

Pengaruh siprofloksasin pada kepekaan *Pseudomonas aeruginosa* terhadap tetrasiklin

Ning Rintiswati & Praseno
Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran
Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

ABSTRACT

Ning Rintiswati, Praseno - *The effect of ciprofloxacin on the susceptibility of pseudomonas aeruginosa to tetracycline*

The effect of ciprofloxacin on the susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* to tetracycline was evaluated. This study was based on the fact that most bacterial resistance to an antibiotics is under control of genes located on plasmids. Treatment with ciprofloxacin at subminimal inhibitory concentration possibly alter the supercoiled to the relaxed form, so that the plasmids could not be expressed, whereas at the same time the bacterial chromosome would not be affected by the treatment. The aim of this study was to search for possible increase of tetracycline susceptibility of *P.aeruginosa*, under the influence of ciprofloxacin. Thirty two isolates of *P.aeruginosa* were used in the experiment. Minimal inhibitory concentration (MIC) of ciprofloxacin for an individual isolate was determined by a standard broth dilution method. Fresh cultures with the density of 10^6 CFU/ml were added into a serial tubes containing various concentrations of tetracycline. Ciprofloxacin at sub MIC's was then added into these cultures. The same cultures containing only tetracycline were used for controls. The results showed that the decrease of MIC of tetracycline was observed in 31 (96.87%) isolates of *P.aeruginosa*, and 34.37% changed their resistance stated. It was concluded that ciprofloxacin increased tetracycline susceptibility of *P.aeruginosa*.

Key words : ciprofloxacin - plasmid - antibiotic susceptibility - *P. aeruginosa*-tetracycline

ABSTRAK

Ning Rintiswati & Praseno - *Pengaruh siprofloksasin pada peningkatan kepekaan Pseudomonas aeruginosa terhadap tetrasiklin*

Telah diteliti efek siprofloksasin pada peningkatan kepekaan *Pseudomonas aeruginosa* terhadap tetrasiklin secara in vitro. Penelitian ini didasarkan pada pendapat bahwa sebagian besar sifat resisten bakteri dikendalikan oleh plasmid. Pemberian siprofloksasin pada kadar di bawah kadar hambat minimal (sub KHM) diduga menyebabkan struktur superkoil plasmid akan mengendur sehingga tidak diekspresikan, akibatnya bakteri akan menjadi lebih peka terhadap antibiotik, pada kadar tersebut kromosom bakteri tidak akan terganggu. Penelitian dilakukan dengan tujuan mengetahui pengaruh siprofloksasin pada kepekaan *P.aeruginosa* terhadap tetrasiklin. Sebagai subyek penelitian digunakan 32 isolat *P.aeruginosa*. KHM siprofloksasin untuk setiap isolat ditentukan dengan metoda dilusi. Bakteri dengan kepadatan 10^6 cfu/ml, dibiakkan pada medium perbenihan cair yang mengandung tetrasiklin dengan kadar bervariasi. Perlakuan berupa pemberian siprofloksasin pada dosis sub KHM. Sebagai kelompok kontrol adalah populasi *P.aeruginosa* yang dibiakkan pada medium mengandung tetrasiklin dengan variasi dosis sama dengan kelompok perlakuan, diinkubasi 37°C , 18-24 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 31(96,87%) isolat bakteri uji mengalami penurunan KHM, dan 34,37% isolat mengalami perubahan status dari resisten menjadi sensitif. Disimpulkan bahwa siprofloksasin berefek meningkatkan kepekaan *P.aeruginosa* terhadap tetrasiklin.

PENGANTAR

Penggunaan antibiotik pada penanggulangan penyakit infeksi pada saat ini seringkali terhambat oleh timbulnya berbagai bakteri yang resisten, sedangkan penemuan obat baru sangat lambat perkembangannya^{1,2,3}. Hal ini menimbulkan berbagai kekhawatiran bahwa suatu saat tidak terdapat lagi antibiotik yang poten untuk menanggulangi infeksi bakterial.

Timbulnya resistensi bakteri ditentukan oleh faktor genetik, dapat secara kromosomal atau ekstra kromosomal. Faktor ekstra kromosomal berada pada plasmid pembawa elemen genetik pengendali resistensi bakteri terhadap antibiotik. Elemen genetik pada plasmid dapat direplikasi dan dipindahkan kepada bakteri lain dari spesies yang sama ataupun spesies lain^{4,5}. Dengan demikian apabila gena penyebab resistensi suatu bakteri berada pada plasmid, gena tersebut dapat dipindahkan ke bakteri lain yang masih peka, sehingga bakteri penerima menjadi resisten antibiotik^{6,7}. Jadi, plasmid berperan sangat besar pada penyebaran sifat resisten bakteri. Tidak mengherankan apabila pada beberapa dekade terakhir strain bakteri resisten menjadi berkembang secara meluas.

Untuk mengatasi hal tersebut diperlukan berbagai usaha, di antaranya mendapatkan cara-cara alternatif penggunaan antibiotika yang telah ada saat ini³, misalnya mengkombinasikan antibiotik yang kurang poten dengan suatu agen pengendali yang dapat menghambat replikasi plasmid.

Siprofloksasin merupakan golongan fluoroquinolon dengan mekanisme kerja merintangi aktivitas enzim DNA-gyrase yang berfungsi mempertahankan struktur superkoil DNA. Gangguan terhadap enzim ini akan berakibat pada perubahan struktur superkoil DNA menjadi bentuk melingkar, sehingga tidak dapat diekspresikan^{8,9,10}. Sifat siprofloksasin yang mampu menghambat DNA-gyrase ini diharapkan dapat dimanfaatkan untuk mengendalikan plasmid. Pada kadar rendah diperkirakan agen ini dapat menghambat replikasi plasmid, tanpa mengganggu kromosom bakteri.

Dari uraian di atas timbul pertanyaan: Adakah pengaruh siprofloksasin pada respon bakteri terhadap antibiotik? Dapatkah siprofloksasin

meningkatkan kepekaan bakteri terhadap antibiotik? Untuk menjawab pertanyaan tersebut tentunya perlu dilakukan penelitian.

Penelitian ini dilakukan dengan maksud meneliti pengaruh siprofloksasin pada perubahan respon bakteri terhadap tetrasiklin. Sebagai bakteri uji dipilih *Pseudomonas aeruginosa*, mengingat bakteri tersebut adalah salah satu spesies yang sangat mudah kehilangan kepekaan terhadap berbagai antibiotika, sehingga sering menimbulkan masalah kesehatan karena infeksi yang ditimbulkan sulit diobati. Sensitivitas bakteri ini terhadap tetrasiklin sangat rendah yakni berkisar antara 30%-40%^{11,12,13}. Dengan dasar bahwa resistensi *P. aeruginosa* terhadap tetrasiklin pada umumnya didominasi oleh pengaruh plasmid, maka gangguan terhadap replikasi plasmid akan berefek pada perubahan kepekaan bakteri terhadap tetrasiklin. Agar kromosom bakteri tidak terganggu maka siprofloksasin diberikan pada kadar rendah, yakni di bawah kadar hambat minimal (KHM).

CARA PENELITIAN

Metode yang digunakan adalah ekperimental deskriptif analitik, dengan subjek penelitian berupa isolat *Pseudomonas aeruginosa* yang resisten tetrasiklin. Bakteri dengan kepadatan tertentu 10^6 cfu/ml dalam medium perbenihan cair, dibiakkan pada satu seri tabung yang mengandung tetrasiklin dengan kadar bervariasi. Perlakuan berupa pemberian siprofloksasin (pada dosis sub KHM), diinkubasi 37^o, 18-24 jam. Diamati adanya hambatan pertumbuhan bakteri setiap tabung yang ditandai dengan perbedaan turbiditas perbenihan cair, keruh berarti pertumbuhan tidak terhambat, sedangkan jernih berarti terdapat hambatan pertumbuhan. Dari pengamatan tersebut dapat ditentukan kadar hambat minimal (KHM) atau *minimal inhibition concentration* (MIC), yakni tabung dengan kadar antibiotik terendah yang menunjukkan terdapat hambatan pertumbuhan (jernih). Jadi KHM diartikan sebagai kadar antibiotika terendah yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Sebagai kelompok kontrol adalah populasi *P. aeruginosa* yang dibiakkan pada medium mengandung tetrasiklin dengan variasi dosis sama dengan kelompok perlakuan.

Untuk menentukan kadar sub KHM siprofloksasin, dilakukan uji potensi (*standard broth dilution method*), sehingga diperoleh nilai KHM masing-masing isolat *P. aeruginosa* terhadap siprofloksasin, untuk kemudian ditentukan kadar sub KHM yakni separoh kadar KHM yang diperoleh. Pada kadar tersebut dipastikan bahwa siprofloksasin tidak berefek menghambat pertumbuhan bakteri uji.

Variabel tergantung berupa asal sifat resisten bakteri *P. aeruginosa* (kromosomal atau ekstrakromosomal/plasmid), sedangkan variabel bebas berupa perlakuan siprofloksasin pada dosis sub KHM yang dapat menghambat aktivitas DNA-gyrase plasmid, variabel terkendali berupa kadar tetrasiklin, media perbenihan lingkungan dan jumlah bakteri.

Data penelitian berupa nilai KHM yakni konsentrasi antibiotika terkecil yang mampu menghambat *P. aeruginosa*. Dengan mendapatkan nilai KHM tetrasiklin pada kelompok perlakuan dan kontrol dapat diamati adanya perubahan nilai KHM atau adanya perubahan status (resisten/sensitif), sebagai akibat pemberian siprofloksasin.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sejumlah 32 isolat *P. aeruginosa* yang resisten tetrasiklin, diperoleh dari koleksi di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran UGM, digunakan sebagai subjek penelitian.

TABEL 1. - Kadar hambat minimal siprofloksasin pada 32 isolat *Pseudomonas aeruginosa*

Jumlah isolat	KHM(ug/ml)	Sub KHM (µg/ml)	Status
4	0,78	0,4	S
8	1,56	0,78	R
4	2,2	1,1	R
1	3,12	1,50	R
3	6,2	3,1	R
8	12,5	6,25	R
2	25	12,5	R
1	50	25	R
1	200	100	R

Keterangan : S=sensitif, R= resisten
Standar KHM siprofloksasin :
Sensitif : 1 µg/ml

Dari TABEL 1. dapat ditunjukkan bahwa 28 (87,5%) isolat uji resisten siprofloksasin. Kadar

sub KHM siprofloksasin yang diperoleh kemudian digunakan sebagai dosis perlakuan bagi masing-masing isolat uji secara individual.

Adapun kadar tetrasiklin yang digunakan adalah 1000 ug/ml, 500 ug/ml, 250 ug/ml, 125 ug/ml, 62,5 ug/ml, 31,25 ug/ml. 15,62 ug.ml, 7,81 ug/ml, 3,40 ug/ml,1,70 ug/ml.

Hasil pengamatan (TABEL 2) menunjukkan bahwa dari 32 isolat uji terdapat 31 (96,87%) isolat mengalami penurunan KHM setelah penambahan siprofloksasin, bahkan 11 (34,37%) di antaranya mengalami perubahan status dari resisten menjadi sensitif tetrasiklin.

Khusus bagi isolat uji no. 15 percobaan diulang beberapa kali dengan meningkatkan kadar tetrasiklin, tetapi tidak pernah diperoleh nilai KHM. Hal ini diduga karena resistensi yang terjadi bukan dikendalikan oleh plasmid, namun oleh kromosom bakteri, sehingga pemberian siprofloksasin (pada dosis sub KHM) tidak mempengaruhi kepekaannya.

TABEL 2. - Efek pemberian siprofloksasin pada penurunan KHM tetrasiklin dan perubahan status resistensi 32 isolat *P. aeruginosa*

No	Jml isolat	Tetrasiklin		Tetrasiklin+Siprofloksasin	
		KHM (µg/ml)	status	KHM µg/ml	status
1	3	125	R	3,40	S
2	2	125	R	1,70	S
3	2	125	R	31,25	R
4	3	250	R	3,40	S
5	2	250	R	31,25	R
6	1	250	R	62,5	R
7	2	500	R	15,82	R
8	1	500	R	31,25	R
9	3	500	R	3,40	S
10	4	500	R	62,5	R
11	3	500	R	125	R
12	2	1000	R	125	R
13	2	1000	R	250	R
14	1	1000	R	500	R
15	1	>20.000	R	>20.000	R

Keterangan :S= sensitif, R=resisten
Standar KHM Tetrasiklin resisten:= ≥16 µg/ml sensitif: 4 µg/ml

Terjadinya penurunan KHM pada 96,87% isolat uji, dapat merupakan indikasi bahwa siprofloksasin yang diberikan berpengaruh terhadap respon bakteri uji terhadap antibiotik, data tersebut dapat memperkuat dugaan bahwa sifat resisten bakteri dikendalikan oleh plasmid, bukan kromosom.

Plasmid merupakan DNA dengan sifat-sifat tidak jauh berbeda dengan sifat DNA kromosom bakteri. Kromosom memiliki panjang lebih daripada ukuran bakteri dengan bentuk superkoil, DNA bakteri dapat termuat di dalam sel bakteri. Pada saat superkoil mengarah ke kanan hasilnya adalah superkoil positif, jika berputar ke arah berlawanan dikatakan superkoil negatif. Dalam keadaan superkoil negatif terjadi replikasi DNA. Enzim DNA-gyrase berperan dalam membentuk superkoil negatif, pada proses ini diperlukan ATP^{4,5}. Enzim DNA-gyrase terdiri atas 4 sub unit, 2 subunit alpha dan 2 subunit beta. Peranan subunit alpha adalah memotong dan menyambung DNA, sedangkan subunit beta bertugas menghidrolisis ATP, untuk menyediakan energi^{4,5}.

Obat golongan kuinolon, seperti siprofloksasin, bekerja dengan cara mengubah struktur DNA bakteri dengan mengganggu aktivitas DNA-gyrase pada subunit alpha, sehingga tidak terbentuk superkoil negatif. Dengan gangguan tersebut DNA tidak berhasil direplikasi^{4,5}.

Pada penelitian ini aktivitas enzim DNA-gyrase diduga terhambat oleh pemberian siprofloksasin, sehingga plasmid tidak diekspresikan akibatnya *Pseudomonas aeruginosa* lebih peka terhadap pemaparan tetrasiklin. Hal tersebut dapat ditunjukkan dari penurunan nilai KHM tetrasiklin bakteri uji (96,87%) di bawah perlakuan siprofloksasin.

Masalah yang timbul adalah bahwa enzim DNA-gyrase selain dimiliki oleh plasmid juga terdapat pada kromosom bakteri. Dapat terjadi DNA kromosom bakteri ikut terpengaruh pada pemberian siprofloksasin. Untuk mengatasi hal tersebut pada awal penelitian telah diukur KHM siprofloksasin pada masing-masing isolat, diperoleh hasil bahwa 87,5% isolat resisten siprofloksasin melebihi batas standar sensitif, yakni kurang atau sama dengan 1 µg/ml, sehingga dapat dipastikan bahwa pemberian kadar sub KHM tidak berpengaruh terhadap kromosom.

Antibiotika yang memiliki efek sama seperti siprofloksasin adalah *coumermycin*, asam nalidixat, *oxolinic acid*, dan *novobiocin*. Telah terdapat bukti bahwa obat-obat tersebut menghambat DNA-gyrase⁵.

Hasil penelitian terdahulu menunjukkan bahwa siprofloksasin dapat mengeliminasi plasmid

yang terdapat pada bakteri enterik^{15,10}. Dari penelitian ini tidak diketahui apakah siprofloksasin dapat berperan mengeliminasi plasmid sel bakteri, dan seberapa jauh pengaruhnya, bersifat menetap atau sementara. Untuk menjawab hal tersebut diperlukan penelitian lebih lanjut terhadap generasi keturunan bakteri uji.

SIMPULAN

1. Pemberian siprofloksasin dapat meningkatkan kepekaan *P.aeruginosa* terhadap tetrasiklin.
2. Sejumlah 34,37% isolat uji mengalami perubahan status dari resisten menjadi sensitif tetrasiklin.
3. Sifat resisten sebagian besar bakteri uji dikendalikan oleh plasmid.

SARAN

Disarankan agar dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai :

1. Efek siprofloksasin sebagai agen pengendali plasmid pada penggunaan antibiotik sampai pada beberapa generasi turunan bakteri uji.
2. Peranan agen pengendali plasmid lain dikombinasi dengan berbagai antibiotika.
3. Pengamatan pada tingkat molekular efek siprofloksasin terhadap eliminasi plasmid.

KEPUSTAKAAN

1. Suwandi U.1991. Resistensi mikroba terhadap Antibiotika. Cermin dunia Kedokteran 1991;70:48-9.
2. Warsa UC, Santosa A U S, Josodiwondo S. Studi in vitro aktivitas antibakteri kuinolon siprofloksasin. J Mikrob Klin Indon, 1989;4(4):5-8.
3. Soedarmono P.Plasmid dan Permasalahannya. Maj Kedokt Ind. 1984; 34(7):405-8.
4. Hardy K, Bacterial Plasmid. Berkshire: Van Nostrand Reinhold Ltd. 14.
5. Freifelder D. Molecular Biology, 2nd ed John and Burlett. Publ. Inc., 1987.
6. Anderson ES. Origin of transferable drug resistance factor in enterobacteriaceae, BMJ 1985; 2:1289-91.
7. Brown TA. Pengantar kloning gena, terjemahan, Soemiati Achmad Mohammad dan Praseno, Yogyakarta: Yayasan Esentia Medika, 1986.
8. Setyabudi R. Farmakologi Flouroquinolon. Simposium siprofloksasin dan penggunaannya, Palembang, 1992.

9. Anonim. Buletin Quinolon. Jakarta: 1991.
10. Siporin C. The Evolution of flurinated quinolones: pharmacology, microbial activity, clinical uses and toxicities. *Ann Rev Microbiol* 1991;43:601-27.
11. Rintiswati N. Pola Kepekaan kuman terhadap beberapa antibiotika di lab Mikrobiologi FK UGM. *J Mikrobiol.Klin Ind* 1992;6(1):26-8.
12. Setyabudi R. Antimikroba lainnya, dalam: Gan S, editor. *Farmakologi dan Terapi*, ed 3. FKUI, Jakarta: Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, 1992.
13. Gan, Vincent HS, Setyabudi R. Antimikroba, dalam: Gan dan Sulistia: *Farmakologi dan Terapi*. edisi 3 FKUI Jakarta, 1987.
14. Praseno. Epidemiologi dan genetika resistensi bakteri terhadap antibiotika, *Medika* 1989; 15(11):33-35.
15. Greenwood D, O'Grady F. *The scientific basis of anti microbial chemotherapy*. New York: Cambridge University Press, 1985.
16. Mihich E. *Drug Resistance and selectivity*. Biochemical and cellular basis. New York: Academic Press, 1973.