N-acetylcysteine with a very strong correlation coefficient. Logarithmic regression of the minimum concentration of N-acetylcysteine which may decrease the antibacterial activity of erythromycin inhibit the growth of *S. pneumoniae* amounted 1,66mg/ml. It is concluded that ascorbic acid increases the activity of clindamycin in inhibiting the growth of *S. pneumoniae* *in vitro* and N-acetylcysteine may decrease the antibacterial activity of erythromycin in inhibiting the growth of *S. pneumoniae* *in vitro*.

Keywords: *S. Pneumoniae*, ascorbic acid, N-asetilsitein, inhibition zone

Pendahuluan

Pneumonia merupakan penyakit infeksi saluran nafas bawah yang paling sering disebabkan oleh bakteri *Streptococcus pneumoniae*. Penatalaksanaan penyakit pneumonia terdiri atas terapi kausatif dan terapi simptomatis. Terapi kausatif yaitu dengan pemberian antibiotik. Menurut American Thoracic Society, antibiotik yang menjadi pilihan utama pada pneumonia adalah antibiotik golongan makrolida, salah satu jenisnya adalah eritromisin (Mandell et al, 2007). Selain itu antibiotik yang dapat digunakan 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 (Setiabudy, 2012).

Terapi simptomatis digunakan untuk mengurangi gejala yang timbul pada pneumonia. Gejala yang paling sering timbul adalah batuk yang produktif atau menghasilkan sputum banyak. Terapi untuk meringankan gejala batuk ini adalah dengan pemberian agen mukolitik. Salah satu agen mukolitik yang dapat digunakan adalah N-asetilsistein (Perhimpunan Dokter Paru Indonesia, 2003). Sampai saat ini terdapat beberapa penelitian yang menyatakan penambahan N-asetilsistein pada antibiotik akan membantu kerja antibiotik dalam mengeradikasi bakteri. Hal ini berkaitan dengan sifat N-asetilsistein yang telah diteliti memiliki efek antibiofilm dan antiadheren (Domenech et al, 2011). Penelitian yang dilakukan oleh Domenech *et al* pada tahun 2011 membuktikan bahwa N-asetilsistein dapat menghambat pembentukan biofilm oleh non-encapsulated *S. pneumoniae* strain, dan secara parsial merusak biofilm yang sebelumnya telah terbentuk (Domenech et al, 2011). Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Abbas tahun 2012 menghasilkan kesimpulan bahwa kombinasi N-asetilsistein dengan antibiotik golongan beta-lactam, tetrasiklin, klorampenikol dan gentamisin ternyata meningkatkan aktivitas antibakteri antibiotik dalam menghambat pertumbuhan bakteri yang ditunjukkan dengan menurunnya Minimum Inhibitory Concentration (MIC) (Abbas, 2012). Selain penelitian yang menyebutkan bahwa kombinasi antibiotik dan N-asetilsistein berefek positif (meningkatkan aktivitas antibakteri antibiotik), ada pula penelitian yang menyebutkan bahwa kombinasi antibiotik dan N-asetilsistein justru menurunkan aktivitas antibakteri antibiotik dalam menghambat bakteri (Goswami et al, 2010).

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 difase awal invasi pneumokokus (Li et al, 2001). 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 kombinasi eritromisin dan N-asetilsistein terhadap pertumbuhan *S. Pneumoniae* dan efek penambahan vitamin C terhadap aktivitas klindamisin dalam menghambat pertumbuhan *S. pneumoniae* secara *in vitro*.

Metode Penelitian

Strain Bakteri

Streptococcus pneumoniae berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya. Isolat *S. pneumoniae* diremajakan dengan menggunakan media biakan agar darah diinkubasi pada suhu 37o selama 24 jam. Koloni bakteri ditambahkan aquades ke dalam sebuah tabung reaksi dan didilusi sampai mencapai kekeruhan sesuai 0.5 Mc Farland Standard (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012)

Uji Sensitivitas

Metode uji sensitivitas kombinasi obat dilakukan dengan menggunakan metode disc diffusion. Metode *disc diffusion* ini menggunakan kertas cakram yang dibuat dari *whatmann filter paper* dan kemudian dibagi menjadi beberapa kelompok penelitian. Masing-masing bahan modulasi dan antibiotik dibagi menjadi 7 kelompok yaitu kelompok kontrol positif yang ditetesi antibiotik masing-masing yaitu eritromisin 3mg/ml dan klindamisin 0,4mg/ml; kontrol negatif yang ditetesi aquades; kelompok perlakuan 1 hingga 5 dengan pemberian kombinasi dosis antibiotik tetap dan bahan modulasi yaitu N-asetilsistein dengan konsentrasi 1,25mg/ml; 2,5mg/ml; 5mg/ml; 10mg/ml hingga 20mg/ml dan vitamin C dengan

konsentrasi konsentrasi 2,5 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 20 mg/ml, 40 mg/ml.

Setelah cakram kertas ditetesi dengan larutan obat, selanjutnya cakram kertas ditempelkan pada Muller Hinton Agar yang disuplementasi 5% darah domba dan telah diinokulasi bakteri *Streptococcus pneumoniae*. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Penghambatan pertumbuhan bakteri berupa zona hambat bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram. Data yang diambil berupa diameter zona hambat yang diukur menggunakan jangka sorong.

Analisis Data

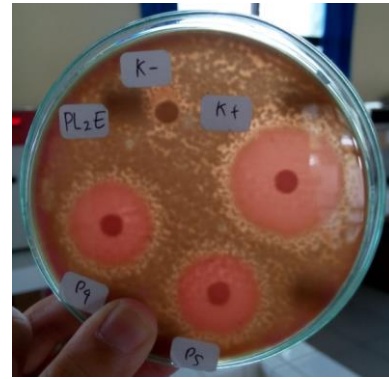
Data yang didapatkan selanjutnya dianalisis menggunakan uji korelasi pearson untuk mengetahui hubungan antara variabel terikat yaitu diameter zona hambat dan variabel bebas yaitu konsentrasi N-asetilsistein dan Vitamin C bertingkat. Hasil uji bermakna apabila didapatkan nilai $p < 0,01$. Selain itu, dilakukan uji regresi logaritmik untuk mengetahui konsentrasi minimal N-asetilsistein dan vitamin C yang dapat mempengaruhi antibiotik dalam menghambat pertumbuhan *S. pneumoniae*.

Hasil

Kombinasi NAC dan Eritromisin

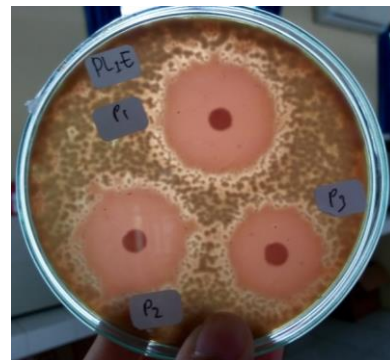
Hasil uji sensitivitas kombinasi eritromisin dan N-asetilsistein terhadap pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae* didapatkan diameter zona hambat yang terbentuk paling besar adalah pada kelompok kontrol positif yaitu kelompok yang hanya diberi antibiotik eritromisin dengan konsentrasi 15µg/5µl, dengan diameter zona hambat rata-rata 30,36mm. Sedangkan pada kelompok kontrol negatif tidak ada zona hambat yang terbentuk sehingga zona hambat merupakan diameter cakram kertas yaitu 5mm. Pada kelompok perlakuan 1 hingga 5 didapatkan diameter zona hambat rata-rata sebesar 28,02; 25,62; 23,46; 22,42; dan 21,68. Diameter zona hambat pada kelompok perlakuan menunjukkan penurunan sesuai dengan peningkatan konsentrasi N-asetilsistein. Diameter zona hambat yang terbentuk pada kelompok penelitian ditunjukkan oleh gambar 1.

Pada gambar 1 terlihat diameter zona hambat pada Muller Hinton Agar yang sudah diberikan kertas cakram kelompok perlakuan 1 hingga 3 dengan konsentrasi N-asetilsistein yang bertingkat mulai dari 1,25mg/ml; 2,5mg/ml dan 5mg/ml.



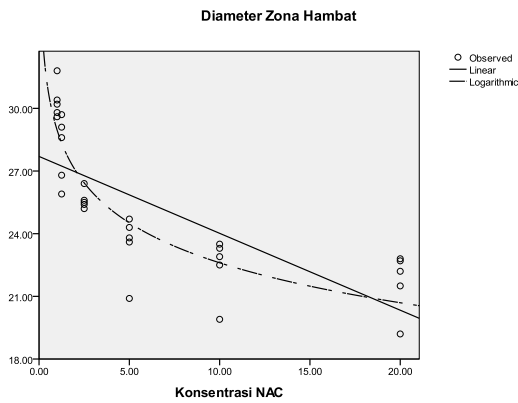
Gambar 1. Hasil diameter zona hambat pada pada kelompok perlakuan 1 hingga 3.

Pada Gambar 2 terlihat diameter zona hambat pada Muller Hinton Agar yang sudah diberikan kertas cakram kelompok kontrol positif (eritromisin 3mg/ml), kontrol negatif (aquades) dan kelompok perlakuan 4 dan 5 dengan konsentrasi N-asetilsistein 10 mg/ml dan 20mg/ml.



Gambar 2. Hasil diameter zona hambat pada kelompok kontrol positif, kontrol negatif dan kelompok perlakuan 4 dan 5.

Dari hasil uji korelasi pearson didapatkan hubungan yang bermakna antara variabel terikat yaitu diameter zona hambat dan variabel bebas yaitu konsentrasi N-asetilsistein dalam kombinasi. Hasil koefisien korelasi sebesar -0,981, tanda negatif menandakan hubungan yang berlawanan, dengan korelasi yang sangat kuat. Gambar grafik hasil uji regresi logaritmik dapat dilihat pada gambar berikut.



Gambar 3. Grafik regresi logaritmik log konsentrasi N-asetilsistein terhadap diameter zona hambat

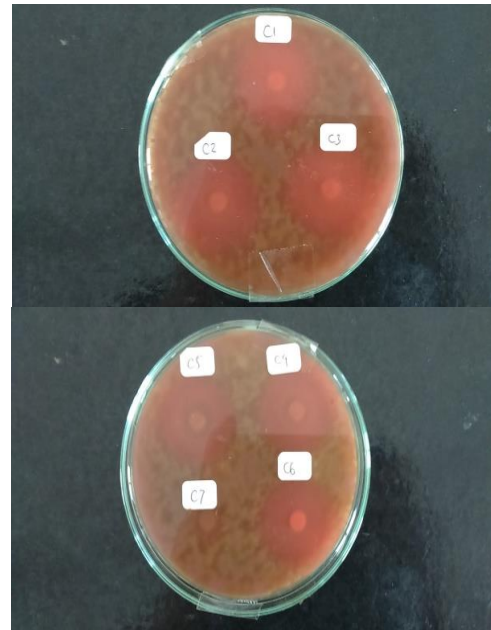
Pada grafik di atas, didapatkan persamaan $Y=28,961-2,761\ln X$. Sehingga ketika dimasukkan Y sebagai diameter zona hambat rata-rata kontrol positif yaitu 30,36mm, maka didapatkan nilai X atau konsentrasi minimal N-asetilsistein yang dapat menurunkan aktivitas antibakteri dari eritromisin adalah sebesar 1,66mg/ml.

Kombinasi Vitamin C dan Klindamisin

Diameter zona hambat yang ditunjukkan dengan zona bening pada media (Gambar 4) menunjukkan bahwa terhambatnya pertumbuhan bakteri oleh klindamisin dan kombinasi klindamisin dan vitamin C secara *in vitro*. Diameter zona hambat tersebut cenderung mengalami peningkatan seiring peningkatan konsentrasi vitamin C yang ditambahkan dalam klindamisin.

Berdasarkan hasil pengukuran diameter zona hambat didapatkan rata-rata peningkatan dari kontrol positif yang tidak diberikan vitamin C sampai kelompok perlakuan yang ditambahkan vitamin C 40 mg/ml. Rata-rata pada kontrol positif didapatkan 24,12. Sedangkan rata-rata pada kelompok perlakuan yang ditambahkan konsentrasi vitamin C 2,5 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 20 mg/ml, dan 40 mg/ml berturut-turut ialah 24,62; 26,08; 27,58; 28,74; dan 29,76 mm.

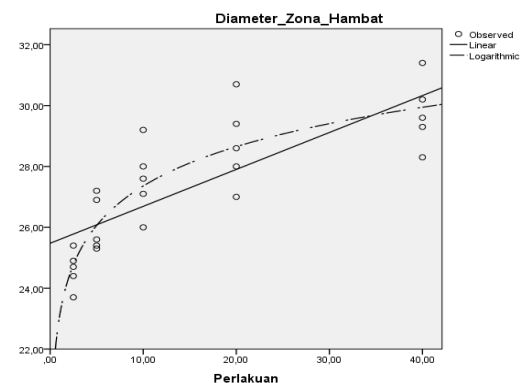
Data yang telah diperoleh dilakukan uji analisis statistik meliputi uji normalitas data, uji homogenitas data, uji korelasi Pearson, dan uji regresi logaritmik untuk menentukan hubungan antarvariabel dan konsentrasi minimal vitamin C yang ditambahkan dapat meningkatkan aktivitas klindamisin. Uji normalitas data menunjukkan signifikansi lebih dari 0,05 menunjukkan data terdistribusi normal.



Gambar 4. Diameter zona hambat menunjukkan peningkatan seiring peningkatan konsentrasi vitamin C yang ditambahkan. Keterangan : C1 (klindamisin), C2; C3; C4; C5; C6 (klindamisin + vitamin C 2,5 mg/ml; 5 mg/ml; 10 mg/ml; 20 mg/ml; 40 mg/ml), dan C7 (aquades)

Uji homogenitas data menunjukkan signifikansi lebih dari 0,05 menunjukkan data homogen atau memiliki variansi sama.

Uji pearson dilakukan karena data terdistribusi normal dan memiliki variansi sama, didapatkan hasil korelasi Pearson +0,910 menunjukkan keeratan hubungan searah antar variabel. Uji regresi logaritmik dilakukan karena data yang diperoleh menunjukkan kurva hiperbola (Gambar 5).



Gambar 5. Kurva konsentrasi vitamin C terhadap diameter zona hambat melalui uji regresi linear dan logaritmik

Uji regresi logaritmik didapatkan koefisien A dan B berturut-turut adalah 23,057 dan 1,867. Koefisien tersebut dimasukkan ke dalam rumus regresi logaritmik $y=A+B \ln x$ didapatkan hasil x yaitu 1,767 mg/ml merupakan konsentrasi minimal vitamin C dapat meningkatkan aktivitas klindamisin terhadap pertumbuhan *S. pneumoniae*.

Pembahasan

Penurunan diameter zona hambat pada kelompok perlakuan menandakan bahwa N-asetilsistein menurunkan aktivitas antibakteri eritromisin dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. pneumoniae*. Penurunan aktivitas antibakteri eritromisin tersebut terjadi karena mekanisme N-asetilsistein sebagai prekursor sistein dan glutathion yang mampu meningkatkan glutathion intra sel bakteri (Santus et al, 2014). Glutathion berperan dalam mekanisme pertahanan bakteri dari lingkungan luar seperti kondisi stress osmotik, stress oksidatif serta menjadi senyawa penting dalam memulai inisiasi sintesis protein bakteri (Masip et al, 2006). Sintesis protein tidak akan terjadi ketika tidak ada glutathion intrasel atau kadarnya menurun (Goswami et al, 2007).

Suatu penelitian telah dilakukan untuk mencari pengaruh glutathion terhadap cycloheximide yaitu antibiotik yang bekerja dengan cara menghambat translasi pada sintesis protein bakteri. Cycloheximide mengandung senyawa kimia β -hidroksiketon, yang mudah melepas air. Ketika cycloheximide kehilangan air, akan terbentuk $\alpha\beta$ -unsaturatedketon yang senyawa karbonilnya reaktif terhadap gugus thiol dari glutathion. Hal inilah yang mendasari kombinasi antibiotik ini dengan gugus thiol mampu mencegah inhibisi pada inisiasi dan translasi sintesis protein bakteri (Goswami et al, 2007). Serupa dengan cycloheximid, eritromisin juga memiliki gugus hidroksi keton, dan bekerja dengan cara menghambat sintesis protein bakteri pada tahap translasi (Slawinski et al, 2010).

Saat bakteri *S. pneumoniae* diuji sensitivitasnya terhadap kombinasi eritromisin dan N-asetilsistein pada media MHA, kemungkinan akan terjadi peningkatan glutathion intrasel bakteri. N-asetilsistein yang ditambahkan pada media MHA akan menyebabkan gshT (glutathion transporter) untuk membawa glutathion yang ada di media (ekstraseluler) untuk diangkut ke intraseluler, hal ini akan meningkatkan glutathion intrasel bakteri (Potter et al, 2012). Kadar glutathion intrasel yang cukup (kadar 100%) akan memulai inisiasi sintesis

protein, dan pada kadar glutathion 50%, translasi akan terjadi. Pada kadar 50% ini pula glutathion akan menghambat kerja eritromisin dalam melakukan mistranslasi (kesalahan translasi) pada bakteri (Goswami et al, 2007). Selain itu, reaksi senyawa keton dari eritromisin dan gugus thiol dari N-asetilsistein akan menyebabkan pencegahan inhibisi inisiasi, translasi dan elongasi sintesis protein oleh antibiotik (Goswami et al, 2007). Sehingga, dapat dikatakan bahwa N-asetilsistein mempengaruhi aktivitas antibakteri eritromisin saat dikombinasikan dan hal ini berefek pada menurunnya aktivitas antibakteri eritromisin sehingga menghasilkan diameter zona hambat yang menurun.

N-asetilsistein yang ditambahkan dalam kombinasi dengan antibiotik akan memberi pengaruh yang berbeda, tergantung antibiotik yang digunakan karena berhubungan dengan interaksi obatnya dan tergantung jenis bakteri yang dihambat. Hal ini dibuktikan dengan beberapa penelitian sebelumnya, yang menyatakan bahwa N-asetilsistein dapat meningkatkan aktivitas antibakteri dari antibiotik golongan beta laktam dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli*. Dari penelitian ini juga terbukti bahwa N-asetilsistein dapat menurunkan aktivitas antibakteri antibiotik eritromisin dalam menghambat pertumbuhan *S.pneumoniae*. N-asetilsistein sebenarnya dapat berpengaruh positif saat dikombinasikan dengan antibiotik saat kondisi infeksi kronis. Hal ini karena pada saat kondisi kronis, terjadi ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan yang menyebabkan stress oksidatif. Stress oksidatif menyebabkan menurunnya jumlah antioksidan endogen yaitu glutathion intrasel, sehingga dibutuhkan suatu prekursor antioksidan endogen berupa N-asetilsistein (Subrata, 2010). Selain itu, pada infeksi bakteri *Streptococcus pneumoniae* yang kronis, kemungkinan telah terjadi pembentukan biofilm yang menyebabkan terjadinya resistensi. Oleh karena itu penambahan N-asetilsistein dapat dilakukan pada kondisi ini karena N-asetilsistein dapat berperan sebagai antibiofilm yang akan merusak biofilm yang telah terbentuk dan menyebabkan antibiotik dapat bekerja maksimal dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Domenech et al, 2011).

Kebalikan dari hasil modulasi menggunakan N-asetilsistein hasil modulasi vitamin C membuktikan bahwa vitamin C mampu meningkatkan aktivitas klindamisin dalam menghambat pertumbuhan *S. pneumoniae*. Diameter zona hambat mengalami peningkatan seiring penambahan konsentrasi vitamin C dalam klindamisin. Hal ini menunjukkan

bahwa vitamin C memiliki kemampuan dalam menghambat *Streptococcus pneumoniae* melalui produksi ROS meskipun pada penelitian hanya dilihat melalui peningkatan diameter zona hambat. Hasil menunjukkan bahwa konsentrasi vitamin C mulai mampu meningkatkan aktivitas klindamisin dalam menghambat pertumbuhan *S. pneumoniae* ialah 2,5 mg/ml.

Peningkatan diameter zona hambat pada kelompok perlakuan menandakan bahwa vitamin C meningkatkan aktivitas antibakteri klindamisin dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. pneumoniae*. Peningkatan aktivitas antibakteri klindamisin tersebut terjadi karena mekanisme vitamin C sebagai agen prooksidan yang ditandai dengan pembentukan ROS (Reactive Oxygen Species). ROS merupakan senyawa pengoksidasi turunan oksigen yang bersifat sangat reaktif yang terdiri dari kelompok radikal dan nonradikal. Vitamin C dapat berikatan dengan iron (Fe) yang ada di dalam *S. pneumoniae* membentuk hidroksil radikal. Proses pembentukan hidroksil radikal yang dihasilkan oleh ikatan vitamin C dan iron dari *S. pneumoniae* melalui kombinasi siklus Haber Weiss dan reaksi Fenton (Vilcheze et al, 2013). Penelitian sebelumnya menjelaskan bahwa ikatan antara vitamin C dan iron dari *Mycobacterium tuberculosis* menghasilkan hidroksil radikal yang dapat menyebabkan DNA-damage pada bakteri (Vilcheze et al, 2013).

Radikal hidroksil akan bereaksi langsung dengan asam nukleat dari DNA dengan membentuk 8-hidroksiguanosin yang merupakan senyawa penyebab kerusakan DNA. Radikal hidroksil akan memutuskan salah satu untai DNA sehingga akan menyebabkan kerusakan oksidatif pada DNA bakteri (Murray et al, 2009)

Metabolisme *S. pneumoniae* akan memproduksi hidrogen peroksida (H_2O_2). Hidrogen peroksida merupakan salah satu dari reactive oxygen species. Namun hidrogen peroksida yang dihasilkan ini selain berfungsi untuk meningkatkan virulensi dari *S. pneumoniae*, hal ini juga akan memberikan efek yang negatif terhadap *S. pneumoniae* sendiri. Untuk mengatasi stress oksidatif yang berasal dari hidrogen peroksida yang dihasilkan oleh *S. pneumoniae* sendiri, bakteri ini akan menghasilkan enzim kanonik untuk mendetoksifikasi radikal oksigen atau pemicu timbulnya stress oksidatif (Yessilkaya et al, 2013). Vitamin C yang diberikan kepada *S. pneumoniae* akan meningkatkan stress oksidatif pada bakteri tersebut.

Pada penelitian ini digunakan klindamisin yang bekerja dalam menghambat sintesis protein bakteri yang bekerja pada ribosom subunit 50S.

Namun selain bekerja pada bagian dari bakteri, klindamisin juga akan menghasilkan ROS dalam proses eradikasi bakteri. Saat bakteri *S. pneumoniae* diuji sensitivitasnya terhadap kombinasi klindamisin dan vitamin C pada media MHA, kemungkinan akan terjadi peningkatan dari ROS yang tidak dapat di detoksifikasi dengan enzim kanonik yang dikeluarkan oleh *S. pneumoniae* (Yessilkaya et al, 2013). Hal ini akan menyebabkan kerusakan oksidatif pada DNA bakteri. Sehingga dapat dikatakan bahwa vitamin C mempengaruhi aktivitas klindamisin saat dikombinasikan dan hal ini akan berefek pada meningkatnya aktivitas antibakteri klindamisin sehingga menghasilkan peningkatan diameter zona hambat.

Beberapa kelemahan dalam penelitian ini antara lain penelitian ini sebatas in vitro sehingga tidak dapat mengetahui secara pasti apakah terjadi peningkatan ROS ketika ditambahkan vitamin C. Selain itu, terkadang terjadi penumpukan zona hambat yang terbentuk karena penempelan cakram kertas yang terlalu berdekatan. Bakteri *S. pneumoniae* adalah fastidious organism yang membutuhkan nutrisi tertentu yaitu darah untuk tumbuh dan bakteri ini mudah berubah morfologinya, 48 jam tumbuh di media sudah dapat menyebabkan bakteri bentuk kokus ini berubah memipih menjadi batang. Terjadi beberapa pengulangan penelitian karena bakteri telah berubah morfologi dan berubah sifat sehingga perlu diperbarui lagi bakterinya untuk dilakukan penelitian ulang.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kombinasi eritromisin dan N-asetilsistein memberikan efek negatif yaitu N-asetilsistein dapat menurunkan aktivitas antibakteri eritromisin dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae*. Penurunan aktivitas antibakteri eritromisin ini sesuai dengan peningkatan konsentrasi N-asetilsistein dalam kombinasinya dengan eritromisin. Konsentrasi minimal N-asetilsistein dalam kombinasi yang mampu menurunkan aktivitas antibakteri eritromisin dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae* adalah 1,66 mg/ml. Sedangkan penambahan vitamin C meningkatkan aktivitas klindamisin dalam menghambat pertumbuhan *S. pneumoniae* secara in vitro. Konsentrasi vitamin C minimal yang ditambahkan yang dapat meningkatkan aktivitas klindamisin ialah 1,767 mg/ml.

Daftar Pustaka

- Abbas H. Modulation of Antibiotics Activity Against *Pseudomonas aeruginosa* by N-acetylcysteine, Ambroxol and Ascorbic acid. *Asian Journal of Respiration Farmacology Science*. 2012; 2(4): 123-128.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test; Approved Standard-Eleventh Edition. USA: CLSI; 2012.
- Domenech M, Garcia E, Moscoco M. Biofilm Formation in *Streptococcus pneumoniae*. *Microbial Biotechnology*. 2011;5(4): 455-465.
- Goswami M, Mangoli S, Jawali N. Effect of Glutathione and Ascorbic Acid on Streptomycin Sensitivity of *Escherichia coli*. *Journal of Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2007: 1119-1122.
- Goswami M, Mangoli S, Jawali N. N-acetylcysteine Mediated- Modulation of Bacterial Antibiotic Susceptibility. *Journal of Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2010: 3529-3530.
- Li S, Taylor KB, Kelly SJ, Jerdzejnas MJ. Vitamin C Inhibits the Enzymatic Activity of *S. pneumoniae* Hyaluronate Lyase. *Birmingham: JBC*; 2001.
- Mandell LA, Wunderink RG, Anzueto A, Bartlett JG, Campbell GD, Dean NC, et al. Infectious Disease Society of America/ American Thoracic Society Consensus Guidelines on the Management of Community-Acquired Pneumoniae in Adults. *Journal of Clinical Infectious Disease*. 2007;44: 27-72.
- Masip L, Veeravalli K, Georgiou G. The Many Faces of Glutathione in Bacteria. *Antioxid Redox Signal*. 2006: 8: 753–762.
- Murray RK, Granner DK, Rodwell VW. *Biokimia Harper*. Edisi 27. Jakarta: EGC; 2009.
- Perhimpunan Dokter Paru Indonesia. *Pneumonia Komunitas: Pedoman Diagnosis dan Penatalaksanaan di Indonesia*. Jakarta: PDPI. 2003.
- Potter AJ, Trapetti C, Paton JC. *Streptococcus pneumoniae* Uses Glutathione to Defend Against Oxidative Stress and Metal Ion Toxicity. *Journal Bacteriology*. 2012;0139: 3-12.
- Santus P, Corsico A, Solidoro P. Oxidative Stress and Respiratory System: Pharmacological and Clinical Reappraisal of N-acetylcysteine. *Journal of COPD*. 2014: 11: 705–717.
- Setiabudy R. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5 Universitas Indonesia. Jakarta : Balai Penerbit FKUI; 2012
- Slawinski B, Dahlig HB, Glabski T. The Structure of Erythromycin A Cyclic Carbonate. *Physical Organic Chemistry*. 2010: 94: 11.
- Subrata G. Optimalisasi Terapi Antibiotik dengan Antioksidan N-asetilsistein. *Jurnal Medika*. 2010: 36(6).
- Vilcheze C, Hartman T, Weinrick B, Jacobs WR. *Mycobacterium tuberculosis* is Extraordinarily Sensitive to Killing by a Vitamin C-Induced Fenton Reaction. New York: NIH; 2013.
- Yesilkaya H, Andisi VF, Andrew PW, Bijlsma JJE. *S. pneumoniae* and Reactive Oxygen Species: an Unusual Approach to Living With Radicals. Leicester: University of Leicester UK; 2013.