

DETEKSI RESISTENSI *Mycobacterium tuberculosis* TERHADAP OBAT ANTITUBERKULOSIS OFLOXACIN (OFL) PADA BERBAGAI KONSENTRASI

(Detection of *Mycobacterium tuberculosis* Resistance to Anti-tuberculosis Drugs Ofloxacin (OFL) on the Different Concentration)

Akbar Yuanda ¹⁾, Zaraswati Dwyana ²⁾, Nur Haedar ²⁾, Muh. Nasrum Massi ³⁾,

1. Tim Peneliti Mahasiswa Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin, Makassar, 90915
2. Dosen Pembimbing Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin, Makassar, 90915
3. Dosen Pembimbing Fakultas Kodekteran Universitas Hasanuddin, Makassar, 90915
Email: akbaraqilah@gmail.com

ABSTRACT

The research on Detection of *Mycobacterium tuberculosis* Resistance to Anti-tuberculosis Drugs Ofloxacin (OFL) on the Different Concentration has been done. This research aims to know the resistance of *Mycobacterium tuberculosis* anti-tuberculosis drugs ofloxacin (OFL) on the different concentration. The sample in this research is 15 isolates the bacteria *Mycobacterium tuberculosis* clinical strain, one isolates the bacteria *Mycobacterium tuberculosis* strain H37RV and one isolates the bacteria *Mycobacterium tuberculosis* ATCC 700457 as control. The sample is then rejuvenated by using medium Middlebrook 7H9 Broth. Characterization of *Mycobacterium tuberculosis* isolates include colony morphology and Ziehl-Neelsen staining. Resistance test conducted by plating the sample on Lowenstein Jensen medium containing ofloxacin with a concentration of 1 µg/ml, 2 µg/ml, 4 µg/ml and 8 µg/ml and without drug as GC (Growth Control). The results of the study showed that at a concentration of 1 µg/ml there are 11 samples (84,62%) resistant, and 2 samples (15,38) intermediates. The concentration of 2 µg/ml there are 7 samples (53,85%) resistant and 5 sample (38,46%) intermediates, and 1 samples (7,69) sensitive. The concentration of 4 µg/ml there are 2 samples (15,38%) resistant, 2 samples (15,38%) intermediates and 9 sample (69,24%) sensitive. Concentration of 8 µg/ml there are 1 samples (7,69%) resistant, 2 samples (15,38%) intermediates, and 10 sample (76,93%) sensitive.

Key words: Resistance, *Mycobacterium tuberculosis*, Anti-tuberculosis, Ofloxacin.

PENDAHULUAN

Tuberkulosis (TB) di negara-negara berkembang, termasuk di Indonesia merupakan salah satu masalah kesehatan yang utama. Meskipun sudah lebih dari 100 tahun penemuan mikroorganisme penyebab TB, tapi masih saja merupakan masalah kesehatan terbesar sekaligus menjadi penyebab kematian utama di dunia. Tuberkulosis adalah penyakit menular yang disebabkan oleh kuman TB *Mycobacterium tuberculosis*. Diperkirakan sepertiga penduduk dunia telah terinfeksi *Mycobacterium tuberculosis* dan sekitar 3 juta kematian terjadi disebabkan oleh penyakit ini. (Raviglione dkk., 1995; DepKes RI, 2002).

Hampir 10 tahun lamanya Indonesia menempati urutan ketiga sedunia dalam hal jumlah penderita tuberkulosis. Baru pada

tahun 2012 turun ke peringkat kelima dan masuk dalam *milestone* atau pencapaian kinerja 1 tahun Kementerian Kesehatan. Berdasarkan data Badan Kesehatan Dunia (WHO) pada tahun 2007 menyatakan jumlah penderita TB di Indonesia sekitar 528 ribu atau berada di posisi ketiga setelah India dan Cina. Laporan WHO pada tahun 2009 mencatat peringkat Indonesia menurun ke posisi kelima dengan jumlah penderita sebesar 429 ribu orang. Lima negara dengan jumlah penderita TB terbesar pada tahun 2009 adalah India, Cina, Afrika Selatan, Nigeria, dan Indonesia (WHO, 2010).

Lamanya pengobatan TB berkisar 6-8 bulan ini mengakibatkan pengobatan TB mengalami permasalahan terutama yang berkaitan dengan resistensi terhadap OAT diantaranya adalah Multi Drug Resistant

(MDR TB). Proporsi kejadian MDR TB di dunia berkisar antara 0 - 32,3% untuk pasien dengan TB baru dan 0 - 65% proporsi kejadian MDR TB pada pasien TB yang pernah mengalami pengobatan TB sebelumnya (Muayad, 2011).

Saat ini berbagai cara pengobatan TB telah dikembangkan khususnya dengan menggunakan obat-obatan yang mampu menghambat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis*. Obat-obat yang sering digunakan berupa obat generik seperti rifampicin, isoniazid dan ofloxacin (Moore, 2006). Untuk kasus MDR-TB dibutuhkan obat lain selain obat standard pengobatan TB yaitu obat *fluorokuinolon* seperti siprofloksasin, ofloxacin (OFL), dan levofloxacin. Tetapi obat-obat ini tidak dianjurkan pada anak dalam masa pertumbuhan (Wattimena, dkk., 1991).

Melihat data-data tersebut, masih perlu dikembangkan lagi penelitian-penelitian dari berbagai daerah di Indonesia serta perlu adanya *update* dan data mengenai resistensi ganda di Indonesia. Karena selama ini penelitian yang ada berpusat pada RS Persahabatan Jakarta sebagai rujukan nasional namun tidak menutup kemungkinan adanya variasi-variasi lain di daerah lain serta memperkaya dan memperbaharui data resistensi ganda di Indonesia (Soepandi, 2010).

Oleh karena obat antituberkulosis Ofloxacin (OFL) dapat mengobati infeksi TB dengan kuman yang bersifat MDR, maka telah dilakukan penelitian dengan menggunakan obat antituberkulosis ini dengan berbagai konsentrasi.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah tabung reaksi, ukur, gelas kimia, erlenmeyer, pipet skala, batang pengaduk, botol reagen, obyek glass, kawat ose, pinset, inkubator, oven, autoklaf, enkas, mikroskop, alkohol 96%, *Distillate Water* (DW), 15 sampel *Mycobacterium tuberculosis*, OADC, Ofloxacin, medium Lowenstein Jensen, medium Middlebrook 7H9 Broth, telur ayam kampung, methanol,

carbol-fuchsin 1%, methylen blue dan spiritus.

Peremajaan Bakteri *Mycobacterium tuberculosis*

Bakteri uji yang digunakan yaitu 15 sampel *Mycobacterium tuberculosis* strain klinis, *Mycobacterium tuberculosis* ATCC 700457 dan *Mycobacterium tuberculosis* strain H37RV masing-masing sebanyak 1 ml diinokulasikan ke dalam 4 ml medium Middlebrook 7H9 Broth. Kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 2 minggu.

Pembuatan Suspensi Bakteri *Mycobacterium tuberculosis*

Sebanyak 15 sampel bakteri *Mycobacterium tuberculosis* strain klinis, *Mycobacterium tuberculosis* strain ATCC 700457 dan *Mycobacterium tuberculosis* strain H37RV hasil peremajaan yang diinokulasikan pada medium Middlebrook 7H9 Broth selanjutnya disuspensikan dengan NaCl 0,9% steril dengan standar kekeruhan 0,5 McFarland yaitu 4 ml NaCl ditambahkan 1 ml bakteri uji.

Pembuatan Stock Obat Ofloxacin (OFL)

Sebanyak 0,12 gram ofloxacin ditambahkan ke dalam 0,1 N NaOH atau 0,4% NaOH sehingga terbentuk konsentrasi 10.000 µg/ml. Kemudian disterilkan dengan membran filter, selanjutnya masukkan masing-masing 1 ml ke dalam new tube. Stock obat dapat disimpan pada suhu 4 °C selama 4 minggu.

Pengujian Resistensi *Mycobacterium tuberculosis* terhadap Berbagai Konsentrasi Ofloxacin (OFL)

Sebanyak 15 sampel bakteri *Mycobacterium tuberculosis* masing-masing diambil 5 µl suspensi bakteri. Kemudian ditetaskan pada permukaan medium Lowenstein Jensen (LJ) yang telah berisi masing-masing ofloxacin dengan konsentrasi 1 µg/ml, 2 µg/ml, 4 µg/ml dan 8 µg/ml, kemudian dihomogenkan. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C selama 4 minggu.

Perlakuan yang sama juga diberikan untuk kontrol positif menggunakan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* strain ATCC 700457 dan *Mycobacterium tuberculosis*

strain susceptible H37RV. Pengamatan dilakukan satu kali setiap satu minggu selama satu bulan yaitu dengan mengamati pertumbuhan dan bentuk morfologi koloni bakteri yang tumbuh pada masing-masing tabung.

Indikator penilaian adalah bakteri yang resisten terhadap ofloxacin jika terdapat pertumbuhan pada media LJ tanpa pemberian obat dan media LJ yang mengandung obat. Sedangkan bakteri yang sensitif apabila terdapat pertumbuhan pada media LJ tanpa pemberian obat dan tidak terjadi pertumbuhan pada media LJ yang mengandung obat.

Pengamatan Morfologi

Pengamatan morfologi koloni dilakukan dengan melihat bentuk, tepi, elevasi dan warna *Mycobacterium tuberculosis* memiliki karakteristik khas tipe koloni kasar warna kekuningan, koloninya tidak memiliki pigmentasi. Pengamatan morfologi sel dilakukan dengan teknik pewarnaan Ziehl-Neelsen.

Pengecatan Ziehl-Neelsen

Letakkan sediaan di atas rak pewarna sebanyak 1 kali goresan, kemudian tuang larutan karbol fuchsin sampai menutupi seluruh sediaan. Panasi sediaan secara hati-hati diatas api selama 3 menit sampai keluar uap, tetapi jangan sampai mendidih. Biarkan selama 5 menit (dengan memakai pinset). Cuci dengan air mengalir, tuang HCL alkohol 3% (alkohol asam) sampai warna merah dari fuchsin hilang. Tunggu 2 menit. Cuci dengan air mengalir, tuangkan larutan Methylen Blue 0,1% tunggu 10-20 detik. Cuci dengan air mengalir, keringkan di rak pengering.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Peremajaan Sampel Uji *Mycobacterium tuberculosis* pada Medium Middlebrook 7H9 Broth

Peremajaan dilakukan untuk 15 sampel isolat bakteri *Mycobacterium tuberculosis* serta satu isolat bakteri *Mycobacterium tuberculosis* strain H37RV dan satu isolat bakteri *Mycobacterium tuberculosis* ATCC 700457 sebagai kontrol. Isolat tersebut merupakan koleksi yang

diambil dari Laboratorium NECHRI HUM-RC RS Wahidin Sudirohusodo Makassar. Kemudian isolat tersebut diremajakan dengan menggunakan medium Middlebrook 7H9 Broth.

Dalam Difco & BBL Manual (2012), media Middlebrook 7H9 Broth merupakan media spesifik yang digunakan dalam kultivasi *Mycobacterium sp.* Hasil pertumbuhan bakteri ditunjukkan dengan kekeruhan di lapisan bawah tabung, menengah atau seluruh tabung serta terbentuk endapan berwarna putih. Dari peremajaan bakteri yang dilakukan selama 3 minggu diperoleh kultur bakteri yang ditunjukkan dengan ciri tersebut. Sehingga didapatkan 17 kultur bakteri yang diberi kode C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C9, C10, C11, C12, C13, C14, C15, serta untuk isolat kontrol dikodekan dengan Mtb. H37RV dan Mtb. ATCC 700457.

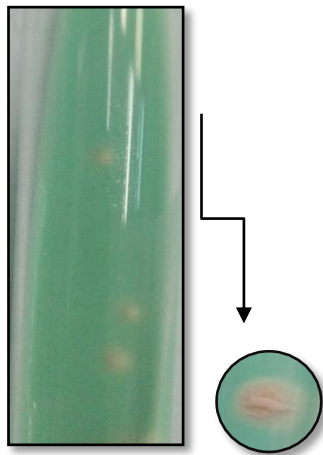
Setelah inkubasi semua kultur menunjukkan adanya pertumbuhan pada Middlebrook 7H9 Broth. Mtb. H37RV adalah isolat bakteri yang bersifat rentan digunakan sebagai strain kontrol dalam penelitian ini karena kemampuan untuk memanfaatkan obat lebih efisien dan digunakan secara universal. Sedangkan Mtb. ATCC 700457 adalah isolat yang bersifat resisten terhadap obat ofloxacin. Kedua isolat digunakan sebagai kontrol dalam penelitian ini.

Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* Secara Makroskopis

Seperti yang dikemukakan oleh Tasso, dkk., (2003) ciri pertumbuhan koloni *M. tuberculosis* bahwa morfologi koloni *M. tuberculosis* yang tumbuh berwarna kuning susu atau krem, bergerombol seperti bunga kol. Sehingga jika ditemukan pada permukaan media berarti kultur dianggap positif, dianggap negatif apabila tidak ada pertumbuhan bakteri sampai akhir pengamatan hingga empat minggu (Gambar 1).

Sampel yang tumbuh diketahui adalah *M. tuberculosis*. Selain itu juga dilakukan pengamatan mikroskopis dengan pengecatan Ziehl-Neelsen untuk

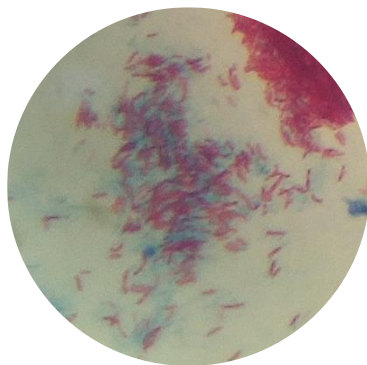
memastikan bahwa koloni yang tumbuh adalah *M. tuberculosis* bukan kontaminasi.



Gambar 1. Koloni *Mycobacterium tuberculosis* yang tumbuh pada media Lowenstein Jensen

Pengamatan Mikroskopis Isolat Bakteri *Mycobacterium tuberculosis*

Pengecatan ini dimaksudkan untuk memastikan koloni yang dihitung adalah *M. tuberculosis* bukan kontaminasi. Jika ada koloni bakteri yang dicurigai sebagai koloni bakteri kontaminasi maka dilakukan juga pengecatan untuk memastikan adanya kontaminan. Hasil pengecatan bakteri dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil Pengamatan Pengecatan Ziehl-Neelsen dengan Pembesaran 10 x 100

Berdasarkan hasil pengecatan Ziehl-Neelsen diperoleh hasil bahwa semua isolat yang dicat adalah berwarna merah dengan latar biru dan berbentuk batang lurus atau basil (Tabel 1). Jika dilihat dari ciri-cirinya dapat disimpulkan bahwa semua isolat yang tumbuh merupakan bakteri *Mycobacterium*

tuberculosis yaitu berwarna merah karena sifat tahan asam dari *M. tuberculosis*.

Tabel 1. Hasil Pengecatan Ziehl-Neelsen Isolat *Mycobacterium tuberculosis*

No.	Isolat	Karakteristik Pengecatan		
		Warna	Bentuk Sel	Hasil
1.	C1	Merah	Basil	Positif
2.	C2	Merah	Basil	Positif
3.	C3	Merah	Basil	Positif
4.	C4	Merah	Basil	Positif
5.	C5	Merah	Basil	Positif
6.	C6	Merah	Basil	Positif
7.	C7	Merah	Basil	Positif
8.	C8	Merah	Basil	Positif
9.	C9	Merah	Basil	Positif
10.	C10	Merah	Basil	Positif
11.	C11	Merah	Basil	Positif
12.	C12	Merah	Basil	Positif
13.	C13	Merah	Basil	Positif
14.	H37RV	Merah	Basil	Positif
15.	ATCC 400457	Merah	Basil	Positif

Keterangan :

Basil= Batang

Positif= Positif *Mycobacterium tuberculosis*

Uji Resistensi Obat Antituberkulosis Isoniazid (INH) terhadap Bakteri *Mycobacterium tuberculosis*

Untuk mengetahui resistensi obat antituberkulosis ofloxacin maka dilakukan uji resisten terhadap bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dengan menggunakan empat konsentrasi obat yang berbeda. Bakteri uji yang digunakan adalah 15 isolat *M. tuberculosis* strain klinis, *M. tuberculosis* strain ATCC 700457 (strain yang resisten OFL) dan *M. tuberculosis* strain H37RV (strain susceptible) yang merupakan koleksi laboratorium NECHRI HUM-RC RS Wahidin Sudirohusodo Makassar. Dalam pengujian digunakan empat tingkat konsentrasi yang didasarkan pada *Minimal Inhibitory Concentrations* (MIC). MIC dari ofloxacin yang sering digunakan yaitu berada dikonsentrasi 2 µg/ml sehingga untuk penelitian ini digunakan empat konsentrasi yaitu 1 µg/ml, 2 µg/ml, 4 µg/ml,

dan 8 µg/ml serta GC (*Growth Control*) atau sebagai kontrol pertumbuhan.

Tingkat resistensi diamati dari pertumbuhan isolat dengan interval waktu 7 hari (7, 14, 21, 28). Pemeriksaan ini sesuai dengan standar yang digunakan oleh WHO dalam Laboratory Service in Tuberculosis Control Part III: Culture (1998) dan digunakan pula pada laboratorium NECHRI HUM-RC RS Wahidin Sudirohusodo, Makassar.

Tabel 2. Pelaporan kuantitatif pertumbuhan bakteri

Pembacaan	Pelaporan
Tidak Tumbuh	Negatif
1-19 Koloni	Positif (Hitung Koloni)
20-100 Koloni	Positif (1+)
100-200 Koloni	Positif (2+)
200-500 Koloni	Positif (3+)
>500 Koloni	Positif (4+)
Kontaminan	Kontaminan

Tabel 3. Pertumbuhan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* pada media Lowenstein Jensen selama 4 minggu

Sampel	Minggu Pertama					Minggu Kedua					Minggu Ketiga					Minggu Keempat				
	GC	[1]	[2]	[4]	[8]	GC	[1]	[2]	[4]	[8]	GC	[1]	[2]	[4]	[8]	GC	[1]	[2]	[4]	[8]
C1	-	-	-	-	-	P	-	-	-	-	P1+	P	P	-	-	P1+	P	P	-	-
C2	P1+	P2+	-	-	-	P2+	P2+	-	-	-	P2+	P2+	P	-	-	P3+	P3+	P	-	-
C3	P	-	-	-	-	P1+	P	-	-	-	P2+	P1+	P	-	-	P2+	P1+	P	-	-
C4	-	-	-	-	-	P	-	-	-	-	P1+	P	-	-	-	P1+	P1+	P	-	-
C5	P	P	-	-	-	P1+	P1+	P	-	-	P2+	P2+	P1+	-	-	P2+	P2+	P1+	-	-
C6	-	-	-	-	-	P	-	-	-	-	P1+	P	-	-	-	P2+	P1+	P	-	-
C7	-	-	-	-	-	P	P	-	-	-	P1+	P1+	P	-	-	P2+	P2+	P1+	-	-
C8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P	P	-	-	-	P	P	P	-	-
C9	-	-	-	-	-	P	P	P	-	-	P1+	P1+	P1+	P	P	P2+	P2+	P2+	P	P
C10	P1+	P	P	-	-	P1+	P1+	P1+	P	-	P2+	P1+	P1+	P	P	P3+	P2+	P2+	P1+	P
C11	P1+	P1+	P	P	-	P2+	P1+	P1+	P	P	P2+	P2+	P1+	P1+	1+	P3+	P3+	P2+	P1+	P1+
C12	P	P	-	-	-	P1+	P	P	-	-	P1+	P1+	P1+	P	-	P2+	P1+	P1+	P	-
C13	P	-	-	-	-	P1+	P	-	-	-	P2+	P1+	P	-	-	P2+	P2+	P1+	-	-
C14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H37RV	P	-	-	-	-	P1+	-	-	-	-	P1+	-	-	-	-	P1+	-	-	-	-
ATCC	P	-	-	-	-	P1+	P	P	P	P	P1+	P1+	P	P	P	P2+	P2+	P	P	P

Keterangan :

I : Minggu Pertama

II : Minggu Kedua

III : Minggu Ketiga

IV : Minggu Keempat

GC : *Growth Control* (kontrol pertumbuhan)

[1]: Konsentrasi 1 µg/ml

[2]: Konsentrasi 2 µg/ml

[4]: Konsentrasi 4 µg/ml

[8]: Konsentrasi 8 µg/ml

- : Negatif

P : 1 – 19 Koloni

P1+ : 20 - 100 koloni

P2+ : 100 - 200 koloni

P3+ : 200 – 500 koloni

Berdasarkan hasil pengamatan koloni bakteri selama 4 minggu terlihat adanya data yang bervariasi setiap minggunya. Adanya koloni pada *Growth Control* (GC) menjadi dasar tumbuh atau tidaknya bakteri karena pada GC tidak ada obat yang diberikan sehingga aktivitas pertumbuhan bakteri tidak akan terhambat.

Dari data yang ada menunjukkan bahwa pada minggu pertama masih sedikit isolat yang tumbuh. Untuk GC ada 7 sampel yang sudah tumbuh pada minggu pertama, untuk konsentrasi 1 sudah 5 sampel yang ditumbuhi bakteri, dan untuk konsentrasi 2 hanya 2 sampel yang ditumbuhi bakteri. Sedangkan untuk konsentrasi 4 dan 8 belum sama sekali ada menunjukkan pertumbuhan bakteri. Jumlah koloni bakteri pada minggu pertama ini masih kebanyakan negatif (-), tetapi untuk yang sudah mengalami pertumbuhan jumlah koloninya masih berkisar pada P (1-19 koloni) dan P1+ (20-100 koloni), hal ini menunjukkan bahwa bakteri belum mengalami pertumbuhan optimal.

Sedangkan pada minggu kedua tersisa 3 sampel yang belum mengalami pertumbuhan pada *Growth Control*. Untuk konsentrasi 1 sudah 9 sampel yang ditumbuhi bakteri, dan untuk konsentrasi 2 yang ditumbuhi bakteri 5 sampel, sedangkan untuk konsentrasi 4 dan 8 masing-masing yang mampu ditumbuhi bakteri hanya 2 dan 1 sampel. Jumlah koloni bakteri pada minggu kedua ini sudah mengalami perubahan karena terjadi pertumbuhan pada bakteri tersebut. Untuk obat OFL konsentrasi 1 yang pada saat minggu pertama jumlah bakterinya negatif (-) sudah berubah menjadi P (1-19 koloni) pada minggu kedua. Seperti yang terjadi pada sampel C3, C7, C9 dan C13.

Pengamatan minggu ketiga untuk *Growth Control* masih tersisa 2 sampel yang belum ditumbuhi bakteri. Untuk obat OFL konsentrasi 1 juga tersisa 2 sampel yang belum ditumbuhi bakteri. Untuk obat OFL konsentrasi 2 sudah sebanyak 10 sampel yang sudah ditumbuhi bakteri. Dan

untuk obat OFL konsentrasi 4 dan 8, masing-masing 4 dan 3 sampel yang mampu ditumbuhi bakteri. Jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada minggu ketiga ini bertambah dari jumlah koloni pada minggu kedua. Hal ini dapat kita lihat pada obat OFL konsentrasi 1 pada minggu kedua, untuk sampel C3, C7, C9, C12 dan C13 masih berada pada jumlah P (1-19 koloni), sedangkan pada minggu ketiga masing-masing sampel tersebut sudah memiliki jumlah P1+ (20-100 koloni).

Untuk pengamatan minggu keempat menunjukkan bahwa sudah terjadi pertumbuhan bakteri yang optimal. Jumlah bakteri pada minggu ketiga untuk obat OFL konsentrasi 1 pada sampel C7, C9, C10 dan C13 masih berada pada jumlah P1+ (20-100 koloni), sedangkan pada minggu keempat sampel tersebut sudah memiliki jumlah P2+ (100-200 koloni). Sesuai dengan teorinya bahwa medium Lowenstein Jensen memerlukan waktu yang lama untuk mendeteksi pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* dalam bentuk koloni (*visible growth*), yaitu selama 3 – 8 minggu (WHO, 1998).

Terdapat dua sampel yaitu C14 dan C15 yang tidak menunjukkan pertumbuhan sama sekali hingga minggu ke empat. Demikian juga pada kontrol positifnya tidak mengalami pertumbuhan. Sehingga kemungkinan yang dapat terjadi adalah tidak ada sampel bakteri yang diberikan pada saat pengujian pada media LJ yang telah berisi konsentrasi obat, atau jumlah bakteri yang sedikit. Saat peremajaan bakteri sampel C14 dan C15 menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri namun faktor kesalahan pada saat pemberian bakteri pada media LJ mengakibatkan tidak terjadi pertumbuhan bakteri hingga minggu keempat. Sehingga sampel C14 dan C15 tidak lagi dimasukkan dalam perhitungan persentase resistensi bakteri pada semua konsentrasi obat. Jadi total sampel yang dihitung adalah 13 sampel.

Berdasarkan jumlah koloni yang tumbuh maka sifat resistensi dan

sensitifitas bakteri terhadap obat dapat ditentukan (Tabel 4) yang penentuan resistensinya mengacu pada Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Farmasi, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Departemen

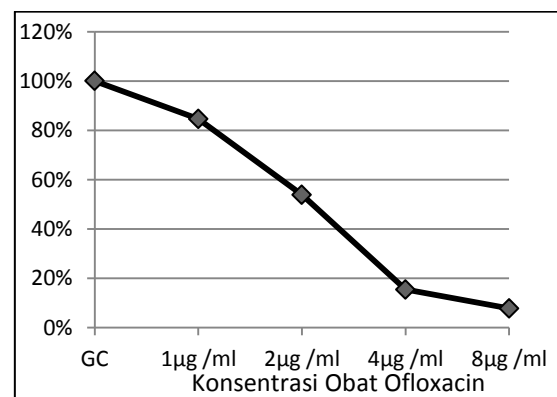
Kesehatan RI, Jakarta, Indonesia dalam Misnadiarly dan Yun (2010). Pengamatan pada minggu keempat digunakan untuk menentukan resistensi bakteri *Mycobacterium tuberculosis* karena telah terjadi pertumbuhan optimal pada bakteri.

Tabel 4. Hasil uji resisten obat Ofloxacin pada berbagai konsentrasi terhadap *Mycobacterium tuberculosis* setelah inkubasi selama 4 minggu

No	Sampel	Jumlah Koloni					Resistensi Obat Ofloxacin (µg/ml)				
		GC	[1]	[2]	[4]	[8]	GC	[1]	[2]	[4]	[8]
1.	C1	36	19	9	-	-	R	I	I	S	S
2.	C2	>100	>100	17	-	-	R	R	I	S	S
3.	C3	>100	45	19	-	-	R	R	I	S	S
4.	C4	87	31	16	-	-	R	R	I	S	S
5.	C5	>100	>100	36	-	-	R	R	R	S	S
6.	C6	>100	74	17	-	-	R	R	I	S	S
7.	C7	>100	>100	64	-	-	R	R	R	S	S
8.	C8	18	8	2	-	-	I	I	S	S	S
9.	C9	>100	>100	>100	18	8	R	R	R	I	I
10.	C10	>100	>100	>100	87	16	R	R	R	R	I
11.	C11	>100	>100	>100	59	46	R	R	R	R	R
12.	C12	>100	48	27	9	-	R	R	R	I	S
13.	C13	>100	>100	42	-	-	R	R	R	S	S
14.	C14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15.	C15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16.	H37RV	45	-	-	-	-	R	S	S	S	S
17.	ATCC	>100	>100	18	16	7	R	R	I	I	I

Keterangan= R : Resisten, S : Sensitif, I : Intermediet
 - koloni negatif : Sensitif
 1-5 koloni : Sensitif
 6-24 koloni : Intermediet
 25-100 koloni : Resisten
 >100 koloni : Sangat resisten

Berdasarkan hasil diatas diketahui bahwa pada konsentrasi 1 µg/ml terdapat 11 sampel (84,62%) resisten, 2 sampel (15,38%) intermediet dan tidak ada sampel yang sensitif. Untuk konsentrasi 2 µg / ml, terdapat 7 sampel (53,85%) resisten, 5 sampel (38,46%) intermediet dan 1 sampel (7,69%) sensitif. Pada konsentrasi 4 µg / ml terdapat 2 sampel (15,38%) resisten, 2 sampel (15,38%) intermediet, dan 9 sampel (69,24%) sensitif. Sedangkan untuk konsentrasi 8 µg / ml terdapat 1 sampel (7,69%) resisten, 2 sampel (15,38%) intermediet dan 10 sampel (76,93%) sensitif.



Gambar 3. Persentase Resistensi *Mycobacterium tuberculosis* pada Berbagai Tingkat Konsentrasi Ofloxacin (OFL)

Data yang diperoleh (Gambar 3) menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi obat yang digunakan maka semakin berkurang angka resistensi bakteri yang terjadi dan begitu pula sebaliknya. Dapat dikatakan bahwa konsentrasi obat dapat memengaruhi sensitifitas bakteri. Hal ini dijelaskan pada penelitian yang dilakukan oleh Steenwinkel dkk., (2010) menemukan bahwa pembunuhan dari mutan yang resisten terhadap obat antituberkulosis diperlukan konsentrasi obat yang sangat tinggi. Seperti yang diketahui bahwa sulit untuk mencapai konsentrasi obat yang tinggi ditempat yang terinfeksi sehingga penting untuk menghindari terjadinya resisten dengan cara mengoptimalkan konsentrasi obat yang dicapai untuk pengurangan maksimum beban *Mycobacteria*.

Perubahan jumlah populasi bakteri yang terjadi disebabkan oleh adanya paparan obat dan adanya satu atau dua bakteri yang mampu bertahan hidup dan mempunyai peluang untuk menciptakan satu galur baru yang resisten. Selama 4 minggu, perubahan jumlah populasi bakteri dipacu oleh penurunan pertumbuhan dari populasi bakteri yang masih rentan terhadap obat. Penghentian pembunuhan bakteri terjadi ketika populasi bakteri yang resisten terhadap obat berada pada fase pertumbuhan eksponensial dengan jumlah melebihi organisme yang rentan terhadap obat. Populasi bakteri rentan terus mati dan bakteri resisten terus memperbanyak diri. Oleh karena itu, dapat dikatakan bahwa penghentian pembunuhan untuk sebagian besar bakteri disebabkan oleh munculnya perlawanan terhadap obat ofloxacin.

Ofloxacin (OFL) adalah obat anti tuberkulosis lini kedua. Mekanisme kerja ofloxacin ialah menghambat enzim DNA topoisomerase (ATP-hydrolyzing), suatu DNA topoisomerase tipe II yang dikenal sebagai DNA gyrase. Diperkirakan, sasaran ofloxacin adalah sub unit A dari enzim tersebut. Hambatan DNA gyrase pada organisme yang sensitif yang

mengakibatkan hambatan proses pemilinan negatif DNA yang bergantung pada ATP, hambatan proses relaksasi pemilinan DNA yang tidak tergantung ATP dan promosi pemutusan rantai ganda DNA. Berbeda dengan quinolone lain, ofloxacin memiliki mekanisme kerja tambahan yang tidak tergantung pada RNA dan sintesis protein (Dexa Medica, 2010).

Keberhasilan pengobatan antibiotik dipengaruhi oleh berbagai faktor. Selain jenis antibiotik dan spektrum antimikroba, aspek farmakologis yaitu farmakokinetik dan farmakodinamik merupakan faktor yang sangat penting. Aspek farmakokinetik mencakup absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi obat. Sedangkan aspek farmakodinamik mencakup sifat bakteristatik/bakterisida, *time dependent concentration dependent* dan *post-antibiotic effect* (PAE) antibiotik (Amin, 2014).

Setelah diabsorpsi, obat akan berkaitan dengan albumin sebagai protein dominan dalam serum dan kemudian didistribusikan ke seluruh tubuh melalui sirkulasi darah. Persentase antibiotik yang terikat secara reversibel terhadap albumin serum digambarkan dengan istilah protein binding. Obat kemudian akan melepaskan diri dari ikatannya dengan albumin, dan menembus beberapa membran sel sesuai dengan gradien konsentrasi dan mencapai tempat infeksi lalu berikatan dengan protein jaringan (Amin, 2014).

Pada antibiotik golongan *concentration dependent* maka semakin tinggi kadar obat dalam darah maka semakin tinggi pula daya kerjanya sehingga kecepatan dan efektivitas kerjanya dapat ditingkatkan dengan menaikkan kadar obat dalam darah hingga jauh di atas MIC (Amin, 2014).

Menurut Zhao and Karl (2001) konsentrasi yang berlebih diperlukan untuk memblokir atau membatasi pertumbuhan *M. tuberculosis*. Ditunjukkan bahwa konsentrasi antibiotik yang memungkinkan tidak ada mutan tumbuh kembali sebagai konsentrasi pencegahan

mutant (*Mutant Prevention Concentration / MPC*). Untuk mencegah adanya mutan yang resisten, konsentrasi obat sebaiknya berada di atas MIC tetapi di bawah MPC nya.

Konsentrasi puncak yang lebih tinggi dapat memungkinkan tercapainya konsentrasi intraseluler yang lebih tinggi (Gumbo, dkk., 2007). Namun, tidak dapat dipungkiri bahwa kenaikan konsentrasi dapat menimbulkan efek samping seperti neuritis purifier, hepatitis dan hepatotoksitas idiosinkrasi yang merupakan efek samping ofloxacin yang paling berat.

Penelitian ini bisa menjadi referensi yang penting untuk meminimalkan efek racun/toksisitas ofloxacin sehingga resep sebagai obat TB untuk pasien dapat diandalkan dan aman, dalam hal ini tidak memiliki efek buruk bagi pasien. Hasil penelitian ini akan memungkinkan untuk studi masa depan yang berfokus pada mempertahankan konsentrasi efektif dari ofloxacin, sementara secara bersamaan meminimalkan toksisitas. Hasil penelitian ini akan membentuk sebuah langkah penting dalam penggunaan yang lebih luas dari obat TB khususnya ofloxacin sebagai obat lini kedua (*second line drugs*).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diketahui bahwa pada konsentrasi 1 µg/ml terdapat 11 sampel (84,62%) resisten, 2 sampel (15,38%) intermediet dan tidak ada sampel yang sensitif. Untuk konsentrasi 2 µg/ml, terdapat 7 sampel (53,85%) resisten, 5 sampel (38,46%) intermediet dan 1 sampel (7,69%) sensitif. Pada konsentrasi 4 µg/ml terdapat 2 sampel (15,38%) resisten, 2 sampel (15,38%) intermediet, dan 9 sampel (69,24%) sensitif. Sedangkan untuk konsentrasi 8 µg/ml terdapat 1 sampel (7,69%) resisten, 2 sampel (15,38%) intermediet dan 10 sampel (76,93%) sensitif.

Saran

Sebaiknya perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai adanya pengaruh mutasi yang terjadi pada sel bakteri yang telah resisten.

DAFTAR PUSTAKA

Amin, L.Z., 2014. *Pemilihan Antibiotik yang Rasional*. PPDS Ilmu Penyakit Dalam. Fakultas Kedokteran-UI. Jakarta. 27(3) : hal.40-45.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2002. *Pedoman Nasional Penanggulangan Tuberkulosis*. Jakarta

Dexa Medica, 2010. Ofloxacin. <http://www.dexa-medica.com/our-product/prescriptions/ogb/Ofloxacin>. diakses pada tanggal 20 April 2015, Palembang, Jakarta

Difco™ and BBL™ Manual, 2012. Middlebrook 7H9 Broth, 2nd Edition. (Online), (https://www.bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/Difco_BBL/212352.pdf). Diakses pada tanggal 11 November 2015.

Gumbo, T., A. Louie, M.R. Deziel, W. Liu, L.M. Parsons, M. Salfinger, and G.L. Drusano, 2007. *Concentration-Dependent Mycobacterium tuberculosis Killing and Prevention of Resistance*. *Antimicrobial Agent and Chemotherapy*. 51(11) : p.3781-3788.

Misnadiarly dan Y. Astuti, 2010. *Hambatan Pertumbuhan Koloni M.tuberculosis H37RV dan MDR-TB oleh Ekstrak Daun Hibiscus similis (Waru) di Laboratorium*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Farmasi, Badan Penelitian

- dan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, Indonesia.
- Moore D. A., dkk., 2006. *Microscopic-observation drug-susceptibility assay for the diagnosis of TB*. *N Engl J Med*; 355: 1539-1550
- Muayad A. Merza, 2011. *Anti-tuberculosis Drug Resistance and Associated Risk Factors in a Tertiary Level TB Centre in Iran: a retrospective analysis*, *J Infect Dev Ctries*; 5(7):511-519
- Raviglione, M. C., D. E. Snider Jr., dan A. Kochi, 1995. *Global Epidemiology of Tuberculosis; morbidity and mortality of a worldwide epidemic*. *JAMA* 273(3):220-226
- Singh, R., 2014. *Determination of Minimum Inhibitory Concentration of Cycloserine in Multidrug Resistant Mycobacterium tuberculosis Isolates*. *Jordan Journal of Biological Science*. 7(2) : p.139-145.
- Soepandi P. Z., 2010. *Diagnosis dan Faktor yang Mempengaruhi Terjadinya TB MDR*. [homepage on the internet]. Available from: <http://ppti.files.wordpress.com/2010/01>
- Steenwinkel, J.E.M, G. Knegt, M. Kate, A. Belkum, H. Verbrugh, K. Kremer, D. Soolingen. and I.A.J.M Bakker, 2010. *Time-Kill Kinetics of Anti-Tuberculosis Drugs, and Emergence of Resistance, in Relation to Metabolic Activity of Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*.
- Susi, 2008. *Pola Resistensi Mycobacterium tuberculosis pada Narapidana di Lembaga Perasyarakatan pada Narapidana di Lembaga Perasyarakatan Kelas 1 Pria Tanjung Gusta, Medan Periode Juli-Desember 2007*. Sekolah Pascasarjana. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Tasso MP.; Martins MC.; Mizuka SY; Saraiva CM.; Silva MA. (2003). *Cord formation and Colony morphology for the presumptive Identification of Mycobacterium tuberculosis complex*. *Brazilian Journal of Microbiology*. 34:171-174.
- Wattimena R. J., dkk., 1991. *Farmakodinami dan Terapi Antibiotik*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Bandung, penerbit Gadjah Mada University press, Yogyakarta, 1991, hal 136-177.
- World Health Organization (WHO), 1998. *Laboratory Service in Tuberculosis Control; Part III:culture*. p: 37-88.
- World Health Organization, 2010. *Indonesia TB Country Profile*. [Homepage on the internet]. Available from: http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241547833_eng.pdf
- Zhao, X. and D. Karl, 2001. *Restricting the Selection of Antibiotic-Resistant Mutant: A General Strategy Derived from Fluoroquinolone Studies*. *Public Health Research Institute, New York*. 23: p.147-156.