

**EFEK KOMBINASI OBAT ANTIJAMUR, AMFOTERISIN B,  
VORIKONAZOL, DAN KASPOFUNGIN, TERHADAP  
*Aspergillus fumigatus* SECARA IN VITRO**

**NASKAH PUBLIKASI**



**Oleh:**

**NANDA PRIWITA RANJANI  
K 100100157**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA  
SURAKARTA  
2014**

**PENGESAHAN NASKAH PUBLIKASI**

**EFEK KOMBINASI OBAT ANTIJAMUR, AMFOTERISIN B,  
VORIKONAZOL, DAN KASPOFUNGIN, TERHADAP *Aspergillus  
fumigatus* SECARA *IN VITRO***

**Oleh:**

**NANDA PRIWITA RANJANI  
K 100100157**

**Dipertahankan di hadapan Penguji Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta  
Pada tanggal:**

**Mengetahui,  
Fakultas Farmasi  
Universitas Muhammadiyah Surakarta  
Dekan,**

**Azz Saifudin, Ph.D, Apt.**

**Pembimbing Utama**


**Pembimbing Pendamping**

**Ratna Yuliani, M.Biotech.St**


**Ika Trisharyanti DK, M.Farm., Apt.**

**Penguji:**

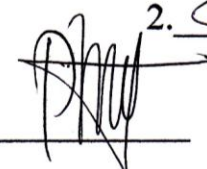
1. Dra.Nurul Mutmainah, M.Si., Apt.

1. 

2. Suprpto, M.Si., Apt.

2. 

3. Ratna Yuliani, M.Biotech.St.

3. 

4. Ika Trisharyanti D K, M.Farm., Apt.

4. 

**EFEK KOMBINASI OBAT ANTIJAMUR, AMFOTERISIN B,  
VORIKONAZOL, DAN KASPOFUNGIN, TERHADAP  
*Aspergillus fumigatus* SECARA IN VITRO**

**IN VITRO ANTIFUNGAL DRUG COMBINATION EFFECT,  
AMPHOTERICIN B, VORICONAZOLE, AND CASPOFUNGIN,  
AGAINST *Aspergillus fumigatus***

**Nanda Priwita Ranjani, Ratna Yuliani, Ika Trisharyanti Dian Kusumowati  
Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta**

**ABSTRAK**

*Aspergillosis yang telah menyebar (invasif) merupakan penyakit akibat alergi konidia Aspergillus fumigatus yang menyebabkan beberapa gejala infeksi pernafasan. Amfoterisin B sebagai terapi utamanya dilaporkan memiliki efek nefrotoksis. Resiko toksisitas dan biaya mungkin akan turun apabila amfoterisin B dikombinasikan dengan antijamur golongan lain. Penelitian in vitro ini dilakukan untuk menguji aktivitas antijamur tunggal dan kombinasi dengan parameter Kadar Hambat Minimal (KHM), Kadar Fungisidal Minimal (KFM), dan indeks interaksi. Uji aktivitas antijamur terhadap Aspergillus fumigatus konsentrasi  $1,5 \times 10^5$  CFU/mL dilakukan dengan pengenceran berseri metode macrobroth dilution selama  $\pm 72$  jam pada  $37^\circ\text{C}$ . Enam seri yang diujikan amfoterisin B, vorikonazol, kaspofungin, amfoterisin B dan vorikonazol, amfoterisin B dan kaspofungin, vorikonazol dan kaspofungin. Nilai KHM ditentukan dari konsentrasi terendah tanpa pertumbuhan jamur, KFM ditentukan dari petri dengan pertumbuhan  $< 3$  koloni, indeks interaksi dihitung dengan rumus tertentu. Nilai KHM amfoterisin B, vorikonazol, kaspofungin tunggal berturut-turut sebesar 2, 1, 64  $\mu\text{g/mL}$ , KFM-nya sebesar 2, 2, 128  $\mu\text{g/mL}$ . Nilai KHM amfoterisin B, vorikonazol, kaspofungin kombinasi berturut-turut sebesar 0,5, 1, 64  $\mu\text{g/mL}$ , KFM-nya sebesar 0,5, 1, 128  $\mu\text{g/mL}$ . Efektivitas antijamur kombinasi lebih baik dibanding tunggalnya. Interaksi amfoterisin B dengan vorikonazol maupun kaspofungin bersifat subaditif, vorikonazol dengan kaspofungin memiliki aktivitas berbeda.*

**Kata kunci:** *Aspergillus fumigatus, amfoterisin B, vorikonazol, kaspofungin, indeks interaksi*

**ABSTRACT**

*The spread aspergillosis (invasive) is an allergic disease caused by Aspergillus fumigatus conidias which gives several breathing infection symptoms. Amphotericin B as primary drug therapy had been reported have nephrotoxicity effect. Risk of toxicity and cost therapy maybe reduced if amphotericin B combined with another antifungal classes. This in vitro research had examined effect of single and combination antifungal drugs which used Minimum Inhibitory Concentration (MIC), Minimum Fungicidal Concentration (MFC), and interaction index parameters. Antifungal activity test of Aspergillus fumigatus with concentration  $1,5 \times 10^5$  CFU/mL do with series dilution of macrobroth dilution method in  $\pm 72$  hours at  $37^\circ\text{C}$ . The six series tested amphotericin B, voriconazole, caspofungin, amphotericin B and voriconazole, amphotericin B and caspofungin, voriconazole and caspofungin. The MIC determined from the lowest concentration of no growth fungal hyphae, the MFC determined from petri to yield less than 3 colonies, the interaction index calculated with certain formulas. The MIC of single amphotericin B, voriconazole, caspofungin were 2, 1, 64  $\mu\text{g/mL}$  respectively, the MFC were 2, 2, 128  $\mu\text{g/mL}$  respectively. The MIC of combination amphotericin B, voriconazole, caspofungin were 0,5, 1, 64  $\mu\text{g/mL}$  respectively, the MFC were 0,5, 1, 128  $\mu\text{g/mL}$  respectively. The effectivity of antifungal combination better than single antifungal. The combination of amphotericin B either with voriconazole or caspofungin has subaditive effect, voriconazole and caspofungin has different activity.*

**Keywords:** *Aspergillus fumigatus, amphotericin B, voriconazole, caspofungin, interaction index*

## PENDAHULUAN

*Aspergillois pulmonary infection* merupakan salah satu penyakit saluran pernafasan yang disebabkan oleh infeksi hifa jamur *Aspergillus fumigatus*. Infeksi dapat bertambah parah dan menjadi semakin susah diobati apabila terjadi resistensi jamur patogen penyebab penyakit terhadap obat. Umumnya infeksi ini baru diketahui ketika infeksi telah menyebar (invasif). Resistensi dapat disebabkan oleh banyak hal, salah satunya akibat penggunaan terapi antijamur primer, amfoterisin B, secara terus-menerus dalam jangka waktu panjang sebagai bentuk toleransi adanya penyebaran infeksi (Karthaus, 2011). Jenis sediaan emulsi lipoid amfoterisin B yang sering digunakan secara klinis memiliki resiko toksis ginjal dalam takaran dosis terapi yang besar dalam jangka waktu terapi yang panjang (Jawetz and Adelberg, 2007). Dari beberapa golongan baru antijamur yang muncul, terdapat dua golongan yang terbukti paling poten yaitu *echinocandin* dan azol. Terdapat beberapa jenis obat dalam tiap golongannya, namun secara *in vitro* hanya vorikonazol (golongan azol) dan kaspofungin (golongan *echinocandin*) yang terbukti paling poten terhadap infeksi akibat *Aspergillus fumigatus* (Mellado *et al.*, 2011, Fortu' n *et al.*, 2009). Secara klinis, vorikonazol dan kaspofungin memiliki efek samping dan takaran dosis terapi yang lebih baik sehingga vorikonazol dan kaspofungin kini digolongkan menjadi obat terapi primer untuk infeksi beberapa *Aspergillus sp.*

Dari beberapa survei yang telah dilakukan, masalah yang sering muncul dari kasus infeksi aspergillois ini yaitu masih tingginya akumulasi biaya yang dikeluarkan akibat diagnosis yang terlambat serta lama terapi yang panjang untuk mengobati aspergillois invasif (Ellis *et al.*, 2006). Terapi menggunakan golongan antijamur baru yang lebih poten diharapkan dapat menurunkan tingkat kematian, lama terapi serta akumulasi biaya yang dikeluarkan. Pengobatan aspergillois kini dikembangkan kearah yang lebih rasional dengan cara kombinasi beberapa obat terapi primer. Pada penelitian *in vitro* hal ini dapat diungkapkan dengan indeks interaksi kedua obat hasil kombinasi yang memberikan kemampuan sinergisitas, antagonis, maupun aditif (Perea *et al.*, 2002, Siau and Kerridge, 1998, Manavathu *et al.*, 2003). Namun secara klinis potensi kombinasi tersebut diinterpretasikan dengan dosis penggunaan yang lebih minimal, sehingga toksisitas obat dan biaya pengobatan dapat ditekan (Karthaus, 2011, Maertens *et al.*, 2004, Njunda *et al.*, 2012).

Aktivitas obat tunggal maupun kombinasi terhadap *Aspergillus fumigatus* dilakukan dengan mengevaluasi nilai KHM, KFM, dan interaksi antar antijamur (Winn and

Koneman, 2006). Data aktivitas antijamur tunggal dari penelitian sebelumnya didapatkan rentang kadar KHM dan KFM dari tiap antijamur tunggal yang akan digunakan cukup berbeda satu sama lain. Amfoterisin B memiliki KHM 0,25 µg/mL dan KFM 1 µg/mL (Badiee *et al.*, 2012). Vorikonazol memiliki KHM 0,5 µg/mL dan KFM 0,5 µg/mL (Perea *et al.*, 2002, Oakley *et al.*, 1998). Kaspofungin memiliki KHM 32 µg/mL dan KFM >64 µg/mL (Perea *et al.*, 2002, Manavathu *et al.*, 2003). Manavathu (2003) dan Perea (2002) menyebutkan nilai KHM kombinasi vorikonazol dan kaspofungin berturut-turut yaitu 0,25 dan 16 µg/mL. Kombinasi amfoterisin B dengan kaspofungin maupun vorikonazol belum terdapat data dari penelitian terdahulu.

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat dan Bahan**

#### **Alat**

Alat-alat yang digunakan selama penelitian adalah sebagai berikut: autoklaf (MA 672), oven (Memmert), inkubator jamur (Memmert), *Laminar Air Flow (LAF) Cabinet* (CV.Srikandi Laboratory), mikroskop (CX21 Olympus), mikropipet (Soccorex), dan alat-alat gelas (Pyrex).

#### **Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan selama penelitian yaitu jamur *Aspergillus fumigatus* dari biakan murni media *Saboroud Dextrose Agar (SDA)* dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, media RPMI 1640 *broth* steril dari Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, dan media agar darah (*blood agar*) steril dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Negeri Sebelas Maret, vorikonazol (Sigma-Aldrich), kaspofungin (Sigma-Aldrich), amfoterisin B (Sigma-Aldrich), tween 20 steril, media *Saboroud Dextrose Agar (SDA)*, standard 0,5 McFarland, dan akuadestillata steril.

### **Jalannya Penelitian**

#### **Sterilisasi alat dan bahan**

Sterilisasi dilakukan terpisah berdasarkan ketahanan alat dan bahan yang akan disterilkan terhadap panas. Dalam penelitian ini, media SDA dan tween 20 disterilkan dengan uap panas bertekanan (autoklaf) pada suhu 121°C dan tekanan 1,05kg/cm<sup>2</sup> (15-20 psi) selama 15-20 menit. Alat-alat gelas seperti tabung reaksi, labu ukur, flakon, dan gelas Beaker disterilkan dalam oven suhu 170°C selama 1 jam.

### **Identifikasi secara mikroskopis dan makroskopis**

Identifikasi mikroskopis jamur *Aspergillus fumigatus* dilakukan dengan menggoreskan dengan tipis hifa jamur pada gelas obyek kemudian ditetesi *lactophenol cotton blue* sebelum dilihat dibawah mikroskop. Identifikasi morfologi jamur (makroskopis) dilakukan dengan mengamati koloni *Aspergillus fumigatus* yang tumbuh pada media kultur. Pengamatan dilakukan terhadap identitas morfologi yang khas dimiliki oleh jamur berfilamen ini (Ellis and Herman, 2003).

### **Pembuatan subkultur jamur**

Subkultur dilakukan dengan penumbuhan dan pemeliharaan konidia jamur *Aspergillus fumigatus* pada media *Saboroud Dextrose Agar* (SDA) steril. Konidia jamur *Aspergillus fumigatus* diambil dengan menggoreskan ujung ose steril pada induknya. Ujung ose dengan konidia jamur tersebut kemudian digoreskan ke permukaan media untuk subkultur. Penumbuhan dan pemeliharaan subkultur dilakukan dengan inkubasi selama 2-3 hari dalam inkubator suhu 37°C (Badiee *et al.*, 2012).

### **Pembuatan suspensi jamur**

Konidia jamur diambil dengan ujung ose yang sebelumnya telah dibasahi tween 20 steril kemudian diencerkan dengan beberapa volume akuadestillata steril hingga didapatkan kekeruhan yang sebanding dengan standard 0,5 Mc.Farland. Suspensi jamur lalu diencerkan 1000 kalinya sehingga diperoleh konsentrasi akhir  $1,5 \times 10^5$  CFU/mL dari konsentrasi 0,5 Mc.Farland sebelumnya  $1,5 \times 10^8$  CFU/mL (Ingroff *et al.*, 2007, Kuzucu *et al.*, 2004). Pengenceran dilakukan dengan mengambil tepat 10  $\mu$ L suspensi jamur konsentrasi  $1,5 \times 10^8$  CFU/mL kemudian diencerkan dengan akudestillata steril hingga volume 10 mL dalam labu takar steril.

### **Pembuatan larutan stok antijamur**

Pelarut yang digunakan untuk membuat larutan stok antijamur yaitu akudestillata steril. Kaspofungin dan vorikonazol dilarutkan dan diencerkan dengan akuadestillata steril hingga didapatkan volume stok masing-masing 5 mg/10 mL (Manavathu *et al.*, 2003). Amfoterisin B juga dilarutkan dan diencerkan dengan akuadestillata steril hingga didapatkan volume stok 50 mg/10 mL. Seluruh larutan stok dibuat dengan kondisi aseptis dan disimpan pada almari pendingin dan terlindung dari cahaya (Oakley *et al.*, 1998). Stok amfoterisin B kedua yang dibuat yaitu 50 mg/ 5 mL kemudian dibuat ke dalam larutan stok

kedua dengan cara diambil tepat 4  $\mu\text{L}$  dari larutan stok awal kemudian diencerkan dengan akuadestillata steril hingga volume 10 mL sehingga diperoleh stok antijamur kedua dengan konsentrasi sebesar 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Stok vorikonazol kedua yang dibuat yaitu 5  $\text{mg}/\text{mL}$  kemudian dibuat ke dalam larutan stok kedua dengan cara diambil tepat 16  $\mu\text{L}$  dari larutan stok awal kemudian diencerkan dengan akuadestillata steril hingga volume 10 mL sehingga diperoleh stok antijamur kedua dengan konsentrasi sebesar 8  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Stok kaspofungin kedua yang dibuat yaitu 5  $\text{mg}/\text{mL}$  kemudian dibuat ke dalam larutan stok kedua dengan cara diambil tepat 1024  $\mu\text{L}$  dari larutan stok awal kemudian diencerkan dengan akuadestillata steril hingga volume 10 mL sehingga diperoleh stok antijamur kedua dengan konsentrasi sebesar 512  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Masing-masing larutan stok awal amfoterisin B, vorikonazol, dan kaspofungin digunakan untuk uji aktivitas antijamur tunggal dan kombinasi.

#### **Uji sensitivitas *Aspergillus fumigatus***

Uji aktivitas yang akan dilakukan dalam penelitian ini meliputi pengujian tunggal dan kombinasi antijamur amfoterisin B, vorikonazol, dan kaspofungin yang digunakan terhadap *Aspergillus fumigatus*. Uji aktivitas dilakukan dengan metode *macrobroth dilution* menggunakan 7 tabung uji dan 2 tabung untuk kontrol pertumbuhan dan kontrol media. Pada tabung kontrol pertumbuhan diisi 1 mL RPMI 1640 dan 1 mL jamur, sedangkan pada tabung kontrol media diisi ke dalamnya 2 mL RPMI 1640. Penetapan KFM dari antijamur tunggal maupun kombinasi dilakukan dengan mengambil masing-masing 100  $\mu\text{L}$  dari beberapa tabung *macrobroth dilution* yang tidak terdapat pertumbuhan hifanya, kemudian diteteskan ke media agar darah dalam cawan petri steril. Inkubasi pada penetapan nilai KHM dan KFM dilakukan pada 37°C selama 72 jam sesuai dalam CLSI M38-A (Oakley *et al.*, 1998).

Pada uji aktivitas obat tunggal digunakan antijamur amfoterisin B, vorikonazol, dan kaspofungin dengan volume total tiap tabung 2 mL pada ketujuh tabung uji yang digunakan. Rentang kadar obat yang akan diujikan untuk uji aktivitas antijamur tunggal yaitu 0,03-2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  untuk amfoterisin B, 0,06-4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  untuk vorikonazol, dan 4-256  $\mu\text{g}/\text{mL}$  untuk kaspofungin. Rentang kadar obat untuk uji aktivitas kombinasi antijamur yaitu setengah dari masing-masing konsentrasi antijamur tunggal. Proses dan tahapan kerja yang dilakukan sama pada ketiga antijamur yang akan diujikan, baik untuk uji aktivitas antijamur tunggal maupun kombinasi. Perbedaan hanya terletak pada langkah pertamanya. Untuk uji aktivitas antijamur tunggal, langkah pertama 2 mL antijamur dari larutan stok

kedua dimasukkan ke dalam tabung uji 1. Untuk uji aktivitas antijamur kombinasi, langkah pertama 1 mL dari masing-masing antijamur yang dikombinasikan dari larutan stok kedua dimasukkan ke dalam tabung uji 1. Kedua, 1 mL media RPMI 1640 dimasukkan ke tabung 2-7. Ketiga, 1 mL dari tabung uji 1 diambil untuk dimasukkan ke tabung uji 2 lalu dihomogenkan, 1 mL dari tabung uji 2 yang telah homogen dimasukkan ke dalam tabung uji 3. Langkah tersebut dilakukan hingga tabung uji ke 7, kemudian 1 mL dari tabung uji 7 dibuang agar didapatkan volume awal 1 mL pada tabung uji 1-7. Keempat, 1 mL suspensi jamur konsentrasi  $1,5 \times 10^5$  CFU/mL dimasukkan ke tabung uji 1-7 kemudian dihomogenkan (Oakley *et al.*, 1998). Tabung yang telah homogen kemudian diinkubasi seluruhnya pada suhu 37°C selama 48-72 jam untuk kemudian dilakukan pengamatan adanya pertumbuhan hifa pada permukaan media tabung uji 1-7 (Therese *et al.*, 2006).

### **Tehnik Analisis**

Analisis data dilakukan terhadap nilai KHM, KFM, dan indeks interaksi antijamur kombinasi. Nilai KHM didapatkan dari tabung uji tanpa pertumbuhan hifa pada permukaan media *macrobroth dilution*. Penentuan nilai KFM antijamur tunggal dan kombinasi dilakukan dengan mengamati antijamur yang mampu membunuh 98% jamur yaitu tidak lebih dari tiga koloni *Aspergillus fumigatus* pada tiap petri (Oakley *et al.*, 1998). Angka indeks interaksinya diperoleh dari penghitungan dengan rumus tertentu kemudian dilakukan interpretasi. Dari hasil interpretasi tersebut kemudian dapat dibandingkan potensi fungistatik maupun fungisidal antijamur terhadap *Aspergillus fumigatus* masing-masing obat.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Identifikasi *Aspergillus fumigatus***

*Aspergillus fumigatus* diidentifikasi dengan dua cara, yaitu makroskopis dan mikroskopis.

### **Uji aktivitas antijamur**

Hasil pengamatan diperoleh dari 3 kali pengujian pada inkubasi  $\pm 72$  jam atau hari ke-3 suhu 37°C terhadap masing-masing seri *macrodilution* yang menunjukkan data sama pada tiap pengujiannya, baik pada nilai KHM maupun KFM. Adanya respon aktivitas amfoterisin B, vorikonazol, kaspofungin, dan kombinasinya terhadap *A. fumigatus*



ditunjukkan dengan adanya penghambatan pertumbuhan hifa jamur pada media. Respon kematian jamur dapat diidentifikasi dengan angka KFM masing-masing seri dilusi.

Tabel 1. Nilai KHM dan KFM antijamur tunggal

Antijamur	KHM ( $\mu\text{g/mL}$ )	KFM ( $\mu\text{g/mL}$ )
Amfoterisin B	2	2
Vorikonazol	1	2
Kasposfungin	64	128

Data hasil uji aktivitas amfoterisin B, vorikonazol, dan kasposfungin tunggal berupa nilai KHM dan KFM masing-masing obat disajikan pada Tabel 2. Dari data tersebut maka urutan aktivitas antijamur tunggal dari yang paling aktif, dilihat dari nilai KHM, yakni vorikonazol, amfoterisin B, dan kasposfungin. Urutan antijamur tunggal yang mampu membunuh 98% koloni *A. fumigatus* dari yang paling baik yaitu vorikonazol, amfoterisin B, dan kasposfungin. Vorikonazol dan amfoterisin B memiliki KFM yang sama sebesar 2  $\mu\text{g/mL}$ . Pada penelitian ini, walaupun vorikonazol dan amfoterisin B memiliki KFM sama namun vorikonazol mampu membunuh lebih baik dibandingkan amfoterisin B. Hal ini ditunjukkan oleh vorikonazol yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan koloni *A. fumigatus* lagi pada media agar darah, sedangkan amfoterisin B masih terdapat 1 koloni *A. fumigatus* yang tumbuh. Urutan aktivitas amfoterisin B, vorikonazol, dan kasposfungin tunggal sama dengan data hasil beberapa penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, walaupun kadar yang diujikan berbeda. Kadar amfoterisin B, vorikonazol, dan kasposfungin tunggal yang mampu menghambat maupun membunuh pada penelitian ini lebih besar daripada penelitian sebelumnya. Manavathu *et al* (2003) meneliti sensitivitas  $2 \times 10^4$  CFU/mL suspensi *A. fumigatus* dengan metode *microdilution* menyebutkan vorikonazol (0,25  $\mu\text{g/mL}$ ) sangat aktif menghambat dan membunuh *A. fumigatus* dibandingkan kasposfungin (32  $\mu\text{g/mL}$ ). Dengan metode uji yang sama, Perea *et al* (2002) menggunakan  $5 \times 10^4$  CFU/mL suspensi *A. fumigatus* menyebutkan KHM vorikonazol sebesar 0,5  $\mu\text{g/mL}$  dan kasposfungin sebesar 32  $\mu\text{g/mL}$ . Oakley *et al* (1998) menggunakan  $2 \times 10^3$  CFU/mL suspensi jamur dengan metode *macrodilution* menyebutkan KHM amfoterisin B sebesar 1  $\mu\text{g/mL}$  dan vorikonazol sebesar 0,5  $\mu\text{g/mL}$ . Pada penelitian ini, dengan suspensi jamur  $1,5 \times 10^5$  dan KHM amfoterisin B sebesar 2  $\mu\text{g/mL}$ , vorikonazol sebesar 1  $\mu\text{g/mL}$ , kasposfungin sebesar 64  $\mu\text{g/mL}$  belum terdapat data KFM masing-masing antijamur tunggal terhadap *A. fumigatus* yang pernah dilakukan sebelumnya.

Tabel 2. Nilai KHM dan KFM antijamur kombinasi

Antijamur	KHM ( $\mu\text{g/mL}$ )	KFM ( $\mu\text{g/mL}$ )
-----------	-----------------------------	-----------------------------

Amfoterisin B dan vorikonazol	0,5 dan 1	0,5 dan 1
Amfoterisin B dan kaspofungin	0,5 dan 64	1 dan 128
Vorikonazol dan kaspofungin	1 dan 64	2 dan 128

Data hasil uji aktivitas amfoterisin B dan vorikonazol, amfoterisin B dan kaspofungin, serta vorikonazol dan kaspofungin berupa nilai KHM dan KFM masing-masing kombinasi obat disajikan pada Tabel 3. Urutan aktivitas antijamur kombinasi dari yang paling aktif, dilihat dari nilai KHM, yakni kombinasi amfoterisin B dan vorikonazol, amfoterisin B dan kaspofungin, vorikonazol dan kaspofungin. Urutan antijamur kombinasi yang mampu membunuh 98% koloni *A. fumigatus* dari yang paling baik yaitu kombinasi amfoterisin B dan vorikonazol, amfoterisin B dan kaspofungin, vorikonazol dan kaspofungin. Nilai KHM amfoterisin B dan vorikonazol, amfoterisin B dan kaspofungin, vorikonazol dan kaspofungin lebih tinggi dengan data hasil beberapa penelitian yang telah dilakukan sebelumnya. Data hasil penelitian Manavathu *et al* (2003) menyebutkan vorikonazol tidak mempengaruhi aktivitas kaspofungin ketika keduanya dikombinasikan, namun tidak dicantumkan nilai KHM kombinasi keduanya. Perea *et al* (2002) menyebutkan mekanisme aksi keduanya ketika dikombinasikan akan saling mendukung penurunan stabilitas sel jamur yang kemudian dapat menyebabkan kematian. Data penelitiannya secara umum menunjukkan adanya efek sinergis dari kombinasi keduanya, namun pada KHM vorikonazol (0,25 µg/mL) dan kaspofungin (16 µg/mL) menunjukkan efek aditif ketika dikombinasikan. Pada penelitian ini, dengan suspensi jamur  $1,5 \times 10^5$  dan KHM masing-masing antijamur kombinasi seperti disebutkan di atas belum terdapat data KFM kombinasi antijamur terhadap *A. fumigatus* yang pernah dilakukan sebelumnya.

Aktivitas keenam seri antijamur yang diujikan terhadap *Aspergillus fumigatus* menunjukkan data yang berbeda-beda. Antijamur kombinasi lebih aktif terhadap *A. fumigatus* dibandingkan pada tunggalnya. Hal ini ditunjukkan dengan adanya penurunan kadar tiap antijamur yang mampu menghambat maupun membunuh jamur. Urutan aktivitas 6 seri antijamur yang diujikan terhadap *A. fumigatus* yaitu vorikonazol dan kaspofungin, amfoterisin B dan kaspofungin, amfoterisin B dan vorikonazol, kaspofungin, vorikonazol, amfoterisin B. Keenam seri antijamur yang dibuat menunjukkan pertumbuhan hifa jamur yang beragam satu sama lain, namun KHM dari tiap seri antijamur dapat diperoleh umumnya dari tabung pertama dan kedua seri dilusi yang dibuat untuk masing-masing obat. Pada penentuan nilai KFM-nya, koloni yang tumbuh pada tiap petri memiliki bentuk sirkular dengan diameter yang tidak sama satu sama lain. Koloni *A. fumigatus* yang dihambat oleh amfoterisin B tunggal merupakan yang paling besar dibanding 2 koloni

yang tumbuh pada petri berisi kombinasi amfoterisin B dan kaspofungin serta vorikonazol dan kaspofungin.

### Indeks interaksi antijamur kombinasi

**Tabel 3. Indeks interaksi hasil uji sensitivitas dan interpretasinya**

Tabung uji	KHM ( $\mu\text{g/mL}$ )	Indeks interaksi	Interpretasi
Amfoterisin B	2	–	–
Vorikonazol	1	–	–
Kaspofungin	64	–	–
Amfoterisin B dan vorikonazol	0,5 dan 1	1,25	Subaditif
Amfoterisin B dan kaspofungin	0,5 dan 64	1,25	Subaditif
Vorikonazol dan kaspofungin	1 dan 64	2	Aktivitas berbeda

Kadar minimal antijamur yang mampu menghambat maupun membunuh *A.fumigatus* dipengaruhi oleh mekanisme kerja masing-masing antijamur itu sendiri yang secara umum memiliki target aksi perusakan dinding sel jamur. Interaksi yang terjadi pada kombinasi amfoterisin B yang dilakukan pada penelitian ini menunjukkan hasil subaditif dengan vorikonazol maupun kaspofungin, sehingga akan dihasilkan efek dari penjumlahan keduanya walaupun rendah. Kee *et al* (1996) menjelaskan bahwa efek aditif yang mampu menghasilkan efek yang lebih baik dibanding efek sinergis maupun potensiasi kombinasi obat merupakan jenis efek aditif yang diinginkan. Oleh karena itu, efek subaditif kombinasi amfoterisin B dengan vorikonazol maupun kaspofungin, akan mampu meningkatkan efektivitas obat terhadap terapi aspergillosis invasif dengan menurunkan penggunaan kadar masing-masing antijamur menjadi lebih rendah walaupun secara *in vitro* efek gabungannya rendah. Dampaknya, efek samping dari penggunaan amfoterisin B secara besar-besaran akan menurun, biaya lebih ekonomis, dan diharapkan lama terapi akan lebih singkat. Kombinasi vorikonazol dan kaspofungin menunjukkan aktivitas yang berbeda satu sama lain. Ghannoum and Rice (1999) melaporkan bahwa amfoterisin B mampu menghambat pengikatan ergosterol dan kolesterol yang akan dibentuk menjadi dinding sel jamur, hampir sama dengan vorikonazol yang mampu memutus ikatan antar ergosterol pada dinding sel jamur. Kaspofungin mampu melakukan penghambatan non kompetitif enzim (1,3)-D-glukan sintase yang merupakan komponen esensial bagi sebagian besar jamur untuk membentuk dinding selnya. Dari hal tersebut di atas, kecil kemungkinan adanya target aksi dan mekanisme fungisidal maupun fungistatik yang sama dari kombinasi vorikonazol dan kaspofungin, terlihat dari hasil interpretasi interaksi antijamur pada Tabel 3. Keterangan ini didukung oleh Manavathu *et al* (2003) yang menyatakan bahwa masih belum bisa diprediksi dengan pasti mekanisme aksi dari beberapa golongan

antijamur yang dikombinasikan, walaupun kemungkinan didapati adanya aktivitas sinergis, aditif, maupun potensiasi antar golongan antijamur.

## KESIMPULAN

1. Efektivitas antijamur kombinasi amfoterisin B-vorikonazol, amfoterisin B-kaspofungin, vorikonazol-kaspofungin lebih baik dibandingkan antijamur tunggal amfoterisin B, vorikonazol, kaspofungin terhadap *Aspergillus fumigatus*.
2. Interaksi yang terjadi antara kombinasi amfoterisin B dengan vorikonazol maupun kaspofungin menghasilkan efek subaditif, sedangkan vorikonazol dan kaspofungin menghasilkan aktivitas berbeda satu sama lain ketika dikombinasikan.

## SARAN

Penelitian antijamur dengan metode *macrobroth dilution* akan didapatkan keberulangan data yang baik apabila suspensi jamur diukur dengan *haemocytometer*, agar kekeruhan jamur yang akan diuji benar seragam.

## DAFTAR PUSTAKA

- Badiee, P., Alborzi, A., Moeini, M., Haddadi, P., Farshad, S., Japoni, A., *et al.*, 2012, Antifungal Susceptibility of the *Aspergillus* Species by Etest and CLSI Reference Methods, *Archives of Iranian Medicine*, 15 (7)
- Ellis, M., Frampton, C., Joseph, J., Alizadeh, H., Kristensen, J., Hauggard, A. & Shammas, F., 2006, An open study of the comparative efficacy and safety of caspofungin and liposomal amphotericin B in treating invasive fungal infections or febrile neutropenia in patients with haematological malignancy, *Journal of Medical Microbiology*, 55, 1357–1365
- Fortu'n, J., Martin-Da 'Villa, P., Montejo, M., Munoz, P., Cineros, JM., Ramos, A., Arago'n, C., Blanes, M., Juan, M., Gavalda, J. & Linares, P., 2009, Prophylaxis With Caspofungin for Invasive Fungal Infections in High-Risk Liver Transplant Recipients, *Clinical And Translational Research*, 87 (3), 424-434
- Ghannoum, M. A. & Rice, L. B., 1999, Antifungal Agents: Mode of Action, Mechanisms of Resistance, and Correlation of These Mechanisms with Bacterial Resistance, *Clinical Microbiology Reviews*, 12 (4)
- Hilado, A. L. E., 2005, *Mold Pictures: Aspergillus fumigatus*, <http://www.mold.ph/aspergillus-fumigatus.htm> (diakses tanggal 29 Januari 2014)
- Ingroff, E., Skaggs, A., Iqbal, E., Pfaller, M.S., Rinaldi, M., Fothergill, A., *et al.*, 2007, Multicenter Evaluation of a New Disk Agar Diffusion Method for Susceptibility

- Testing of Filamentous Fungi with Voriconazole, Posaconazole, Itraconazole, Amphotericin B, and Caspofungin, *Journal of Clinical Microbiology*, 45 (6)
- Jawetz, M. & Adelberg, E., 2007, *Medical Microbiology*, USA, The Mc.Graw-Hill Companies Inc.
- Karthaus, M., 2011, Prophylaxis and Treatment of Invasive Aspergillosis with Voriconazole, Posaconazole, and Caspofungin, *European Journal of Medical Research*, 16, 145-152
- Kee, Joyce L. & Hayes, Evelyn R., 1996, *Farmakologi: Pendekatan Proses Keperawatan*, Jakarta, EGC
- Kuzucu, C., Rapino, B., Mc.Dermott, L. & Hadley, S., 2004, Comparison of the Semisolid Agar Antifungal Susceptibility Test with the NCCLS M38-P Broth Microdilution Test for Screening of Filamentous Fungi, *Journal of Clinical Microbiology*, 42 (3)
- Manavathu, E. K., Alangaden, G. J. & Chandrasekar, P. H., 2003, Differential activity of triazoles in two-drug combinations with the echinocandin caspofungin against *Aspergillus fumigatus*, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 51
- Maertens, J., Raad, I., Petrikkos, G., Boogaerts, M., Selleslag, D., Petersen, FB, *et al.*, 2004, Efficacy and Safety of Caspofungin for Treatment of Invasive Aspergillosis in Patients Refractory to or Intolerant of Conventional Antifungal Therapy, *Clinical Infectious Diseases*, 39
- Mellado, E., Alcazar-Fuoli, L., Cuenca-Estrella, M. & Rodriguez-Tudela, J.L., 2011, Role of *Aspergillus lentulus* 14- $\alpha$  Sterol Demethylase (Cyp51A) in Azole Drug Susceptibility, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55 (12), 5459–5468
- Njunda, A. L., Ewang, A. A., Kamga, L. H. F., Nsagha, D. S., Assob, J. C., Ndah, D. A., *et al.*, 2012, Respiratory Tract Aspergillosis in the Sputum of Patients Suspected of Tuberculosis in Fako Division-Cameroon, *Journal of Microbiology Research*, 2 (4), 68-72
- Oakley, K. L., Moore, C. B. & Denninga, D. W., 1998, In-vitro activity of voriconazole against *Aspergillus spp.* and comparison with itraconazole and amphotericin B, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 42
- Perea, S., Gonzales, G., Fothergill, A. W., Kirkpatrick, W. R., Rinaldi, M. & Patterson, T. F., 2002, In Vitro Interaction of Caspofungin Acetate with Voriconazole against Clinical Isolates of *Aspergillus spp.*, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46 (9)
- Siau, H. & Kerridge, A. D., 1998, The effect of antifungal drugs in combination on the growth of *Candida glabrata* in solid and liquid media, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 41
- Therese, K., Bagyalakshmi, R., Madhavan, H. & Deepa, P., 2006, In-Vitro Susceptibility Testing by Agar Dilution Method to Determine the Minimum Inhibitory Concentrations of Amphotericin B, Fluconazole and Ketoconazole Against Ocular Fungal Isolates, *Indian Journal of Medical Microbiology*, 24 (4)

Winn, W. C. & Koneman, E. W., 2006, *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, United States