


Uji Aktivitas Suplementasi Ceftriaxone dan Rutin terhadap Pengembalian Sensitivitas *Acinetobacter Baumannii* yang Resisten terhadap Antibiotik Golongan Beta Lactam Ceftriaxone

Nasha Lulut Chandrika¹, Febrimarsa²

¹Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta, Indonesia

²Pusat Studi Literasi Dasar dan Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta, Indonesia

 Email korespondensi: k100210037@student.ums.ac.id

Abstrak. *Acinetobacter baumannii* merupakan bakteri patogen oportunistik yang sering menyebabkan infeksi nosokomial dan dikenal memiliki tingkat resistensi tinggi terhadap berbagai antibiotik, termasuk ceftriaxone. Resistensi ini menjadi tantangan besar dalam pengobatan infeksi akibat bakteri tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk menguji apakah senyawa flavonoid rutin dapat meningkatkan sensitivitas *A. baumannii* terhadap ceftriaxone. Metode yang digunakan adalah uji kombinasi checkerboard untuk menentukan interaksi antara ceftriaxone dan rutin melalui nilai FIC Index (Fractional Inhibitory Concentration Index). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi ceftriaxone dan rutin mampu menurunkan nilai MIC (Minimum Inhibitory Concentration) masing-masing senyawa dibandingkan penggunaannya secara tunggal. Nilai FIC Index yang diperoleh adalah 0,75 yang menunjukkan adanya efek aditif. Dengan demikian, suplementasi rutin berpotensi meningkatkan efektivitas ceftriaxone dalam melawan *A. baumannii*, meskipun belum cukup kuat untuk menghasilkan efek sinergis. Hasil ini membuka peluang pengembangan terapi kombinasi dengan dosis dan formulasi yang lebih optimal.

Kata kunci: *Acinetobacter baumannii*, ceftriaxone, rutin, resistensi, FIC Index



PENDAHULUAN

Bakteri *Acinetobacter baumannii* menyebabkan infeksi paru-paru yang serius, terutama pada pasien *Immunocompromised* (rentan imun) (Friedrich, 2017). Pasien rentan imun lebih rentan terhadap infeksi karena sistem imun mereka tidak berfungsi secara optimal. Kondisi ini disebabkan oleh berbagai faktor, seperti penggunaan obat immunosupresif (Friedrich, 2017).

Infeksi ini telah menjadi resisten dan berkembang menjadi multidrug-resistant (MDR) karena faktor-faktor, seperti kemampuannya untuk memperoleh gen resistensi dari bakteri lain, kemampuan membentuk biofilm, serta mutasi genetik yang memungkinkan perubahan target antibiotik. Selain itu, penggunaan antibiotik yang berlebihan di rumah sakit dan kemampuan *Acinetobacter baumannii* untuk bertahan hidup dalam kondisi lingkungan yang ekstrem juga berkontribusi pada pengembangan resistensi bakteri ini.

Penggunaan antibiotik yang salah dapat menyebabkan munculnya masalah resistensi. Resistensi antibiotik terjadi ketika bakteri menjadi kebal terhadap efek antibiotik, sehingga tidak dapat lagi membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroba (Centers for Disease Control and Prevention, 2013) Bakteri *Acinetobacter baumannii* merupakan salah satu organisme ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Enterobacter spp*), yakni enam mikroorganisme yang sering kedapatan dengan mudah menghindari efek obat antibiotik (Lee C-R, Lee JH et al, 2017).

MDR-Bakteri yang telah resisten dapat di buat kembali menjadi sensitif dengan menambahkan senyawa aktif lain bersamaan dengan antibiotik. Contoh: Senyawa apigenin menunjukkan aktivitas antibakteri yang kuat terhadap *S. typhimurium* dan *Proteus mirabilis* Hal ini disebabkan oleh sifat kimia apigenin dan kemampuan untuk menembus membran sel bakteri. Temuan ini menunjukkan bahwa apigenin berpotensi digunakan dalam pengembangan obat antibakteri untuk mengatasi infeksi yang disebabkan oleh bakteri patogen tersebut (Nayaka et al., 2014). Ide suplementasi ini dapat digunakan pada kondisi klinis dengan cukup menambahkan senyawa seperti Rutin untuk membuat bakteri yang sudah resisten kembali sensitif terhadap perlakuan antibiotik.`



Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek suplementasi rutin terhadap sensitivitas *Acinetobacter baumannii* yang resisten terhadap ceftriaxone. Selain itu, penelitian ini juga untuk menentukan adanya sinergisme antara rutin dan ceftriaxone dalam menghambat pertumbuhan *Acinetobacter baumannii*.

METODE

2.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah rak tabung reaksi, *glassware* (Iwaki), batang pengaduk, *microtube*, jarum ose bulat, spatula, aluminium foil, timbangan analitik, oven, inkubator (Memmert), inkubator *shaker*, *Micropipette* 10-100, *Micropipette* 100-1000 (Socorex), *blue tip*, *yellow tip*, *microplate* 96-well, *Laminar Air Flow* (LAF), autoklaf, vortex, *ELISA reader* (Epoch Biotek),

2.2 Bahan

Antibiotik Ceftriazone, Senyawa rutin (Sigma Aldrich), aquadest, resazurin (Sigma Aldrich), Mueller Hinton *broth* Mueller Hinton *agar*, NaCl 0,9%, standar McFarland 0,5, DMSO (Sigma Aldrich), *water for injection*, alkohol 70%, bayclin.

2.3 Peremajaan Bakteri

Peremajaan kultur bakteri dilakukan dengan menyiapkan 5 mL media Mueller Hinton broth. Sebanyak 3–4 ose koloni bakteri diambil dari media padat, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi media Mueller Hinton broth. Selanjutnya, tabung reaksi divortex hingga bakteri tercampur merata dalam media. Setelah itu, tabung diinkubasi menggunakan inkubator shaker pada suhu 37°C dengan kecepatan 200 rpm selama 18–20 jam.

2.4 Pembuatan Suspensi Bakteri

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan menyiapkan 10 mL larutan NaCl 0,9% dalam tabung reaksi. Selanjutnya, sebanyak 100 µL kultur cair bakteri ditambahkan ke dalam larutan NaCl tersebut. Konsentrasi suspensi kemudian disesuaikan dengan standar McFarland 0,5. Apabila suspensi bakteri tampak lebih keruh dibandingkan standar McFarland, maka larutan NaCl ditambahkan sedikit demi sedikit hingga tingkat kekeruhan setara. Sebaliknya, apabila suspensi tampak lebih jernih, maka kultur cair bakteri ditambahkan secara bertahap hingga konsentrasinya sesuai dengan standar McFarland 0,5.

2.5 Pembuatan Larutan Ceftriaxone

Larutan ceftriaxone dibuat dengan konsentrasi awal 4 kali lebih tinggi dari konsentrasi uji. Sebanyak 2,048 mg ceftriaxone ditimbang dan dilarutkan dalam Mueller



Hinton broth yang telah dibuat 2 kali lebih pekat, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 2,048 mg/mL.

2.6 Pembuatan Larutan Senyawa Rutin

Selanjutnya, untuk menyiapkan larutan senyawa rutin, ditimbang sebanyak 6,144 mg rutin dan dilarutkan dalam 1,5 mL larutan DMSO 10% yang dicampurkan dengan media Mueller Hinton broth dua kali lipat konsentrasinya, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi awal sebesar 1,024 mg/mL. Setelah itu, ditimbang kembali senyawa rutin sebanyak 4,096 mg dan dilarutkan dalam 0,5 mL larutan DMSO 10% dalam media Mueller Hinton broth yang juga dua kali lebih pekat, sehingga dihasilkan larutan rutin dengan konsentrasi 2,048 mg/mL (delapan kali lebih pekat dibandingkan konsentrasi uji).

2.7 Uji Antibakteri Checkerboard

Uji aktivitas antibakteri kombinasi ceftriaxone dan senyawa rutin dilakukan dengan metode *checkerboard assay*. Checkerboard merupakan metode yang digunakan untuk menguji interaksi antara dua atau lebih agen antimikroba, seperti antibiotik atau senyawa lain, terhadap mikroorganisme. Teknik ini sangat berguna untuk menilai apakah kombinasi antibiotik memiliki efek sinergis, aditif, atau antagonistik (Septama and Panichayupakaranant, 2016).

Sebanyak 20 mL media Mueller Hinton broth dengan konsentrasi dua kali lebih pekat ditambahkan ke seluruh sumur pada *microplate* 96-well. Selanjutnya, sebanyak 100 μ L larutan rutin dengan konsentrasi 1,024 mg/mL ditambahkan ke baris A kolom 1 hingga 11. Untuk kolom 12 baris A, ditambahkan 100 μ L larutan rutin dengan konsentrasi 2,048 mg/mL. Pengenceran bertingkat kemudian dilakukan secara vertikal, yaitu dengan memindahkan 100 μ L larutan dari baris A ke baris B, dan dilanjutkan hingga baris G. Berikutnya, 100 μ L larutan ceftriaxone ditambahkan ke setiap sumur pada kolom 12 baris A hingga G. Dilanjutkan dengan pengenceran bertingkat secara horizontal, yaitu dengan memindahkan 100 μ L larutan dari kolom 12 ke kolom 11, dan seterusnya hingga kolom 2 baris A hingga G. Setelah itu, 100 μ L suspensi bakteri ditambahkan ke seluruh sumur. Sumur pada kolom 1 baris H digunakan sebagai kontrol pertumbuhan, sedangkan kolom 12 baris H digunakan sebagai kontrol steril. Seluruh *microplate* kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 18–20 jam. Setelah inkubasi, pertumbuhan bakteri diukur menggunakan pembaca ELISA (*ELISA reader*) pada panjang gelombang 600 nm. Untuk menilai viabilitas bakteri, ditambahkan larutan resazurin 0,1% sebanyak 10 μ L ke setiap sumur, lalu diinkubasi kembali selama 2–4 jam. Perubahan warna diamati sebagai indikator pertumbuhan: warna merah muda menunjukkan bakteri masih hidup, sedangkan warna biru menunjukkan bahwa bakteri tidak tumbuh pada konsentrasi tersebut.



2.8 Teknik analisis data

Nilai FIC Index (Fractional Inhibitory Concentration Index) digunakan untuk mengetahui efek interaksi antara dua agen antimikroba dalam suatu kombinasi, seperti sinergis, aditif, atau antagonistik. Nilai ini diperoleh dengan menjumlahkan nilai FIC masing-masing senyawa, yaitu (Meletiadis, dkk, 2010)

$$FIC\ Index = FIC_R + FIC_c = \frac{MIC\ R\ (kombinasi)}{MIC\ R\ (tunggal)} + \frac{MIC\ c\ (kombinasi)}{MIC\ c\ (tunggal)}$$

Rumus Perhitungan FIC Index

Keterangan :

R : Rutin

C : Ceftriaxone

$FIC \leq 0,5 \rightarrow$ efek sinergis

$0,5 < FIC \leq 1 \rightarrow$ efek aditif

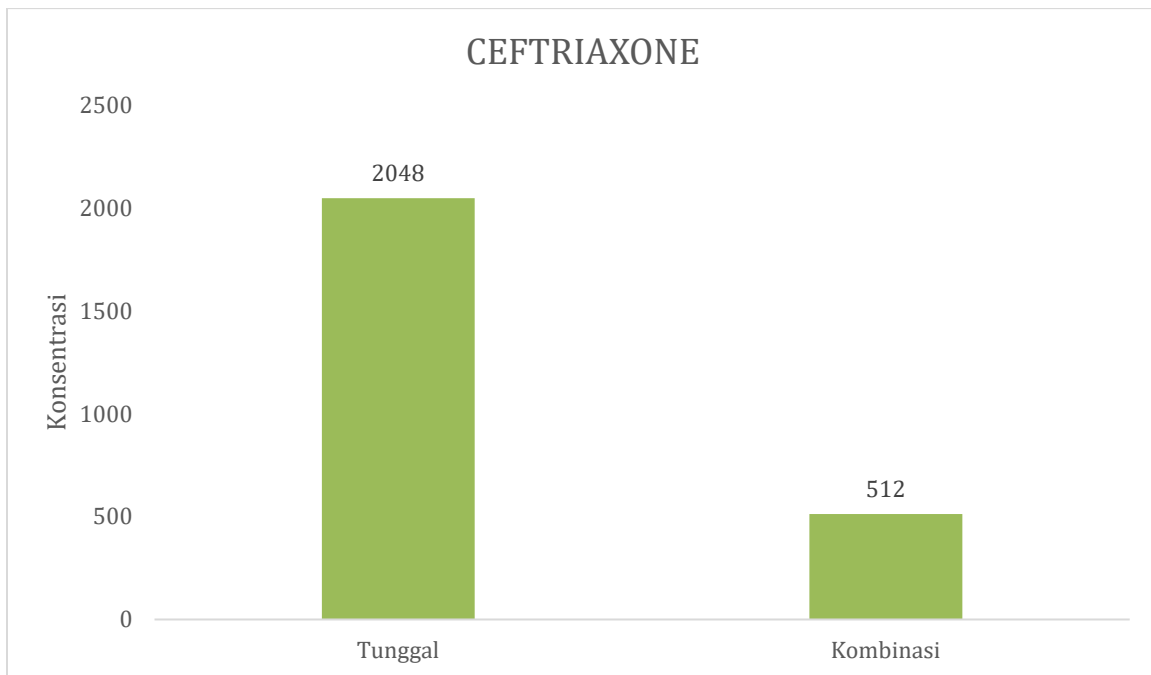
$FIC > 4 \rightarrow$ efek antagonistik

HASIL DAN PEMBAHASAN

Resistensi *Acinetobacter baumannii* terhadap Ceftriaxone

Acinetobacter baumannii merupakan patogen Gram-negatif oportunistik yang menjadi penyebab utama infeksi nosokomial, terutama pada pasien *imunokompromi* (Peleg A.Y., 2008). Antibiotik ceftriaxone adalah antibiotik yang termasuk dalam kelas sefalosporin generasi ketiga, menghambat produksi dinding sel bakteri, oleh karena itu obat ini efektif melawan infeksi yang disebabkan oleh bakteri gram positif dan gram negatif (Linggawati, 2017). Salah satu tantangan besar dalam penanganan infeksi oleh *Acinetobacter baumannii* adalah kemampuannya dalam membentuk resistensi terhadap berbagai kelas antibiotik, termasuk beta-laktam seperti ceftriaxone (Vázquez-López, dkk (2020). Resistensi terjadi melalui beberapa mekanisme seperti produksi β -laktamase, pengurangan porin, ekspresi pompa efluks, serta modifikasi target antibiotik (Lepe, J. (2022).





Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat *Acinetobacter baumannii* yang digunakan telah mengalami resistensi terhadap antibiotik golongan beta-laktam, terutama ceftriaxone. Resistensi ini ditunjukkan melalui nilai MIC tunggal ceftriaxone yang tinggi sebesar 2048 µg/mL, hal tersebut menunjukkan ketidakefektifan antibiotik tersebut dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Fenomena ini sejalan dengan laporan global WHO yang menyatakan bahwa *Acinetobacter baumannii* termasuk dalam kategori “critical priority pathogens” karena resistensinya terhadap berbagai antibiotik esensial, terutama carbapenem dan sefalosporin generasi ketiga. (Yehya, A., dkk,(2025)) Kondisi ini menyebabkan menurunnya konsentrasi antibiotik intraseluler yang berdampak pada kegagalan terapi empiris (Schlossberg, D. (2006).

Aktivitas Senyawa Rutin sebagai Suplemen Antibiotik

Senyawa rutin adalah flavonoid alami yang terdapat dalam berbagai tanaman seperti *Sophora japonica* dan *Fagopyrum esculentum* (Koja *et al*, 2018). Senyawa ini diketahui memiliki aktivitas antibakteri dan antioksidan, serta dapat meningkatkan efektivitas antibiotik tertentu melalui mekanisme sinergis (Chen *et al*, 2022). Senyawa rutin sendiri memiliki efek antibakteri lemah jika digunakan tunggal, sebagaimana terlihat dari nilai MIC tinggi terhadap *Acinetobacter baumannii* sebesar 1024 µg/mL. Namun, penelitian ini menunjukkan bahwa saat diberikan bersamaan dengan ceftriaxone, terjadi penurunan nilai MIC ceftriaxone. Uji sensitivitas antibiotik merupakan tes yang digunakan untuk menguji kepekaan suatu bakteri terhadap antibiotik.





Analisis Kombinasi Ceftriaxone–Rutin berdasarkan FICI

Penelitian ini menggunakan metode mikrodilusi check board. Mikrodilusi adalah salah satu metode pengujian sensitivitas antimikroba yang paling dasar. Pengujian dilakukan menggunakan mikrodilusi untuk menentukan nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dan checkerboard assay untuk menganalisis interaksi antibiotik menggunakan nilai FICI (*Fractional Inhibitory Concentration Index*). Hasil Pengujian checkerboard dilakukan dengan menghitung nilai FIC Index (*Fractional Inhibitory Concentration Index*). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kombinasi ceftriaxone dan rutin memiliki efek aditif. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali, kemudian nilai FIC Index dihitung untuk mengetahui seberapa besar kemampuan kombinasi tersebut dalam menghambat pertumbuhan *Acinobacter baumannii*, menggunakan rumus FIC. Dari ilustrasi pada Gambar , diperoleh nilai FIC Index sebesar 0,75."

Kombinasi rutin dan ceftriaxone mampu menurunkan MIC masing-masing senyawa dibandingkan pemberian tunggal, namun penurunannya tidak cukup signifikan untuk dikategorikan sebagai efek sinergis ($FICI > 0.5$ hingga ≤ 1). Efek aditif yang dihasilkan mencerminkan bahwa rutin berperan sebagai penunjang aktivitas ceftriaxone, namun belum cukup kuat untuk memulihkan sepenuhnya sensitivitas *A. baumannii* terhadap ceftriaxone. Kombinasi rutin dan ceftriaxone tidak menyebabkan antagonisme, sehingga masih dapat dipertimbangkan sebagai pendekatan kombinasi terapi, meskipun perlu formulasi atau dosis yang lebih optimal.



Tabel 1. Hasil FIC kombinasi

A	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Pembacaan hasil uji mikrodilusi checkerboard dalam penelitian ini dilakukan menggunakan ELISA reader pada panjang gelombang 600 nm untuk mengukur kekeruhan (optical density/OD) sebagai indikator pertumbuhan bakteri. Metode ini memberikan data kuantitatif yang lebih akurat dibandingkan pengamatan visual semata. Semakin tinggi nilai OD, maka semakin tinggi pula jumlah bakteri yang tumbuh di sumur tersebut, dan sebaliknya.

Setelah inkubasi selama 18–20 jam, suspensi bakteri di setiap sumur mengalami perubahan kepadatan yang dapat diukur secara presisi. Untuk memastikan keandalan hasil dan memperjelas viabilitas bakteri, ditambahkan resazurin 0,01% sebagai pewarna indikator metabolik. Resazurin akan berubah warna dari biru menjadi merah muda apabila terdapat aktivitas metabolik sel bakteri yang hidup, sedangkan tetap biru jika tidak terjadi pertumbuhan.

Kombinasi penggunaan ELISA reader dan resazurin memungkinkan evaluasi yang lebih objektif terhadap efektivitas antimikroba dari kombinasi rutin dan ceftriaxone. Selain itu, metode ini juga sangat sensitif untuk mendeteksi perubahan kecil dalam pertumbuhan bakteri, yang sangat penting untuk analisis nilai MIC (Minimum Inhibitory Concentration) dan perhitungan FIC Index.

Keunggulan lain dari penggunaan ELISA reader adalah kemampuannya dalam membaca hasil dari seluruh sumur pada microplate 96-well secara simultan, sehingga mempercepat proses analisis dan mengurangi potensi kesalahan subjektif dalam pembacaan manual. Hal ini meningkatkan reproduibilitas dan reliabilitas data, terutama saat dilakukan pengulangan uji dalam jumlah banyak.

Berdasarkan hasil pembacaan menggunakan ELISA reader pada panjang gelombang 600 nm, diketahui bahwa nilai absorbansi tertinggi terdapat pada konsentrasi rutin rendah, yang mencerminkan pertumbuhan bakteri *Acinetobacter baumannii* yang optimal. Seiring dengan peningkatan konsentrasi rutin, terjadi penurunan nilai OD secara bertahap. Pada konsentrasi rutin mendekati 1024 µg/mL, terjadi penurunan signifikan



nilai absorbansi, yang dikonfirmasi dengan perubahan warna indikator resazurin menjadi biru. Hal ini menandakan bahwa pada konsentrasi tersebut, aktivitas metabolik bakteri telah terhambat sepenuhnya, dan bakteri tidak lagi mengalami pertumbuhan. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa nilai MIC dari rutin tunggal terhadap *Acinetobacter baumannii* berada pada kisaran 1024 µg/mL. Nilai MIC ini relatif tinggi, menunjukkan bahwa rutin memiliki aktivitas antibakteri lemah jika digunakan sendiri, namun tetap menunjukkan potensi sebagai agen adjuvan dalam kombinasi antibiotik

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa kombinasi antara antibiotik ceftriaxone dengan senyawa rutin mampu menurunkan nilai MIC terhadap *Acinetobacter baumannii* yang telah resisten. Nilai FIC Index sebesar 0,75 mengindikasikan bahwa kombinasi tersebut menghasilkan efek aditif, yaitu kedua senyawa bekerja sama memperkuat efek antibakteri, meskipun tidak mencapai sinergisme penuh. Rutin dapat berperan sebagai agen suplementer yang mendukung kerja ceftriaxone dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Meskipun demikian, perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengoptimalkan dosis, formulasi, dan memahami lebih lanjut mekanisme interaksi antara rutin dan ceftriaxone agar efek sinergis dapat tercapai dan terapi infeksi oleh *A. baumannii* yang resisten dapat lebih efektif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini tidak terlepas dari dukungan berbagai pihak, baik secara materi, fasilitas, maupun dorongan. Maka dari itu, pada kesempatan ini penulis dengan suka cita mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan.

DAFTAR PUSTAKA

- Acinetobacter baumannii* Resistance: A Real Challenge for Clinicians. *Antibiotics*, 9(4), 205. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9040205>
- Chen, X., Li, H., Zhang, B., & Deng, Z. (2022). The synergistic and antagonistic antioxidant interactions of dietary phytochemical combinations. *Critical reviews in food science and nutrition*, 62(20), 5658-5677.
- Koja, E., Ohata, S., Maruyama, Y., Suzuki, H., Shimosaka, M., & Taguchi, G. (2018). Identification and characterization of a rhamnosyltransferase involved in rutin biosynthesis in *Fagopyrum esculentum* (common buckwheat). *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 82(10), 1790-1802.
- Lepe, J. A., & Martínez-Martínez, L. (2022). Resistance mechanisms in Gram-negative bacteria. *Medicina Intensiva (English Edition)*, 46(7), 392-402 Peleg A.Y., Seifert H.,



- Paterson D.L. *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a successful pathogen. *Clin. Microbiol. Rev.* 2008;21:538–582. doi: 10.1128/CMR.00058-07).
- Schlossberg, D. (2006). Clinical approach to antibiotic failure. *Medical Clinics*, 90(6), 1265-1277.)
The intricacies of *Acinetobacter baumannii*: a multifaceted comprehensive review of a multidrug-resistant pathogen and its clinical significance and implications. *Frontiers in microbiology*, 16, 1565965. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1565965>).
- Vázquez-López, R., Solano-Gálvez, S. G., Juárez Vignon-Whaley, J. J., Abello Vaamonde, J. A., Padró Alonzo, L. A., Rivera Reséndiz, A., Muleiro Álvarez, M., Vega López, E. N., Franyuti-Kelly, G., Álvarez-Hernández, D. A., Moncaleano Guzmán, V., Juárez Bañuelos, J. E., Marcos Felix, J., González Barrios, J. A., & Barrientos Fortes, T. (2020).
- Yehya, A., Ezzeddine, Z., Chakkour, M., Dhaini, Z., Bou Saba, M. S., Bou Saba, A. S., Nohra, L., Nassar, N. B., Yassine, M., Bahmad, H. F., & Ghssein, G. (2025).

