

EVALUASI UPTAKE RADIOFARMAKA ^{99m}Tc -SIPROFLOKSASIN OLEH BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus* YANG RESISTEN TERHADAP ANTIBIOTIK KOTRIMOKSAZOL SECARA IN VITRO

Iim Halimah¹, Rizky Juwita Sugiharti¹, Isti Daruwati¹, Maula Eka Sriyani¹, Kiki Rizki Lestari², Nelly D. Leswara²

¹ Pusat Sains dan Teknologi Nuklir Terapan - BATAN, Jl. Tamansari No. 71 Bandung, 40132

² Departemen Farmasi – Universitas Indonesia, Gedung D, Kampus UI Depok, 16424
iimhalimah@batan.go.id

ABSTRAK

EVALUASI UPTAKE RADIOFARMAKA ^{99m}Tc -SIPROFLOKSASIN OLEH BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus* YANG RESISTEN TERHADAP ANTIBIOTIK KOTRIMOKSAZOL. Radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin merupakan radiofarmaka yang dikembangkan oleh BATAN untuk diagnosis infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Dalam aplikasi radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin di kedokteran nuklir, resistensi bakteri terhadap suatu antibiotik diduga dapat menjadi suatu masalah untuk penggunaan radiofarmaka ini dikarenakan hilangnya kepekaan bakteri terhadap antibiotik, sehingga mungkin dapat menurunkan nilai uptake radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin oleh bakteri. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis perubahan nilai uptake radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin oleh bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*) dan *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) yang telah dibuat resisten terhadap kotrimoksazol. Bakteri dibuat resisten dengan memberikan antibiotik kotrimoksazol di bawah kadar hambat minimumnya (*Minimum Inhibitory Concentration*) selama lima hari untuk *E. coli* dan empat hari untuk *S. aureus*. Bakteri yang telah resisten diuji kepekaannya terhadap antibiotik kotrimoksazol dengan metode Kirby-Bauer, dan selanjutnya ditentukan uptake masing-masing bakteri terhadap radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin. Bakteri *E. coli* yang resisten kotrimoksazol menunjukkan uptake sebesar $37,1 \pm 6,5\%$ ($n = 6$) sementara bakteri *E. coli* non resisten menunjukkan uptake sebesar $32,1 \pm 3,7\%$ ($n = 6$). Bakteri *S. aureus* yang resisten kotrimoksazol menunjukkan uptake sebesar $41,9 \pm 7,2\%$ ($n = 6$) sementara bakteri *S. aureus* non resisten menunjukkan uptake sebesar $37,3 \pm 4,7\%$. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa bakteri yang telah resisten terhadap antibiotik kotrimoksazol masih dapat meng-uptake radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin dengan nilai uptake yang sebanding dengan bakteri non resisten antibiotik kotrimoksazol.

Kata kunci: *Escherichia coli*, radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin, resisten, *Staphylococcus aureus*, uptake

ABSTRACT

IN VITRO EVALUATION OF ^{99m}Tc -CIPROFLOXACIN RADIOPHARMACEUTICAL UPTAKE BY *Escherichia coli* AND *Staphylococcus aureus* BACTERIA RESISTANT TO COTRIMOXAZOLE ANTIBIOTIC. ^{99m}Tc -ciprofloxacin is a candidate of radiopharmaceutical which is being developed by BATAN for diagnosis of infections caused by bacteria. However there is a question for its uptake if this radiopharmaceutical candidate used for diagnosis of infections caused by bacteria that been previously treated with a particular antibiotic. Therefore, the objective of this study was to determine the uptake of ^{99m}Tc - ciprofloxacin radiopharmaceutical by the bacteria *Escherichia coli* (*E. coli*) and *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) which had been made resistant to an antibiotic cotrimoxazole. Bacteria resistant to cotrimoxazole was prepared by giving cotrimoxazole below the minimum inhibitory concentration (MIC) for up to five days for *E. coli* and for to four days for *S. aureus*. Bacteria that have been treated with cotrimoxazole were tested for their susceptibility by Kirby - Bauer method, and then for their uptake toward of ^{99m}Tc -ciprofloxacin radiopharmaceutical. The results showed that *E. coli* which was resistant to cotrimoxazole gave an uptake of $37.1 \pm 6.5\%$ ($n = 6$), while the non-resistant *E. coli* gave an uptake of $32.1 \pm 3.7\%$ ($n = 6$). *S. aureus* which was resistant to cotrimoxazole gave an uptake of $41.9 \pm 7.2\%$ ($n = 6$), while the non-resistant *S. aureus* gave an uptake of $37.3 \pm 4.7\%$. The above results showed that the bacteria which were resistant to the cotrimoxazole antibiotic were still able to uptake of ^{99m}Tc -ciprofloxacin with a value comparable to that of non-resistant bacteria.

Keywords: *Escherichia coli*, ^{99m}Tc -ciprofloxacin radiopharmaceutical, resistant, *Staphylococcus aureus*, uptake

PENDAHULUAN

Perkembangan ilmu kedokteran nuklir dalam dunia kesehatan menghasilkan suatu teknik yang dapat menilai fungsi suatu organ atau mendiagnosis suatu penyakit. menggunakan sumber radiasi terbuka dalam bentuk radiofarmaka. Salah satu penggunaan teknik ini adalah untuk mendeteksi lokasi infeksi yang disebabkan oleh bakteri dengan menggunakan radiofarmaka berbasis antibiotik.

Prinsip kerja radiofarmaka berbasis antibiotik adalah berdasarkan kemampuan antibiotik terakumulasi pada daerah infeksi yang disebabkan oleh bakteri, sedangkan sinar gamma dipancarkan oleh radionuklida yang terikat pada antibiotik akan dapat dicitra dengan dengan kamera gamma. (Britton dkk., 1997).

Siprofloksasin merupakan antibiotik golongan fluorokuinolon yang aktif terhadap bakteri gram negatif dan gram positif (Mariana dan Setiabudy, 1995). Siprofloksasin bertanda radionuklida ^{99m}Tc oleh sebab itu dapat digunakan untuk mendeteksi lokasi infeksi yang disebabkan oleh bakteri penyebab infeksi baik gram negatif seperti *E. coli* maupun gram positif seperti *S. aureus* (Sonmezoglu dkk., 2001). Antibiotik yang biasa digunakan sebagai terapi infeksi gram negatif dari bakteri *E. coli* dan gram positif *S. aureus* tersebut salah satunya adalah kotrimoksazol yang merupakan kombinasi perbandingan 5 : 1 dari sulfametoksazol dan trimetoprim (Mariana dan Setiabudy, 1995).

Resistensi bakteri adalah ketahanan bakteri terhadap efek antibiotik tertentu. Masalah resistensi bakteri terhadap antibiotik menyebabkan timbulnya pertanyaan apakah bakteri-bakteri penyebab infeksi baik gram negatif maupun gram positif yang telah resisten masih dapat memperlihatkan *uptake* (daya ikat) terhadap radiofarmaka penyidik infeksi. Berdasarkan latar belakang tersebut, dilakukan penelitian pendahuluan yang bertujuan untuk menganalisis perubahan *uptake* (daya ikat) radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin oleh bakteri *E. coli* dan *S.*

aureus yang telah resisten terhadap antibiotik kotrimoksazol.

METODOLOGI

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain radionuklida ^{99m}Tc dalam bentuk larutan $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4^-$ yang diperoleh dari generator $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ (PT. BATAN-Teknologi), kit kering siprofloksasin (PSTNT - BATAN Bandung), bakteri *S. aureus* dan *E. coli* (koleksi dari laboratorium Mikrobiologi ITB), $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Merck, Jerman), sulfametoksazol (Virchow Laboratories Limited, India), trimetoprim (Shouguang Fukang Pharmaceutical, China), propilenglikol, medium perbenihan Nutrient Agar (Oxoid, Inggris), tioglikolat cair (Merck, Jerman), dan Mueller-Hinton agar (Oxoid, Inggris).

Alat

Alat yang digunakan antara lain pencacah saluran tunggal (*single channel analyzer*) (Ortec) dengan detektor NaI-Tl, *dose calibrator* (Victoreen), autoklaf (Hirayama), *laminar air flow* (BBL Biological Cabinet, Becton Dickinson), inkubator (Memmert), oven (Memmert), *shaker waterbath* (Karl Kolb), peralatan kromatografi, sentrifuge (Fischer-1328), alat pengaduk (Retsch Mixer), kontainer timbal, penyaring bakteri (Millipore 0,22 μm), jangka sorong (Vernier Caliper), alat pembuat sumuran berdiameter 6 mm yang terbuat dari *stainless steel*, vial steril 10 ml dan 25 ml, kertas indikator universal (Merck, Jerman), *syringe* (Terumo), cawan petri, jarum ose, mikropipet (Eppendorf), dan alat-alat lain yang biasa dipergunakan di laboratorium mikrobiologi.

Prosedur Kerja

Pembuatan Medium Perbenihan Nutrient Agar (NA), Mueller-Hinton Agar (MHA), dan Medium Tioglikolat cair

Bubuk NA ditimbang sebanyak 23 gram, bubuk MHA sebanyak 38 gram dan bubuk tioglikolat sebanyak 29 gram.

Selanjutnya masing-masing dilarutkan ke dalam 1 liter aquadest dan dipanaskan untuk meningkatkan kelarutan. Setelah larut, medium disterilisasi di dalam autoklaf pada suhu 121° C dan tekanan 1 atm selama 15 menit (Waluyo, 2010). Larutan kemudian dituang ke dalam tabung reaksi ataupun cawan petri secara aseptis di dalam *laminar air flow* masing-masing sebanyak 15 ml dan didinginkan.

Pembuatan Larutan Antibiotik Kotrimoksazol (Mariana dan Setiabudy, 1995)

Antibiotik kotrimoksazol terdiri dari sulfametoksazol dan trimetoprim dengan perbandingan komposisi 5:1. Sulfametoksazol dan trimetoprim ditimbang sebanyak masing-masing 80 mg dan 16 mg. Sulfametoksazol dilarutkan dalam 1 ml NaOH 1 N dan trimetoprim dilarutkan dalam 4 ml propilenglikol. Setelah larut sempurna, kedua larutan dimasukkan dalam labu takar 10 ml dan dikocok hingga larut sempurna. Selanjutnya, pH larutan tersebut diatur agar tercapai pH 9,5-10 dengan menambahkan NaOH 0,1 N. Setelah pH yang diinginkan tercapai, larutan tersebut diencerkan dengan larutan NaCl fisiologis 0,9% hingga batas pada labu takar, sehingga diperoleh larutan induk kotrimoksazol 9600 ppm. Setelah diperoleh larutan induk, dibuat seri pengenceran kelipatan dua sehingga diperoleh konsentrasi sebagai berikut: 4800 ppm; 2400 ppm; 1200 ppm; 600 ppm; 300 ppm; 150 ppm; 75 ppm; 37,50 ppm; 18,75 ppm; 9,38 ppm; 4,69 ppm; dan 2,34 ppm.

Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) *E. coli* dan *S. aureus*

Sebanyak 16 tabung reaksi (untuk 13 konsentrasi dan 3 buah kontrol) yang telah berisi 0,8 ml medium cair tioglikolat disiapkan dan diisi dengan 0,1 ml suspensi bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dengan kekeruhan yang setara dengan 10^7 bakteri/ml. Sebanyak 0,1 ml larutan antibiotik hasil pengenceran dimasukkan pada setiap tabung reaksi dengan konsentrasi yang berbeda. Kemudian, seluruh tabung dikocok dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C

selama 24 jam. Pengujian ini dilakukan secara triplo, dimana masing-masing konsentrasi terdiri atas 3 seri tabung. Sebagai pembandingan, digunakan 3 buah kontrol, yaitu kontrol bakteri (berisi 0,8 ml media cair tioglikolat; 0,1 ml suspensi bakteri; dan 0,1 ml pelarut), kontrol antibiotik (berisi 0,8 ml media cair tioglikolat; 0,1 ml larutan induk antibiotik kotrimoksazol; dan 0,1 ml pelarut), dan kontrol media (berisi 0,8 ml media cair tioglikolat; dan 0,2 ml pelarut).

Konsentrasi hambat minimum (KHM) ditunjukkan dari konsentrasi antibiotik terkecil yang menghasilkan kejernihan yang pertama. Konsentrasi-konsentrasi antibiotik yang masih menghasilkan kekeruhan akan digunakan selanjutnya untuk menentukan konsentrasi yang membuat bakteri resisten.

Perсистенan Bakteri *E. coli* dan *S. aureus*

Dari hasil penentuan KHM bakteri *E. coli* dan *S. aureus* sebelumnya, tabung-tabung yang masih menunjukkan kekeruhan dilanjutkan pemberian antibiotik kotrimoksazol selama 5 (lima) hari berturut-turut untuk *E. coli* dan 4 (empat) hari berturut-turut untuk *S. aureus* dengan konsentrasi yang sama dengan konsentrasi pemberian hari ke-1 sebanyak 0,1 ml, kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37 °C.

Pengujian Kepekaan Bakteri *E. coli* dan *S. aureus* terhadap Antibiotik Kotrimoksazol

Mueller-Hinton agar disiapkan dan dibuat sumur-sumur dengan suatu alat yang terbuat dari logam berdiameter 6 mm, berbahan *stainless steel*. Masing-masing bakteri *E. coli* dan *S. aureus wild* yang berada dalam tabung hasil perсистенan ditanam ke dalam Mueller-Hinton agar tersebut. Sebanyak 20 µl larutan antibiotik kotrimoksazol sebesar KHM dimasukkan ke dalam sumuran. Selanjutnya diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 24 jam. Setelah diinkubasi, zona hambatan diukur menggunakan jangka sorong. Bakteri yang memiliki zona hambatan lebih kecil dari kontrol bakteri atau tidak memiliki zona hambat dianggap telah resisten dan ditanam ke cawan petri yang berisi Nutrient Agar (NA)

yang berisi antibiotik kotrimoksazol dengan konsentrasi hambat minimumnya.

Penandaan Kit-Kering Siprofloksasin dengan Radionuklida ^{99m}Tc

Larutan $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ dengan aktivitas 2-13 mCi/ml (1,5 ml) ditambahkan pada kit-kering siprofloksasin. Campuran selanjutnya dikocok hingga larut sempurna (± 40 detik) dan diinkubasi pada suhu kamar selama 15 menit. Setelah diinkubasi, radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin dicek, kemurnian radiokimia, pH dan aktivitasnya.

Penentuan Uptake ^{99m}Tc -siprofloksasin oleh Bakteri *E. coli* dan *S. aureus* yang Resistan Antibiotik Kotrimoksazol

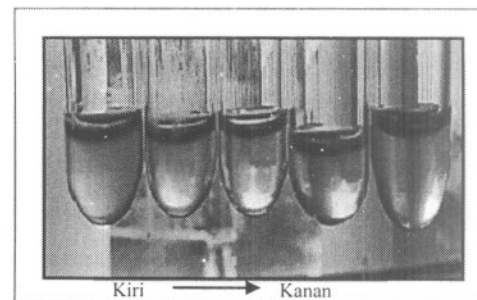
Sebanyak 60 μL radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin dengan radioaktivitas 0,08–0,12 mCi dimasukkan ke dalam tiap tabung reaksi yang berisi masing-masing 2 ml larutan NaCl fisiologis 0,9% dan bakteri *E. coli* maupun *S. aureus* yang telah resisten kotrimoksazol (suspensi bakteri setara dengan 10^7 bakteri/ml). Campuran diinkubasi pada suhu 37 °C selama 1 jam didalam *shaker waterbath*. Setelah diinkubasi, bakteri dimatikan dengan cara pemanasan di dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C. Kemudian disentrifugasi selama ~ 5 menit untuk memisahkan filtrat dan endapan yang selanjutnya dipisahkan. Larutan NaCl fisiologis 0,9% (1 ml) kemudian ditambahkan pada endapan. Campuran selanjutnya dikocok, disentrifugasi selama ~ 5 menit dan endapan kemudian dipisahkan kembali dari filtratnya. Proses ini diulang sebanyak dua kali. Masing-masing filtrat dan endapan dan larutan $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ (kontrol) kemudian dicacah dengan alat pencacah saluran tunggal.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Antibiotik Kotrimoksazol terhadap Bakteri *E. coli*

Penentuan KHM antibiotik kotrimoksazol terhadap bakteri *E. coli* dilakukan dengan metode pengenceran antibiotik dalam tabung dengan 13

konsentrasi antibiotik yang berbeda. Prosedur ini dilakukan secara triplo. KHM antibiotik kotrimoksazol terhadap bakteri *E. coli* ditunjukkan oleh konsentrasi obat terkecil yang menghasilkan kejernihan yang pertama yaitu pada konsentrasi 37,50 ppm. Pada konsentrasi 37,50 ppm, ketiga buah tabung reaksi yang digunakan menunjukkan hasil yang jernih sehingga dapat dikatakan bahwa KHM antibiotik kotrimoksazol terhadap bakteri *E. coli* sebesar 37,50 ppm. Hasil pengamatan KHM antibiotik kotrimoksazol terhadap bakteri *E. coli* dapat dilihat dalam Gambar 1 dan Tabel 1.



Keterangan: Konsentrasi dari kiri ke kanan berturut-turut 9,38 ppm; 18,75 ppm; 37,50 ppm; 75 ppm; 150 ppm

Gambar 1. Hasil kadar hambat minimum (KHM) antibiotik kotrimoksazol terhadap bakteri *E. coli*.

Tabel 1. Hasil pengamatan uji KHM antibiotik kotrimoksazol terhadap bakteri *E. coli*

No.	Konsentrasi (ppm)	Tabung I	Tabung II	Tabung III
1	9600	-	-	-
2	4800	-	-	-
3	2400	-	-	-
4	1200	-	-	-
5	600	-	-	-
6	300	-	-	-
7	150	-	-	-
8	75	-	-	-
9	37,50	-	-	-
10	18,75	+	+	+
11	9,38	+	+	+
12	4,69	+	+	+
13	2,34	+	-	-

Keterangan:

T = tabung reaksi

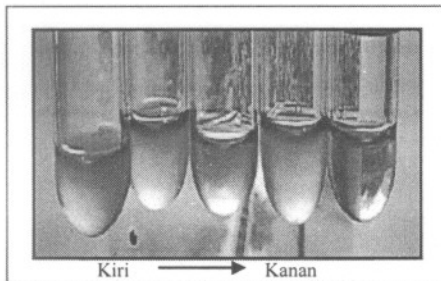
Tanda + menunjukkan bakteri hidup (hasil keruh)

Tanda - menunjukkan bakteri tidak hidup (hasil jernih)

Uji KHM Antibiotik Kotrimoksazol terhadap Bakteri *S. aureus*

Penentuan KHM antibiotik kotrimoksazol terhadap bakteri *S. aureus* dilakukan dengan metode pengenceran antibiotik dalam tabung

dengan 13 konsentrasi antibiotik yang berbeda. Prosedur ini dilakukan secara triplo. Kadar hambat minimum antibiotik kotrimoksazol terhadap bakteri *S. aureus* ditunjukkan dari konsentrasi obat terkecil yang menghasilkan kejernihan yang pertama yaitu pada konsentrasi 37,50 ppm. Pada konsentrasi 37,50 ppm, dua dari tiga buah tabung reaksi yang digunakan menunjukkan hasil yang jernih sehingga dapat dikatakan bahwa KHM antibiotik kotrimoksazol terhadap bakteri *S. aureus* sebesar 37,50 ppm. Hasil pengamatan KHM antibiotik kotrimoksazol terhadap bakteri *S. aureus* dapat dilihat dalam Gambar 2 dan Tabel 2.



Keterangan: Konsentrasi dari kiri ke kanan (dari keruh hingga bening) berturut-turut 2,34 ppm; 4,69 ppm; 9,38ppm; 18,75 ppm; 37,50 ppm

Gambar 2. Hasil kadar hambat minimum (KHM) antibiotik kotrimoksazol terhadap bakteri *S. aureus*

Tabel 2. Hasil pengamatan uji kadar hambat minimum (KHM) antibiotik kotrimoksazol terhadap bakteri *S. aureus*

No.	Konsentrasi (ppm)	Tabung I	Tabung II	Tabung III
1	9600	-	-	-
2	4800	-	-	-
3	2400	-	-	-
4	1200	-	-	-
5	600	-	-	-
6	300	-	-	-
7	150	-	-	-
8	75	-	-	-
9	37,50	-	-	+
10	18,75	-	-	+
11	9,38	-	-	+
12	4,69	-	+	+
13	2,34	-	+	+

Keterangan:

T = tabung reaksi

Tanda + menunjukkan bakteri hidup (hasil keruh)

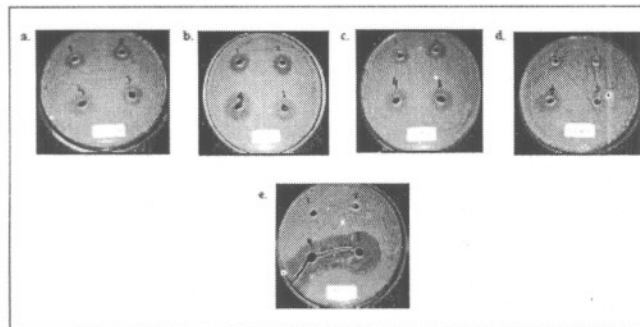
Tanda - menunjukkan bakteri tidak hidup (hasil jernih)

Pengujian Kepekaan Bakteri *E. coli* dan *S. aureus* terhadap Antibiotik Kotrimoksazol

Pemberian 18,75 dan 9,38 ppm antibiotik kotrimoksazol secara berturut-turut selama lima dan empat hari berhasil membuat bakteri *E. coli* dan *S. aureus* menjadi resisten (Gambar 1 dan 2; Tabel 1 dan 2). Bakteri *E. coli* dan *S. aureus* yang resisten didefinisikan sebagai bakteri yang masih dapat bertahan hidup ketika diberikan antibiotik dengan konsentrasi hambat minimumnya.

Bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. dibuat resisten terhadap antibiotik kotrimoksazol dengan melakukan pemberian antibiotik kotrimoksazol di bawah KHM berturut-turut selama lima dan empat hari. Pada prosedur ini digunakan dua buah cawan petri berisi medium Mueller-Hinton Agar untuk masing-masing konsentrasi antibiotik. Pada tiap cawan petri dibuat empat sumuran berisi antibiotik yang diberikan selama lima hari berturut-turut untuk *E. coli* dan empat hari berturut-turut untuk *S. aureus*. Bakteri yang tidak menghasilkan zona inhibisi atau menghasilkan zona inhibisi lebih kecil dari kontrol bakteri dinyatakan telah resisten.

Diameter zona inhibisi yang terbentuk oleh bakteri *E. coli* dapat dilihat dalam Tabel 3 dan Gambar 3. Diameter zona inhibisi yang terbentuk oleh bakteri *S. aureus* dapat dilihat dalam Tabel 4 dan Gambar 4. Setelah didapatkan bakteri *E. coli* dan *S. aureus* yang resisten, bakteri tersebut masing-masing ditanam ke dalam medium Nutrient Agar berisi antibiotik sebesar KHM yaitu 37,50 ppm dengan tujuan agar bakteri *E. coli* dan *S. aureus* yang dapat tumbuh dalam medium Nutrient Agar tersebut hanya bakteri *E. coli* dan *S. aureus* yang telah resisten terhadap antibiotik kotrimoksazol dengan konsentrasi 37,50 ppm. Bakteri yang telah resisten tersebut diremajakan selama 24 jam sebelum digunakan untuk proses uptake terhadap radiofarmaka ^{99m}Tc-siprofloksasin.



Keterangan:

- Bakteri *E. coli* dengan konsentrasi pemberian antibiotik selama 5 hari berturut-turut untuk a. 2,34 ppm; b. 4,69 ppm; c. 9,38 ppm; d. 18,75 ppm; e. kontrol bakteri
- Konsentrasi antibiotik pada sumuran 1, 2, dan 3 sebesar 37,50 ppm dan konsentrasi antibiotik pada sumuran 4 sebesar 75 ppm sebagai pembanding.

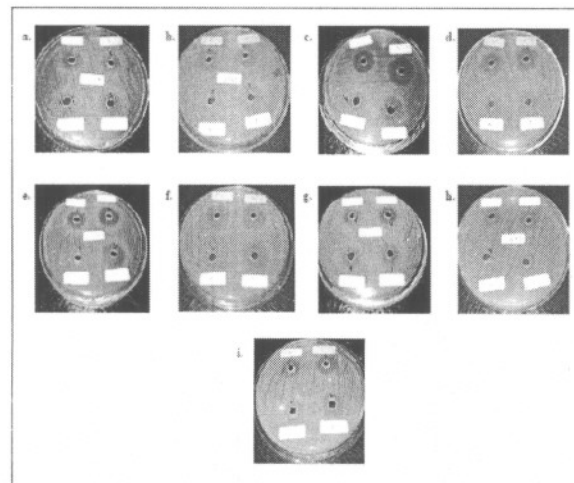
Gambar 3. Hasil pengujian kepekaan bakteri *E. coli* terhadap antibiotik kotrimoksazol 37,50 ppm

Tabel 3. Diameter zona inhibisi bakteri *E. coli* yang diberikan antibiotik kotrimoksazol selama lima hari berturut-turut

Konsentrasi antibiotik kotrimoksazol yang diberikan selama 5 hari (ppm)	Diameter (cm)			Rata-rata (cm)
	1	2	3	
18,75*	0,99	1,04	1,10	1,04
9,38	1,11	1,33	1,41	1,28
4,69	1,44	1,41	1,37	1,41
2,34	1,37	1,27	1,26	1,30
Kontrol bakteri	0,60	0,60	3,00	1,40

Keterangan:

- Diameter sumuran = 0,60 cm
- Konsentrasi antibiotik yang dimasukkan ke dalam sumuran = 37,50 ppm
- * = bakteri *E. coli* yang dianggap telah resisten antibiotik kotrimoksazol



Keterangan:

- Bakteri *S. aureus* dengan konsentrasi pemberian antibiotik selama 4 hari berturut-turut untuk a dan b. 2,34 ppm; c dan d. 4,69 ppm; e dan f. 9,38 ppm; g dan h. 18,75 ppm; i. kontrol bakteri
- Konsentrasi antibiotik pada sumuran 1, 2, dan 3 sebesar 75 ppm dan konsentrasi antibiotik pada sumuran 4 sebesar 37,50 ppm

Gambar 4. Hasil pengujian kepekaan bakteri *S. aureus* terhadap antibiotik kontrimoksazol konsentrasi 37,50 ppm

Tabel 4. Diameter zona inhibisi bakteri *S. aureus* yang diberikan antibiotik kotrimoksazol selama empat hari berturut-turut

Konsentrasi antibiotik kotrimoksazol (ppm)	Diameter (cm)		Rata-rata (cm)
	1	2	
37,50	1,33	2,31	1,82
18,75	0,91	1,31	1,11
9,38*	0,60	0,60	0,60
4,69	1,10	1,56	1,33
2,34	1,42	0,60	1,01

Keterangan:

• Diameter sumuran = 0,60 cm

* = bakteri *S. aureus* yang dianggap telah resisten antibiotik kotrimoksazol

Penentuan Uptake Bakteri *E. coli* dan *S. aureus* yang Resisten Kotrimoksazol terhadap Radiofarmaka ^{99m}Tc-siprofloksasin

Radiofarmaka berbasis antibiotik seperti ^{99m}Tc-siprofloksasin memiliki sifat bakterisid sehingga dapat terakumulasi pada daerah infeksi yang disebabkan oleh bakteri penyebab infeksi seperti *E. coli* dan *S. aureus*. Sifat inilah yang mendasari proses uptake yang dilakukan dalam penelitian ini. Hasil uji penentuan uptake bakteri *E. coli* dan *S. aureus* yang resisten kotrimoksazol terhadap radiofarmaka ^{99m}Tc-siprofloksasin berturut-turut adalah 37,12 ± 6,54% (n= 6) dan 41,94 ± 7,17% (n= 6). Hasil uji memperlihatkan bahwa bakteri *E. coli* dan *S. aureus* walaupun sudah resisten ternyata masih mampu menangkap/uptake radiofarmaka ^{99m}Tc-siprofloksasin.

Mekanisme akumulasi radiofarmaka ^{99m}Tc-siprofloksasin pada bakteri, diperkirakan sama dengan mekanisme akumulasi antibiotik siprofloksasin pada bakteri (Sonmezoglu dkk., 2001). Siprofloksasin adalah antibiotik golongan kuinolon. Secara intraseluler obat ini menghambat replikasi DNA bakteri dengan mengganggu kerja DNA girase (topoisomerase II) selama pertumbuhan dan reproduksi bakteri. Siprofloksasin bersifat bakterisidal yaitu destruktif terhadap bakteri. Radiofarmaka ^{99m}Tc-siprofloksasin oleh sebab itu juga akan terakumulasi pada daerah infeksi yang disebabkan oleh bakteri gram positif maupun gram negatif.

Prosedur uptake bakteri resisten kotrimoksazol terhadap ^{99m}Tc-siprofloksasin dilakukan dengan menambahkan ^{99m}Tc-siprofloksasin pada bakteri yang sudah resisten yang kemudian diinkubasi dalam suhu 37 °C di dalam shaker waterbath selama 1 jam agar uptake yang terjadi merata ke seluruh bakteri. Kondisi inkubasi dilaporkan merupakan kondisi inkubasi yang optimal dalam proses uptake bakteri *E. coli* dan *S. aureus* terhadap radiofarmaka (Zainuddin dkk., 2009). Selanjutnya bakteri dimatikan dengan cara pemanasan di dalam autoklaf bersuhu 121 °C, bertekanan 1 atm selama 15 menit, dengan tujuan untuk menghentikan proses uptake yang berlangsung. Pemisahan antara endapan dan filtrat dilakukan dengan cara sentrifugasi. Endapan yang terbentuk merupakan bakteri yang berikatan dengan radiofarmaka ^{99m}Tc-siprofloksasin sedangkan filtrat merupakan radiofarmaka ^{99m}Tc-siprofloksasin bebas yang tidak terikat dengan bakteri (Alexander dkk., 2005). Masing-masing endapan dan filtrat dicacah untuk menentukan persentase uptake dari bakteri. Setelah didapat data cacahan, persentase uptake dapat dihitung dengan Persamaan 1 berikut:

$$\frac{\text{cacahan endapan}}{\text{cacahan endapan} + \text{cacahan filtrat}} \times 100\% \dots \text{Pers. 1}$$

Rerata hasil uji uptake bakteri *E. coli* resisten kotrimoksazol terhadap ^{99m}Tc-siprofloksasin 37,12 ± 6,54% (n= 6). Data cacahan dan persentase hasil uptake bakteri *E. coli*

resisten kotrimoksazol terhadap radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin dapat dilihat pada Tabel 5 dan 6.

Tabel 5. Data cacahan uptake *E. coli* resisten kotrimoksazol terhadap adiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin

Bakteri	No.	^{99m}Tc -siprofloksasin (cps)		$^{99m}\text{TcO}_4$ (cps)	
		Endapan	Filtrat	Endapan	Filtrat
		Resisten		1	113396
		2	119954	154217	1986
		3	107002	145802	607
		4	141103	281894	1956
		5	112668	272294	1275
		6	130276	287265	2336
Non-resisten		1	79810	156358	663
		2	93957	176612	616
		3	91940	153112	541
		4	116000	285063	2492
		5	113392	275125	2169
		6	116585	290006	2828

Keterangan :

Aktivitas penandaan $^{99m}\text{TcO}_4 = 2-13 \text{ mCi}/1,5 \text{ ml}$

Volume radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin yang dimasukkan = 60 μl

Waktu pencacahan = 4 detik

Tabel 6. Persentase hasil uptake bakteri *E. coli* resisten kotrimoksazol terhadap radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin

Bakteri	No.	^{99m}Tc -siprofloksasin (%)	$^{99m}\text{TcO}_4$ (%)	
		Resisten		1
		2	43,75%	1,08%
		3	42,33%	0,32%
		4	33,36%	0,86%
		5	29,27%	0,56%
		6	31,20%	1,04%
Rata-rata		37,12 ± 6,54% (n=6)	0,70 ± 0,34% (n=6)	
Non-resisten		1	33,79%	0,37%
		2	34,73%	0,34%
		3	37,52%	0,44%
		4	28,92%	1,12%
		5	29,19%	0,96%
		6	28,67%	1,25%
Rata-rata		32,14 ± 3,75% (n=6)	0,75 ± 0,41% (n=6)	

Rerata hasil uji uptake bakteri *S. aureus* yang resisten kotrimoksazol terhadap ^{99m}Tc -siprofloksasin adalah $41,94 \pm 7,17\%$ (n = 6). Data cacahan dan persentase hasil uptake bakteri *S. aureus* resisten kotrimoksazol terhadap radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin dapat dilihat pada Tabel 7 dan 8.

Tabel 7. Data cacahan uptake bakteri *S. aureus* resisten kotrimoksazol terhadap radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin

Bakteri	No.	^{99m}Tc -siprofloksasin (cps)		$^{99m}\text{TcO}_4$ (cps)	
		Endapan	Filtrat	Endapan	Filtrat
		Resisten		1	32675
		2	32286	50902	94
		3	33328	70194	88
		4	148689	160367	6790
		5	146343	177772	4710
		6	172878	168371	7639
Non-resisten		1	35447	57422	58
		2	26258	57270	61
		3	32705	68633	96
		4	108123	154220	7190
		5	135771	179128	8164
		6	92147	153917	7238

Keterangan :

Aktivitas penandaan $^{99m}\text{TcO}_4 = 2-13 \text{ mCi}/1,5 \text{ ml}$

Volume radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin yang dimasukkan = 60 μl

Waktu pencacahan = 4 detik

Sebagai pembandingan pada penelitian ini dilakukan pula uji uptake bakteri *E. coli* dan *S. aureus* yang tidak dibuat resisten (non-resisten) kotrimoksazol terhadap ^{99m}Tc -siprofloksasin. Hasil uji ini memperlihatkan uptake bakteri *E. coli* dan *S. aureus* yang tidak dibuat resisten terhadap kotrimoksazol berturut-turut adalah $32,14 \pm 3,73\%$ dan $37,28 \pm 4,68\%$. Hasil uji uptake ini sebanding dengan hasil uji uptake bakteri *E. coli* dan *S. aureus* yang dibuat resisten kotrimoksazol terhadap ^{99m}Tc -siprofloksasin.

Pada penelitian juga dilakukan uji uptake bakteri yang sudah resisten terhadap larutan $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ yaitu spesi ^{99m}Tc yang tidak berikatan dengan siprofloksasin atau yang disebut juga dengan pengotor radiokimia. ^{99m}Tc -siprofloksasin. Uji ini dilakukan untuk melihat apakah $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ tersebut mampu ditangkap / uptake bakteri yang sudah resisten. Hasil uji diatas memperlihatkan baik bakteri *E. coli* maupun *S. aureus* yang sudah resisten dengan antibiotik kotrimoksazol hanya memberikan uptake terhadap $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ yang sangat kecil yaitu berturut-turut 0,70% hingga 2,47%.

Tabel 8. Persentase hasil uptake bakteri *S. aureus* resisten kotrimoksazol terhadap radiofarmaka ^{99m}Tc -siprofloksasin

Bakteri	No.	^{99m}Tc -siprofloksasin (%)	$^{99m}\text{TcO}_4$ (%)
Resisten	1	36,70%	0,0421%
	2	38,81%	0,0225%
	3	32,19%	0,0225%
	4	48,11%	5,11%
	5	45,15%	3,80%
	6	50,66%	5,83%
Rata-rata		41,94 ± 7,17% (n= 6)	2,47 ± 2,51% (n= 6)
Non-resisten	1	38,17%	0,0150%
	2	31,44%	0,0153%
	3	32,27%	0,0228%
	4	41,21%	5,70%
	5	43,12%	5,76%
	6	37,45%	5,61%
Rata-rata		37,28 ± 4,68% (n= 6)	2,86 ± 3,11% (n= 6)

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh dalam penelitian ini, dapat disimpulkan tidak ada perbedaan yang bermakna antara uptake ^{99m}Tc -siprofloksasin oleh bakteri *E. coli* dan *S. aureus* yang telah resisten terhadap antibiotik kotrimoksazol dengan uptake ^{99m}Tc -siprofloksasin oleh bakteri *E. coli* dan *S. aureus* yang non-resisten.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ungkapan rasa terima kasih yang sedalam-dalamnya kami sampaikan kepada Bapak Yana Sumpena, Ibu Yetti Suryati, Saudari Prina Puspa Kania, dan Bapak Epy Isabela atas bantuan teknis selama penelitian berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

1. Alexander, K., Drost, W.T., Mattoon, J.S., Kowalski, J.J., Funk, J.A. dan Crabtree, A.C. (2005). Binding of Ciprofloxacin

Labelled with Technetium Tc 99m versus ^{99m}Tc -pertechnetate to a Live and Killed Equine Isolate of *Escherichia coli*. *Can. J. Vet. Res.*, 69 (4), 272-277.

20. Bisht, R., Katiyar, A., Singh R., Mittal, P. (2009). Antibiotic Resistance -A Global Issue of Concern. *Asian J. of Pharm. and Clin. Research*, 2 (2), 34-39.

21. Britton, K.E., Wareham, D.W., Das, S.S., Solanki, K.K., Amaral, H., Bhatnagar, A., Katamihardja, A.H.S., Malamitsi, J., Moustafa, H.M., Soroa, V.E., Sundram, F.X., and Padhy, A.K. (2002). Imaging Bacterial Infection with ^{99m}Tc -ciprofloxacin. *J. Clin. of Pathol.*, 55, 817-823.

22. Mariana, Y dan Setiabudy, R.. (1995). Sulfonamid, Kotrimoksazol dan Antiseptik Saluran Kemih. dalam: *Farmakologi dan Terapi*. (Ed. ke-4). Jakarta: Balai Penerbit FKUI, 590-593.

23. Pratiwi, S.T. (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga Medical Series, 165-174.

24. Sonmezoglu, K., Sonmezoglu, M., Halac, M., Akgün, I., Türkmen, C., Önsel, C., Kanmaz, B., Solanki, K, Britton, K.E. and Uslu, I. (2001). Usefulness of ^{99m}Tc -ciprofloxacin (Infecton) Scan in Diagnosis of Chronic Orthopedic Infections: Comparative Study with ^{99m}Tc -HMPAO Leukocyte Scintigraphy. *J. of Nucl. Med.*, 42, 567-574.

25. Waluyo, L. (2010). *Teknik dan Metode Dasar dalam Mikrobiologi*. Malang: UMM Press, 133-134.

26. Zainuddin, N. Hidayat, B., dan Iijas, R. (2009). Pengembangan dan Aplikasi Klinis Kit-Kering Siprofloksasin. *Jurnal Sains dan Teknologi Nuklir Indonesia*, X(1), 11 - 24.