

Efek Pasca Antibiotik Ciprofloxacin terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922

SHIRLY KUMALA*, AMELIA

Fakultas Farmasi Universitas Pancasila
Jln. Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta Selatan, 12640.

Diterima 25 Mei 2009, Disetujui 23 Juli 2009

Abstract: Post antibiotic effect is the period required by bacteria to physiologically recover after exposure to antibiotics at certain concentrations and exposure time. This study investigated the post antibiotic effect of ciprofloxacin, one of quinolon derivative with broad spectrum antibiotic activity and highest sensitivity towards both Gram positive and Gram negative bacteria, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Escherichia coli* ATCC 25922. Lorian gel membrane filtration technique was used and bacteria were exposed to the antibiotic at a concentration of 10 times of the minimum inhibition concentration (MIC) for 2 hours. The findings demonstrated strongly that post-antibiotic effect of the two bacterial strain were different. The *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) had shorter recovery time within 2–3 hours when compared to the *Escherichia coli* (ATCC 25922) which recovered from the post-antibiotic effect within 3–4 hours.

Keywords: post antibiotic effect, ciprofloxacin, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

PENDAHULUAN

MASYARAKAT telah lama mengenal penggunaan antibiotik sebagai obat anti infeksi. Suatu antibiotik dianggap efektif menghambat bakteri tertentu bila antibiotik tersebut mampu menembus masuk dan berikatan dengan "binding site" bakteri di jaringan yang terinfeksi. Kadar antibiotik pada tempat yang terinfeksi harus cukup tinggi dan bertahan cukup lama untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Namun penggunaan antibiotik yang berlebihan dan kurang terkontrol mendorong terjadinya resistensi bakteri di masyarakat.

Dengan timbulnya resistensi bakteri pada antibiotik tertentu, dapat terjadi kegagalan dalam penanggulangan berbagai jenis penyakit infeksi. Untuk mengatasi masalah resistensi tersebut telah diupayakan berbagai macam strategi, di antaranya dengan menciptakan antibiotik baru. Namun cara ini ternyata belum dapat memecahkan masalah, karena setiap ditemukan antibiotik baru selalu saja diikuti oleh munculnya galur bakteri yang resisten. Karena itu diperlukan pengamatan yang cermat dan

berkesinambungan tentang perkembangan resistensi agar pengobatan terhadap penyakit infeksi dapat dilakukan secara rasional^(1,2).

Salah satu pengamatan penting adalah penentuan dosis penggunaan yang tepat. Teori baru dalam menentukan dosis yang tepat adalah EPA (efek pasca antibiotik). EPA menggambarkan penghentian perkembangan bakteri setelah terpaparnya bakteri secara singkat oleh antibiotik yang berlangsung selama waktu tertentu. Banyak faktor yang mempengaruhi EPA, baik yang terkait mikroorganisme, antibiotik maupun kondisi percobaan. Namun variabel yang paling penting adalah jenis mikroorganisme dan golongan antibiotik. Selain itu, ukuran inokulum, kadar antibiotik, jenis medium dan lamanya paparan antibiotik juga akan mempengaruhi EPA⁽³⁾.

Dalam penelitian ini diamati waktu EPA, yaitu waktu yang diperlukan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922 dalam media *Mueller Hinton Broth* untuk pulih kembali setelah terpapar antibiotik ciprofloxacin (ciprofloxacin) dengan konsentrasi 10 x KHM (konsentrasi hambat minimum) selama 2 jam. Dengan mengetahui waktu EPA

* Penulis korespondensi, Hp. 08129026821
e-mail: fskumala@yahoo.com

diharapkan dapat diperoleh gambaran tentang interval waktu pemberian antibiotik yang tepat dan pemberian dosis yang optimal dari suatu antimikroba, sehingga mampu dicegah terjadinya resistensi pada masyarakat.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Antibiotik ciprofloxacin (diperoleh dari PT Metiska Farma), *Staphylococcus aureus* turunan dari ATCC 25923, *Escherichia coli* turunan dari ATCC 25922, Mueller Hinton Broth, Mueller Hinton Agar, larutan natrium klorida 0,85% dingin (suhu 8–15°C), membran filter steril diameter pori 0,2 µm dan air suling steril.

METODE. Pengenceran biakan mikroorganisme uji 10^7 CFU/ml dipaparkan dengan antibiotik ciprofloxacin dengan konsentrasi 10 x KHM selama 2 jam, kemudian diukur selisih waktu yang dibutuhkan oleh mikroorganisme uji yang terpapar antibiotik dan bakteri kontrol untuk meningkatkan kepadatannya 10^1 yang dapat dihitung segera setelah paparan terhadap antibiotik dihilangkan.

Penetapan EPA (menggunakan teknik membran agar Lorian). Medium agar lempeng (*Mueller Hinton Agar*) yang mengandung antibiotik ciprofloxacin dibuat dengan konsentrasi 10 x KHM, lalu diinkubasi pada suhu 37°C. Kemudian disiapkan inokulum mikroba uji $\sim 10^7$ – 10^8 CFU/ml. Disiapkan pula filter membran steril (diameter pori 0,2 µm) yang diletakkan dalam medium agar lempeng yang tidak mengandung antibiotik dan diamkan pada suhu ruangan selama 5–10 menit untuk membasahi membran. Setelah dilakukan pengenceran, bakteri dengan kepadatan 10^7 CFU/ml 100 µl ditempatkan pada membran dan disebar dengan batang kaca bentuk L. Membran yang telah diinokulasi tersebut diletakkan di atas medium agar lempeng, lalu diinkubasi pada 37°C selama 3 jam untuk memperoleh pertumbuhan logaritmik. Setelah itu, membran dipindahkan dengan pinset ke medium yang mengandung antibiotik dan diinkubasi pada suhu 37°C. Setelah inkubasi selama 2 jam, membran ditransfer ke medium yang tidak mengandung antibiotik dan didiamkan selama 10 menit agar obat berdifusi dari membran ke agar lempeng. Prosedur ini diulangi sekali lagi.

Setelah proses “pencucian” ini selesai, membran diletakkan pada agar lempeng yang tidak mengandung antibiotik, diinkubasi pada suhu 37°C. Membran diambil sebagai sampel setiap 1 jam. Pada setiap pengambilan sampel membran diletakkan dalam tabung reaksi yang mengandung 10 ml larutan 0,85% NaCl dingin (8–15°C), kemudian divortex sampai membran bersih dari mikroorganisme. Sebanyak 10 µl larutan 0,85% NaCl ini kemudian dipipet,

dimasukkan ke dalam cawan Petri, ditambahkan 15–20 ml *Mueller Hinton Agar* dengan suhu $\pm 45^\circ\text{C}$, dihomogenkan, dan dibiarkan memadat (metode *pour-plate*). Setelah itu dilakukan inkubasi pada suhu 37°C (dalam keadaan terbalik) selama 18–48 jam dan dihitung jumlah koloninya.

Perhitungan EPA dilakukan dengan menggunakan rumus:

$$\text{EPA} = T - C$$

T = waktu yang dibutuhkan oleh bakteri yang terpapar antibiotik untuk bertambah kepadatannya 10^1 segera setelah paparan terhadap antibiotik dihilangkan; C = waktu yang dibutuhkan oleh bakteri kontrol (blanko) yang tidak terpapar dengan antibiotik untuk bertambah kepadatannya 10^1 segera setelah selesai dilakukan prosedur yang sama dengan percobaan yang dilakukan terhadap bakteri yang terpapar dengan antibiotik.

Terhadap membran dengan organisme kontrol dilakukan prosedur yang sama, kecuali prosedur No. 5 di mana membran ditransfer ke medium yang mengandung antibiotik. Percobaan dilakukan sebanyak dua kali, masing masing untuk menentukan EPA dari *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922⁽³⁾.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penetapan efek pasca-antibiotik (EPA). Berdasarkan penelitian efek pasca-antibiotik dari antibiotik ciprofloxacin terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan dosis antibiotik sebesar 10 x KHM dan lama paparan selama 2 jam, diperoleh jumlah koloni yang tampak pertumbuhannya pada membran

Tabel 1. Jumlah koloni blanko *Escherichia coli* ATCC 25922 pada jam ke-0 sampai dengan jam ke-6.

Jam ke-	Jumlah koloni (CFU/ml)
0	189
1	2048
2	3096
3	~
4	~
5	~
6	~

setiap jam waktu pengambilan sampel seperti yang disajikan pada Tabel 1. Pada blanko *Escherichia coli* ATCC 25922, terlihat pertumbuhan bakteri pada jam ke-0 sampai jam ke-6, namun pertumbuhan bakteri pada jam ke-3 sampai dengan jam ke-6 sangat banyak sehingga tidak dapat dihitung (~).

Pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 yang terpapar antibiotik, tidak terlihat pertumbuhan bakteri pada jam ke-1 sampai jam ke-3. Hal ini dikarenakan pertumbuhan bakteri dihambat oleh paparan antibiotik ciprofloxacin. Pada jam ke-4, mulai terlihat pertumbuhan bakteri (Tabel 2).

Tabel 2. Jumlah koloni *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan paparan antibiotik ciprofloxacin pada jam ke-0 sampai dengan jam ke-6.

Jam ke-	Jumlah koloni (CFU/ml)
1	0
2	0
3	0
4	47
5	888
6	2656

Pada blanko *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, terlihat pertumbuhan bakteri pada jam ke-0 sampai jam ke-1. Pertumbuhan bakteri pada jam ke-2 sampai dengan jam ke-6 sangat banyak sehingga tidak dapat dihitung (~) (Tabel 3).

Pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang terpapar antibiotik, tidak terlihat

Tabel 3. Jumlah koloni blanko *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada jam ke-0 sampai dengan jam ke-6.

Jam ke-	Jumlah koloni (CFU/ml)
0	241
1	2838
2	~
3	~
4	~
5	~
6	~

pertumbuhan bakteri pada jam ke-1. Hal ini dikarenakan pertumbuhan bakteri dihambat oleh paparan antibiotik ciprofloxacin. Pertumbuhan bakteri baru mulai terlihat pada jam ke-2, dan pada jam ke-5 sampai dengan jam ke-6 pertumbuhan bakteri tersebut sangat banyak sehingga tidak dapat dihitung (~) (Tabel 4).

Tabel 4. Jumlah koloni *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan paparan antibiotik ciprofloxacin pada jam ke-0 sampai dengan jam ke-6.

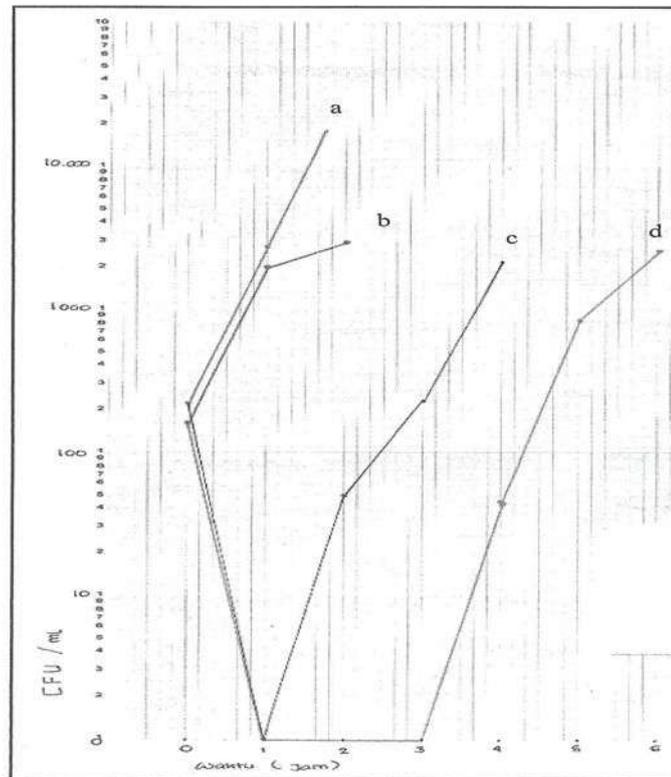
Jam ke-	Jumlah koloni (CFU/ml)
1	0
2	51
3	227
4	2344
5	~
6	~

Berdasarkan jumlah koloni (CFU/ml) dan waktu (jam) pada Tabel 1–4, dibuat kurva semilogaritmik untuk melihat peningkatan pertumbuhan bakteri sebanyak $^1\log_{10}$. Kurva pertumbuhan disajikan pada Gambar 1.

Kurva di atas menunjukkan bahwa waktu EPA *Escherichia coli* ATCC 25922 adalah 3–4 jam dan waktu EPA *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah 2–3 jam. Waktu EPA *Escherichia coli* ATCC 25922 tersebut sedikit lebih panjang daripada waktu EPA *Staphylococcus aureus* ATCC 25922.

Pada tahap awal percobaan dilakukan uji penentuan KHM (konsentrasi hambat minimum) dari ciprofloxacin terhadap bakteri uji, karena setiap bakteri memiliki kepekaan yang berbeda terhadap ciprofloxacin⁽⁴⁾. Nilai KHM yang diperoleh ini digunakan dalam menentukan EPA (efek pasca antibiotik), karena dalam menentukan EPA bakteri uji dipaparkan dengan antibiotik ciprofloxacin dengan dosis 10 x KHM dengan lama paparan selama 2 jam. Dipilih dosis 10 x KHM karena pada penelitian awal yang menggunakan dosis 5 x KHM perhitungan CFU/ml sangat besar sehingga menyulitkan perhitungan EPA. Hal ini disebabkan karena efek pembunuhan bakteri oleh antibiotik ciprofloxacin sangat tergantung pada konsentrasi antibiotik tersebut⁽⁵⁾.

Setelah pengamatan, dilakukan hitung jumlah koloni bakteri, kemudian dibuat grafik semilogaritmik



Gambar 1. Kurva hubungan jumlah koloni (CFU/ml) dan waktu (jam).

Keterangan:

- a: blangko *Staphylococcus aureus*
- b: blangko *Escherichia coli*
- c: sampel *Staphylococcus aureus*
- d: sampel *Escherichia coli*

untuk melihat peningkatan jumlah bakteri sebanyak 10^1 (10 kali lipat), yang kemudian digunakan untuk menghitung EPA dengan menggunakan rumus $EPA = T - C$. Setelah peningkatan jumlah bakteri sebanyak 10^1 , pertumbuhan bakteri masih terus meningkat namun tidak diamati lagi karena dalam menentukan EPA pengamatan hanya dilakukan sampai terjadi peningkatan jumlah bakteri sebanyak 10^1 (10 kali lipat)⁽³⁾.

Dari hasil pengamatan, sekali lagi, diperoleh hasil bahwa waktu EPA ciprofloxacin terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 adalah 3–4 jam dan waktu EPA ciprofloxacin terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah 2–3 jam. Waktu EPA ciprofloxacin terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 yang lebih lama dibanding terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menunjukkan bahwa antibiotik

ini lebih aktif terhadap bakteri Gram negatif dibandingkan dengan bakteri Gram positif⁽⁶⁾. Ciprofloxacin bekerja dengan menghambat enzim DNA-girase, dan aktivitas enzimatik dari suatu bakteri ditentukan oleh jumlah lipid dan lipoprotein yang dikandung oleh bakteri tersebut. Bakteri Gram negatif memiliki komposisi lipid 11–22%, sementara bakteri Gram positif hanya memiliki komposisi lipid 1–4%, sehingga ciprofloxacin lebih efektif dalam membunuh bakteri Gram negatif^(7,8).

Pada percobaan yang dilakukan oleh Craig⁽³⁾, diperoleh hasil bahwa waktu EPA *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan konsentrasi ciprofloxacin 4–5 x KHM dan lama paparan selama 2 jam adalah 2,1 jam dan waktu EPA *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P dengan konsentrasi ciprofloxacin 4–5 x KHM dan lama paparan selama 1 jam adalah 2,0 jam.

Hasil percobaan yang berbeda disebabkan karena teknik percobaan yang berbeda; Craig⁽³⁾ menggunakan teknik pengenceran bakteri, sementara pada percobaan ini digunakan teknik membran agar Lorian. Konsentrasi antibiotik yang digunakan juga berbeda, Craig menggunakan ciprofloxacin 4–5 x KHM dan pada percobaan ini digunakan ciprofloxacin 10 x KHM.

Dari hasil percobaan yang berbeda ini dapat diperoleh gambaran bahwa efek pembunuhan bakteri oleh antibiotik ciprofloxacin tergantung pada konsentrasi dari antibiotik tersebut. Pemberian dosis besar akan memberikan efek terapi serupa atau sedikit lebih besar bila dibandingkan dengan pemberian dosis kecil yang berulang. Bila pada penelitian ini digunakan dosis ciprofloxacin yang sama seperti yang dilakukan oleh Craig kemungkinan akan diperoleh waktu EPA yang serupa.

Parameter farmakodinamik, seperti kecepatan dan jumlah bakteri yang dibunuh, dapat memberikan gambaran yang lebih akurat terhadap lamanya aktivitas suatu antibiotik pada KHM, menjadi dasar yang lebih rasional dalam penentuan dosis yang optimum, dan memperpanjang jarak waktu pemberian obat dalam pengobatan⁽⁵⁾. Parameter farmakokinetik (seperti waktu paruh, bioavailabilitas, konsentrasi maksimal di dalam darah, volume distribusi, serta eliminasi renal) juga berperan-serta dalam penentuan interval dosis dari antibiotik. Antibiotik harus dapat berada di dalam tubuh untuk waktu yang cukup lama serta dengan konsentrasi yang cukup tinggi dan stabil untuk dapat menghambat pertumbuhan bakteri^(1,9).

Untuk ciprofloxacin, saat ini interval waktu penggunaan yang diberikan adalah 12 jam (pemakaian 2 x sehari). Untuk antibiotik ini diduga waktu EPA (yang jauh lebih pendek) tidak berpengaruh terhadap penentuan interval dosis. Waktu paruh ciprofloxacin yang cukup lama (3–5 jam) dan kemampuannya untuk berada di dalam urin selama minimal 12 jam dengan konsentrasi melampaui KHM menjadi keunggulan antibiotik ini untuk mengatasi infeksi pada saluran kemih yang disebabkan oleh berbagai jenis bakteri Gram negatif dan *Pseudomonas aeruginosa*^(1,6).

Untuk penerapan EPA, perlu dilakukan uji secara *in vivo*, karena secara *in vivo* antibiotik akan mengalami proses absorpsi, distribusi, metabolisme,

dan eliminasi (ADME). Diduga waktu EPA pada uji secara *in vivo* lebih pendek dibandingkan waktu EPA pada uji secara *in vitro*^(3,5).

SIMPULAN

Waktu efek pasca antibiotik ciprofloxacin terhadap *Escherichia coli* ATCC 25923 adalah 3–4 jam dan waktu efek pasca-antibiotik ciprofloxacin terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah 2–3 jam. Waktu efek pasca antibiotik ciprofloxacin terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 lebih lama dari pada waktu efek pasca antibiotik ciprofloxacin terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, karena ciprofloxacin lebih aktif terhadap bakteri Gram negatif.

DAFTAR PUSTAKA

1. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Farmakologi dan terapi. Edisi IV. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 1995. hal. 571–2, 621–30, 682–5.
2. Zhanel GG, Cramton J, Kim S, Nicole LE, Davidson R.J, and Hoban DJ. Antimicrobial activity of sub inhibitory concentrations of ciprofloxacin against *Pseudomonas aeruginosa* as determined by killing curve method and the post antibiotic effect. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1992;38:388–94.
3. Craig WA, Gudmundsson S. Post antibiotic effect. In V.Lorian 4th edition. *Antibiotic in laboratory medicine*. Baltimore: William and Wilkins; 1996. p. 296–325.
4. Amsterdam D. Susceptibility testing of antimicrobial in liquid media. In V.Lorian 4th edition. *Antibiotic in laboratory medicine*. Baltimore: William and Wilkins; 1996. p. 52–106.
5. Kumala S. Efek pasca antibiotik. Makalah. Jakarta: Fakultas Farmasi Universitas Pancasila; 1994. hal. 1–10.
6. AHFS, Drug Information. 2003. p. 762–80.
7. Jawetz, Melnick, Adelberg. *Mikrobiologi kedokteran*. Edisi 20. Jakarta: EGC Penerbit Buku Kedokteran; 1995. hal. 15–34, 48–51.
8. Jawetz E. *Mikrobiologi untuk profesi kesehatan*. Edisi XVI. Diterjemahkan oleh Bonang G. Jakarta: EGC Penerbit buku kedokteran; 1986. hal. 60–3, 239–41, 45–48.
9. <http://ciprofloxacin.werhost.com>. Diakses tanggal 20 April 2007.