

Pengaruh pemberian rifampisin pada peningkatan kepekaan *Staphylococcus aureus* terhadap tetrasiklin

Hera Nirwati, Praseno
Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran
Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

ABSTRACT

Hera Nirwati and Praseno - *An increased susceptibility of Staphylococcus aureus to tetracyclin during exposure to rifampicin*

Bacterial resistance to antibiotics has been an important problem worldwide. Discoveries and clinical use of new antibiotics have always been followed by emergence of strains of bacterial resistant to the antibiotics in question within relatively short period of time. Various efforts have been attempted to overcome the problem, one of which being the use of two or more different antibiotics in combination. In this study the effect of rifampicin on alternation of susceptibility of *S. aureus* to tetracycline was evaluated. Sixty seven isolates of tetracycline resistant *S. aureus* determined by standard disk diffusion method of Kirby-Bauer were collected during the period from August 1997 to January 1998. Minimal Inhibitory Concentration (MIC = KHM) values of rifampicin for this isolates were determined by broth dilution method. MIC of tetracycline for each isolate was determined while the bacteria were exposed to rifampicin at sub MIC. At the same time determination of the MIC was also performed without exposing the bacteria to rifampicin and this procedure served as control. Results showed that 91% (61 of 67) rifampicin - exposed isolates have increase susceptibility to tetracycline as reflected by the decrease of MIC values. It is concluded that there is synergistic effects of tetracycline and rifampicin on *S. aureus*. The number of isolate with increased susceptibility to tetracycline during exposure to rifampicin was statistically significant ($p < 0.05$).

Key Words : rifampicin - *Staphylococcus aureus* - susceptibility - tetracycline

ABSTRAK

Hera Nirwati dan Praseno - *Pengaruh pemberian rifampisin pada peningkatan kepekaan Staphylococcus aureus terhadap tetrasiklin*

Resistensi bakteri terhadap antibiotika merupakan masalah besar di dunia. Berbagai penemuan antibiotika baru selalu diikuti timbulnya strain-strain bakteri yang resisten dalam waktu yang relatif singkat. Berbagai upaya telah dilakukan untuk mengurangi resistensi, salah satu di antaranya adalah penggunaan kombinasi antibiotik. Pada penelitian ini telah dilakukan pengujian pengaruh pemberian rifampisin pada peningkatan kepekaan *S. aureus* terhadap tetrasiklin. Sejak Agustus 1997 sampai Januari 1998 di Laboratorium Mikrobiologi FK UGM, berhasil diisolasi 67 isolat *S. aureus* yang resisten tetrasiklin dengan menggunakan metode cakram Kirby-Bauer. Masing-masing isolat dicari Kadar Hambat Minimum (KHM = MIC) terhadap rifampisin dengan metode dilusi cair. KHM terhadap tetrasiklin masing-masing isolat dicari setelah pemaparan rifampisin sub KHM. Pada waktu yang bersamaan nilai KHM tetrasiklin tanpa pemberian rifampisin juga dicari dan digunakan sebagai kontrol. Dari 67 isolat yang diperiksa, 61 (91%) isolat di antaranya menunjukkan peningkatan kepekaan terhadap tetrasiklin yang ditandai dengan penurunan nilai KHM. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat efek sinergistik tetrasiklin dan rifampisin. Jumlah isolat yang menunjukkan peningkatan kepekaan terhadap tetrasiklin setelah pemaparan rifampisin sub KHM bermakna secara statistik ($p < 0,05$)

(B.I.Ked. Vol. 30, No.3:129-133, September 1998)

PENGANTAR

Resistensi bakteri terhadap antibiotika masih merupakan masalah besar di dunia. Berbagai

penemuan antibiotika baru, selalu diikuti oleh timbulnya strain-strain bakteri yang resisten dalam waktu yang relatif singkat. Pada tahun 1990, di Laboratorium Mikrobiologi FK UGM didapatkan resistensi *S. aureus* terhadap tetrasiklin sebesar 71,2% dan meningkat menjadi 83,3% pada tahun 1991¹. Tahun berikutnya resistensi *S. aureus* terhadap tetrasiklin telah meningkat menjadi 86,8%².

Berbagai upaya telah dilakukan untuk mengatasi resistensi antibiotika. Selain upaya penemuan antibiotika baru, juga dilakukan upaya penggunaan kombinasi antibiotika. Hal ini dilakukan karena penemuan antibiotika baru membutuhkan waktu dan biaya yang sangat besar.

Tetrasiklin merupakan antibiotika spektrum luas yang menyerang bakteri Gram positif dan negatif termasuk stafilocokus, enterokokus dan anaerob³. Resistensi tetrasiklin pada isolat klinis dihubungkan dengan penurunan kemampuan mengakumulasi antibiotik di dalam sel. Sifat ini diperantarai oleh plasmid dan dapat diinduksi. Plasmid resistensi mengandung informasi genetik untuk sejumlah protein yang tampaknya menyebabkan penurunan pemasukan obat ke dalam sel atau menjaga transpor aktif yang menyebabkan obat ke luar dari sel⁴.

Rifampisin merupakan turunan semisintetis rifamisin-B, yaitu sebuah makrosiklik yang diproduksi oleh *Streptomyces mediterranei*. Antibiotika ini mulai diperkenalkan dan digunakan pada tahun 1968. Rifampisin memberikan efek bakterisidal dengan cara menghambat sintesis RNA. Obat ini menghambat *DNA-dependent RNA polymerase* pada awal pembentukan rantai (inisiasi)⁵.

Praseno⁶ telah melakukan penelitian pengaruh pemberian rifampisin terhadap ampisilin dan mendapatkan bahwa pemberian rifampisin sub Kadar Hambat Minimum menyebabkan peningkatan kepekaan *S. aureus* terhadap ampisilin.

Resistensi terhadap tetrasiklin terjadi akibat kemampuan bakteri mengubah permeabilitasnya terhadap obat, sehingga penimbunan obat ke dalam tubuh bakteri terbatas. Kemampuan ini dikendalikan oleh suatu enzim. Rifampisin bekerja menyerang bakteri dengan menghalangi pertumbuhan bakteri melalui penghambatan sintesis RNA bakteri, sehingga pembentukan enzim-enzim dalam bakteri terganggu. Dengan demikian

diperkirakan rifampisin mempunyai efek sinergistik dengan tetrasiklin.

Tingkat resistensi terhadap tetrasiklin yang tinggi seperti tersebut di atas mengakibatkan penggunaan antibiotika tersebut menjadi tidak lagi efektif. Akibatnya terjadi kegagalan di dalam pengobatan infeksi dengan tetrasiklin. Hal ini tentu saja akan menimbulkan masalah dalam bidang pengobatan, karena tetrasiklin masih banyak digunakan. Bahkan di puskesmas, tetrasiklin merupakan salah satu antibiotika utama yang banyak digunakan.

Berdasarkan perkiraan adanya efek sinergistik rifampisin dengan tetrasiklin, maka perlu dilakukan penelitian untuk membuktikan adanya efek tersebut. Dengan diketahuinya efek sinergistik rifampisin dan tetrasiklin maka dimungkinkan sebagai salah satu alternatif mengatasi resistensi tetrasiklin. Kedua antibiotika tersebut dapat diberikan secara kombinasi, sehingga *S. aureus* yang semula resisten terhadap tetrasiklin akan menjadi sensitif lagi. Hal ini berarti suatu penghematan besar, karena kita dapat memanfaatkan antibiotika yang sudah ada, mudah didapat dan tidak perlu mencari antibiotika baru yang jelas membutuhkan waktu dan biaya yang sangat besar.

BAHAN DAN CARA

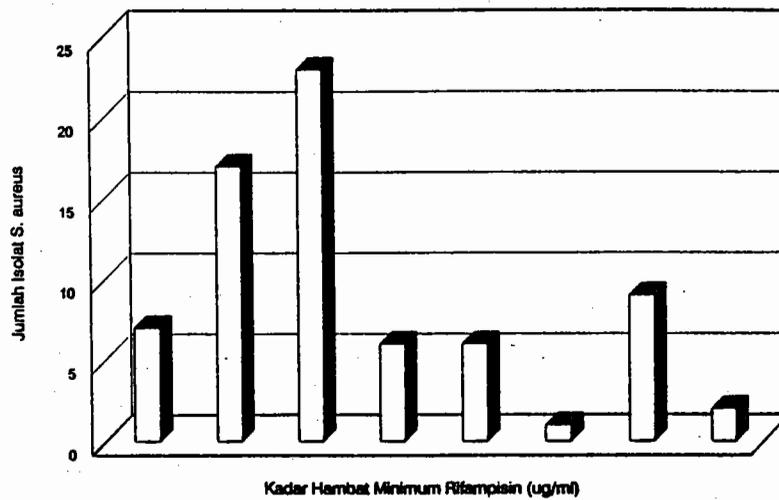
Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi FK UGM dengan menggunakan isolat-isolat *S. aureus* yang berasal dari material klinik yang dikirim ke Laboratorium Mikrobiologi FK-UGM sejak Agustus 1997 - Januari 1998. Masing-masing isolat diuji kepekaannya terhadap tetrasiklin dengan cara difusi cakram menurut Kirby - Bauer. Isolat yang resisten tetrasiklin digunakan sebagai subyek penelitian. Masing-masing subyek penelitian kemudian dihitung Kadar Hambat Minimum (KHM) rifampisin dengan menggunakan metode dilusi cair yang standar. Karena batas KHM yang sensitif terhadap rifampisin adalah 1 ug/ml, maka isolat-isolat yang menghasilkan KHM lebih dari 1 ug/ml dikeluarkan dari penelitian. KHM tetrasiklin dengan dan tanpa penambahan rifampisin sub KHM (setara dengan 0,5 dosis KHM rifampisin) dihitung untuk masing-masing isolat. Sebagai kontrol disertakan rifampisin sub KHM

tanpa penambahan tetrasiklin. Hasil pengukuran KHM dibandingkan dan dianalisis dengan *Chi-Square Test*.

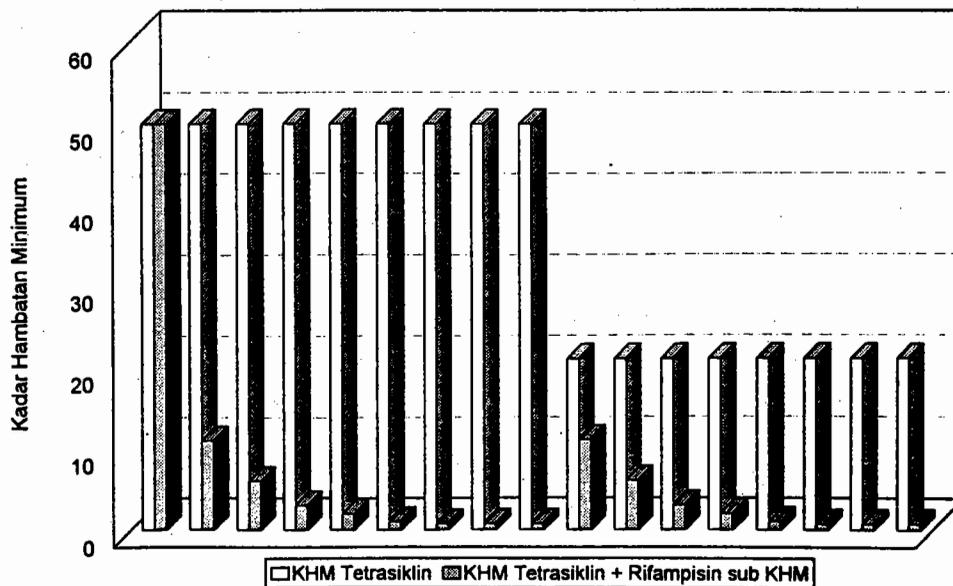
HASIL DAN PEMBAHASAN

Selama bulan Agustus 1997 sampai dengan Januari 1998 berhasil diisolasi 69 isolat *S. aureus* yang resisten terhadap tetrasiklin. Masing-masing isolat dihitung KHM terhadap rifampisin dengan cara dilusi cair. Hasil pengukuran KHM-nya terlihat pada GAMBAR 1.

Sebanyak 23 (33,3%) isolat menghasilkan KHM 0,0156 ug/ml, 17 (24,7%) menghasilkan KHM 0,0078 ug/ml, 9 (13,1%) menghasilkan KHM 0,312 ug/ml, 7 (10,1%) menghasilkan KHM 0,0039 ug/ml, 5 (7,2%) menghasilkan KHM 0,0625, 5 (7,2%) menghasilkan KHM 0,125 ug/ml, 2 (2,9%) menghasilkan KHM > 2 ug/ml dan <1 (1,4%) isolat menghasilkan KHM 0,25 ug/ml. Isolat *S. aureus* dinyatakan sensitif terhadap rifampisin bila diperoleh kadar hambat minimum 1 ug/ml⁷. Ternyata dari seluruh isolat didapatkan 2 (2,9%) isolat yang resisten terhadap



GAMBAR 1. - Kadar Hambat Minimum Rifampisin terhadap isolat *S. aureus*



GAMBAR 2. - Perbandingan KHM Tetrasiklin dengan dan tanpa pemaparan rifampisin sub KHM terhadap isolat *S. aureus* yang resisten tetrasiklin

rifampisin (KHM > 2). Kedua isolat ini kemudian dikeluarkan dari subyek penelitian.

Isolat *S. aureus* dinyatakan resisten terhadap tetrasiklin jika KHM > 16 ug/ml⁷. Pada penelitian ini KHM semua isolat lebih besar atau sama dengan 25 ug/ml. Hal ini menunjukkan bahwa seluruh isolat resisten terhadap tetrasiklin. Seluruh subyek kemudian diberi paparan dengan rifampisin sub KHM. Hasil perbandingan KHM tetrasiklin dengan maupun tanpa pemaparan rifampisin dapat dilihat pada GAMBAR 2.

Sebanyak 15 (22,4%) isolat mengalami penurunan KHM dari 50 ug/ml menjadi 6,25 ug/ml setelah pemberian rifampisin sub KHM. Berturut-turut 10 (15%) isolat berubah dari 50 ug/ml menjadi 12,5 ug/ml, 5 (7,5%) dari 50 ug/ml menjadi 1,5625 ug/ml, 4 (6%) dari 50 ug/ml menjadi 0,1953 ug/ml, 4 (4,5%) dari 50 ug/ml menjadi 0,0976 ug/ml, 2 (3%) dari 50 ug/ml menjadi 0,7812 ug/ml, 1 (1,5%) dari 50 ug/ml menjadi 3,125 ug/ml dan 1 (1,5%) isolat mengalami perubahan KHM dari 50 ug/ml menjadi 0,0976 ug/ml setelah penambahan rifampisin sub KHM. Sebanyak 6 (9%) isolat mengalami penurunan KHM dari 25 ug/ml menjadi 6,25 ug/ml setelah pemberian rifampisin sub KHM. Berturut-turut 4 (6%) isolat berubah dari 25 ug/ml menjadi 3,125 ug/ml, 2 (3%) dari 25 ug/ml menjadi 1,5625 ug/ml, 2 (3%) dari 25 ug/ml menjadi 0,3906 ug/ml, 2 (3%) dari 25 ug/ml menjadi 0,0976 ug/ml, 2 (3%) dari 25 ug/ml menjadi 0,1953 ug/ml, 1 (1,5%) dari 25 ug/ml menjadi 12,5 ug/ml dan 1 (1,5%) isolat mengalami perubahan KHM dari 25 ug/ml menjadi 0,7812 ug/ml setelah penambahan rifampisin sub KHM.

Pada penelitian ini 61 (91%) isolat mengalami penurunan KHM tetrasiklin setelah diberikan paparan rifampisin sub KHM, sedangkan 9% lainnya tidak menunjukkan perubahan. Jumlah isolat yang menunjukkan peningkatan kepekaan terhadap tetrasiklin setelah pemaparan rifampisin sub KHM ini bermakna secara statistik ($p < 0,05$).

Pemberian rifampisin pada sub KHM tidak akan membunuh bakteri. Tetapi hal ini akan mengakibatkan penurunan ekspresi gen yang disebabkan oleh hambatan parsial RNA polimerase oleh rifampisin. Karena adanya hambatan ini maka berbagai produk proteinnya juga akan terganggu. Akibatnya kemampuan bakteri untuk melakukan pompaan ke luar terhadap tetra-

siklin yang masuk akan berkurang, sehingga bakteri yang semula resisten akan menjadi sensitif kembali terhadap tetrasiklin.

Berbagai penelitian tentang sinergisme rifampisin telah dikerjakan. Praseno⁶ mendapatkan bahwa pemberian rifampisin sub KHM bersama-sama ampisilin akan menurunkan KHM ampisilin. Telah dibuktikan bahwa terdapat efek sinergistik rifampisin dan ampisilin terhadap *S. aureus* penghasil beta laktamase yang kemungkinan besar berdasarkan hambatan sintesis beta laktamase oleh rifampisin.

Yamane⁸ meneliti sinergisme rifampisin dengan amphoterasin B di dalam menghambat pertumbuhan jamur. Dibuktikan bahwa terdapat sinergisme di antara keduanya sehingga diharapkan kombinasi kedua obat tersebut dapat dimanfaatkan dalam terapi jamur agar lebih efektif dan berkurang toksisitasnya.

Sinergisme rifampisin dengan amikasin dan netilmicin telah dipelajari oleh Xiong⁹. Dengan menggunakan *Pseudomonas aeruginosa* dibuktikan bahwa rifampisin memberi efek bakterisidal sinergistik dengan amikasin atau netilmicin. Resistensi yang diperoleh secara adaptif terhadap aminoglikosida dapat tersupresi ketika ditambahkan rifampisin. Efek sinergistik antara rifampisin dengan sefotaksim dan rifampisin dengan kotrimoksazol juga telah dibuktikan pada *S. aureus*^{10,11}. Terdapatnya efek sinergistik antara rifampisin dengan pelbagai jenis antibiotika tampaknya tak lepas dari peran sentral rifampisin sebagai penghambat proses transkripsi. Pada dasarnya bakteri mengembangkan sifat resistensi terhadap antibiotika melalui satu di antara tiga mekanisme yaitu mencegah masuknya antibiotika ke dalam sel, mengubah struktur target antibiotika dan menghasilkan enzim yang dapat menginaktivasi antibiotika.

Sinergisme rifampisin dengan antibiotika lain lebih mungkin berkaitan dengan kemampuan bakteri mengembangkan produksi enzim yang dapat merusak antibiotika. Bila dua mekanisme yang lain (perubahan dinding sel dan perubahan struktur target) terutama terjadi akibat mutasi kromosom, maka produksi enzim yang menginaktifkan antibiotika terutama dikode oleh gen-gen yang terdapat pada plasmid¹²

Dari uraian di atas, jelas bahwa sinergisme rifampisin dan antibiotika lain tidak berhubung-

an dengan mutasi kromosom yang menyebabkan perubahan dinding sel dan struktur target antibiotika. Dengan demikian sinergisme antara rifampisin dengan antibiotika lain kemungkinan hanya berlaku pada bakteri yang mengembangkan sifat resistensinya melalui produksi enzim yang menginaktivkan antibiotika. Sifat resisten terhadap tetrasiklin diperantarai oleh plasmid yang mengkode sintesis enzim yang menghalangi transport aktif tetrasiklin masuk ke dalam sel. Hambatan sintesis enzim ini pada tahap transkripsi akan memungkinkan berlangsungnya transport tetrasiklin masuk sel untuk berikatan dengan target.

Meskipun pemberian rifampisin sebagai obat tunggal dapat digunakan untuk membunuh *S. aureus* tetapi kombinasi rifampisin dengan tetrasiklin akan lebih bermanfaat karena penggunaan rifampisin dalam dosis yang rendah. Pada kadar rifampisin sub KHM, bakteri dibunuh oleh kerja tetrasiklin.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi salah satu alternatif penanganan resistensi obat, karena ternyata pemberian kombinasi rifampisin dosis rendah dapat menyebabkan peningkatan sensitivitas, sehingga bakteri yang semula resisten terhadap tetrasiklin menjadi sensitif kembali.

SIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian rifampisin dengan kadar di bawah Kadar Hambat Minimum (sub KHM) dapat meningkatkan kepekaan *S. aureus* terhadap tetrasiklin dan terdapat efek sinergisme antara rifampisin dan tetrasiklin di dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* ($p < 0,05$).

Sebagai saran, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan jumlah subyek yang lebih banyak serta perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui secara pasti mekanisme sinergistik antara rifampisin dan tetrasiklin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian UGM yang telah memberikan dana penelitian melalui anggaran rutin UGM M.A. 5250 Tahun 1997/1998.

KEPUSTAKAAN

1. Raharjo E. Pola kepekaan kuman terhadap berbagai antibiotika di Laboratorium Mikrobiologi FK UGM Tahun 1991 - 1992. [Karya Tulis Ilmiah]. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada 1991.
2. Tamtomo S. Pola kepekaan beberapa macam kuman terhadap antibiotika. [Karya Tulis Ilmiah]. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada 1992.
3. Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA, Brooks GF, Butel J, Ornston LN. Medical microbiology, 18th ed. London: Lange Medical Book. Prentice Hall International Ltd, 1996.
4. Gilman AG, Theodore WR, Nies AS, Taylor P. The pharmacological basic of therapeutics, Vol. 2, eight ed. Philadelphia: McGraw-Hill, 1992.
5. Joseph R, Palma D, Di Gregorio GJ. Basics pharmacology in medicine, third ed. Philadelphia: McGraw-Hill, 1990.
6. Praseno. An increased susceptibility of *S. aureus* to ampicilin during exposure to rifampicin: A district mechanism of antimicrobial synergism. Med. J Indon 1997; 6 (2):79-81.
7. Ballows A, Hausler WJ, Hermann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ. Manual of clinical microbiology, 5th ed. Washington: American Society for Microbiology, 1991.
8. Yamane N, Behiry IK, Tosaka M, Nakasone I. Determination of in vitro synergy when amphotericin B is combined with various antimicrobial agents against yeasts by using a colorimetric microdilution checkerboard. Rinsho Byori 1997; 45 (7):689-95.
9. Xiong YQ, Caillon J, Drugeon H, Potel G, Baron D. The effect of rifampicin on adaptive resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to aminoglycosides. J. Antimicrob - Chemother, 37(5):993-8.
10. Kartirini. Efek sinergistik kombinasi kotrimazol dengan rifampisin terhadap *S. aureus*. [Karya Tulis Ilmiah]. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada, 1998.
11. Yuni Hartatik. Perubahan *S. aureus* yang resisten menjadi sensitif sefotaksim selama paparan dengan rifampisin. [Karya Tulis Ilmiah]. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada 1998.
12. Hardy. K. Bacterial Plasmids. Berkshire: Van Nostrand Reinhold, 1989.