

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

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).

Amfoterisin B (AMB) merupakan antijamur golongan polien spektrum luas yang umumnya digunakan sebagai pilihan utama infeksi jamur-jamur patogen, termasuk aspergillois, hingga sekarang. Jenis sediaan emulsi lipoid AMB yang sering digunakan secara klinis memiliki resiko toksis ginjal dalam takaran dosis terapi yang besar (Jawetz and Adelberg, 2007). Oleh karena itu, penggunaannya sebagai obat terapi utama aspergillois tentunya kurang efektif dan efisien akibat beberapa efek samping terapi AMB.

Seiring perkembangan obat, ditemukan golongan baru antijamur yang terbukti secara *in vitro* sangat poten terhadap infeksi aspergillois. 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 (VOR) dari golongan azol dan kaspofungin (CAS) dari golongan *echinocandin* yang terbukti paling poten terhadap infeksi akibat *Aspergillus fumigatus* (Mellado *et al.*, 2011, Fortu' n *et al.*, 2009). Secara klinis, VOR dan CAS memiliki efek samping dan takaran dosis terapi yang lebih baik. Sehingga, VOR dan CAS 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 aspergillosis invasif. Pengembangan pengobatan infeksi jamur oportunistik sistemik ke arah yang lebih rasional dan efektif dilakukan karena minimalnya efisiensi dan potensi AMB serta toksisitas obat standard tersebut yang hingga kini digunakan (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 aspergillosis kini dikembangkan ke arah yang lebih rasional dengan cara kombinasi beberapa obat terapi primer. Berbagai kombinasi yang telah dilakukan pada penelitian sebelumnya menunjukkan keberhasilan terapi dibanding pada penggunaan obat tunggalnya. 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).

Pada penelitian Oakley *et al* (1998) baru dilakukan penelitian terhadap sensitivitas *A. fumigatus* dengan AMB dan CAS tunggal metode *macrobroth dilution*, sehingga belum diketahui bagaimana interaksi keduanya apabila dikombinasikan. Perea *et al* (2002) dan Manavathu *et al* (2003) telah melakukan penelitian *in vitro* terkait interaksi antara VOR dan CAS yang dikombinasikan. Penelitian keduanya memberikan data bahwa terdapat penurunan konsentrasi kadar VOR dan CAS yang digunakan pada kombinasi dibandingkan pada tunggalnya. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas AMB, VOR, dan CAS tunggal maupun kombinasi terhadap *A. fumigatus*.

B. Perumusan Masalah

1. Manakah efektivitas antijamur yang lebih baik antara antijamur tunggal (AMB, VOR, CAS) dan antijamur kombinasi (AMB-VOR, AMB-CAS, VOR-CAS) terhadap *Aspergillus fumigatus*?

2. Bagaimanakah interaksi antar antijamur yang dikombinasikan?

C. Tujuan Yang Akan Dicapai

1. Mengetahui efektivitas yang lebih baik antara antijamur tunggal dengan antijamur kombinasi terhadap *Aspergillus fumigatus*
2. Menginterpretasi interaksi antar antijamur yang dikombinasikan.

D. Tinjauan Pustaka

1. *Aspergillus fumigatus*

Aspergillus fumigatus termasuk jamur oportunistik yang dapat menginfeksi salah satu atau semua dari organ tubuh manusia. Konidia jamur ini seringkali ditemukan di udara. Parasit endogen ini umumnya dapat menimbulkan penyakit pada manusia dengan sistem kekebalan yang terganggu (Jawetz and Adelberg, 2007).

a. Taksonomi

Berikut taksonomi *Aspergillus fumigatus*:

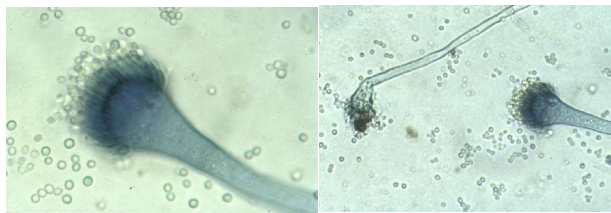
Superkingdom	: Eukariot
Kingdom	: Fungi
Filum	: Ascomycota
Subfilum	: Pezizomycotiana
Kelas	: Eurotiomycetes
Ordo	: Eurotiales
Keluarga	: Trichocomaceae
Genus	: <i>Aspergillus</i>
Spesies	: <i>Aspergillus fumigatus</i> (Mehrotra and Aneja, 1990)

b. Morfologi jamur

Spesies keluarga Eurotiaceae genus khas *Aspergillus* ini memiliki morfologi tertentu yang dapat diidentifikasi secara mikroskopik (Gambar 1) dan makroskopik. Pada umumnya, antar *Aspergillus sp.* dapat dibedakan satu dengan yang lain dari warna dan bentuk konidianya (Mehrotra and Aneja, 1990).

Perbedaan warna hifa pada tiap jamur inilah yang digunakan sebagai parameter karakterisasi yang khas dari tiap spesies *Aspergillus sp.* (Clark *et al.*, 1983).

Jamur berfilamen ini dapat secara jelas diamati dengan mikroskop dengan mewarnai konidia jamur menggunakan larutan *lactophenol cotton blue* yang sebelumnya telah ditetesi alkohol 70% ke dalamnya (Henrici, 1948, Clark *et al.*, 1983). Oleh karena itu, seringkali penampang mikroskopik *Aspergillus fumigatus* berwarna kebiruan.



<http://www.microscopy-uk.org.uk/>

Gambar 1. Pengamatan dengan mikroskop konidia jamur *Aspergillus fumigatus*.

c. Penyakit yang ditimbulkan

1) Aspergillosis

Aspergillosis didefinisikan sebagai suatu kelompok mikosis yang disebabkan oleh berbagai macam jamur patogen genus *Aspergillus*, salah satu jenisnya yang paling banyak menyebabkan infeksi jamur sistemik yaitu *Aspergillus fumigatus* (Jawetz and Adelberg, 2007). Infeksi sistemik ini umumnya dapat memperparah kondisi manusia yang terinfeksi apabila dalam kondisi kekebalan tubuh rendah, sehingga *Aspergillus fumigatus* tergolong jamur patogen oportunistik (Jawetz *et al.*, 1996). Konidia jamur ini akan tumbuh dengan baik pada salah satu bagian tubuh atau organ yang ditemelinya, umumnya dalam paru-paru, sebab *aspergillus* memiliki suhu optimum untuk tumbuh dan berkembang pada rentang $\pm 30^{\circ}\text{C}$, hampir sama dengan suhu tubuh normal manusia yaitu $36,5\text{-}37,2^{\circ}\text{C}$ (Pasanen, 1991).

2) Infeksi Pernafasan

Infeksi pernafasan yang seringkali ditimbulkan oleh alergi konidia jamur *Aspergillus fumigatus* yaitu batuk, sesak nafas, infeksi paru-paru (*allergic*

bronchopulmonary aspergillosis), dan rongga pernafasan yang seringkali menyebabkan sinusitis (Penelope and Kieren, 2006).

d. Terapi obat aspergillosis

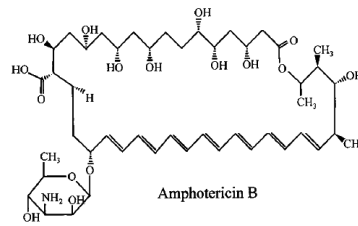
Amfoterisin B merupakan obat golongan polien yang paling banyak digunakan sebagai obat pilihan pertama yang efektif pada infeksi jamur berat dan beberapa mikosis sistemik (Reiss *et al.*, 2011). Obat ini mampu mengikat ergosterol membran sel jamur sehingga membran sel tidak terbentuk, selain itu juga dapat mengikat flusitosin dan analog pirimidin yang tidak memungkinkan membran sel dapat terbentuk dengan sempurna (Jawetz and Adelberg, 2007).

2. Antijamur

a. Amfoterisin B

Amfoterisin B (AMB) (Gambar 2) termasuk dalam golongan mayor polien dengan spektrum terapi luas. Polien makrolida konvensional ini memiliki 7 ikatan rangkap, termasuk ester di dalamnya, karboksil bebas, dan glikosida pada rantai sampingnya dengan kelompok amina primer (Walsh *et al.*, 2008). Mekanisme kerja AMB utamanya dengan mengikat ergosterol yang akan dibentuk menjadi dinding sel jamur. Amfoterisin B juga mengikat kolesterol dalam membran sel jamur, walaupun kemampuannya tidak sebesar dalam mengikat ergosterolnya. Hal ini menyebabkan disfungsi organ dalam sel jamur akibat pemutusan ikatannya oleh AMB, sehingga membran sel jamur tidak terbentuk yang menyebabkan kematian pada sel (Herbrecht *et al.*, 2007).

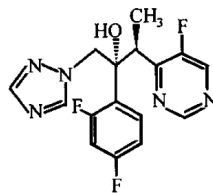
Penggunaan AMB secara luas selama beberapa tahun terakhir sebagai fungistatik dan fungisidal menyebabkan meluasnya tingkat resistensi *Aspergillus fumigatus* terhadap obat ini. Hal ini dibuktikan dengan lama terapi obat ini terhadap infeksi invasif aspergillosis yang semakin lama dengan dosis toleransi semakin tinggi (Ellis *et al.*, 2006) dengan resiko nefrotoksisitas dan hipokalemia akibat penggunaan AMB (Jawetz and Adelberg, 2007). Umumnya hal ini disebabkan karena lamanya terapi penyembuhan aspergillosis hingga mampu mematikan jamur penyebab penyakit (Karthaus, 2011).



Gambar 2. Struktur molekul AMB.

b. Vorikonazol

Vorikonazol (VOR) (Gambar 3) masuk dalam generasi kedua azol yang terbukti secara *in vitro* dan *in vivo* aktif melawan spektrum jamur yang luas, termasuk *Aspergillus fumigatus* (Manavathu *et al.*, 2003). Dari beberapa kasus aspergillosis, VOR memiliki aktivitas fungisidal juga fungistatik yang baik (Johnson *et al.*, 1998). Azol memiliki target aksi pada pengikatan ergosterol jamur (Ghannoum and Rice, 1999). Obat ini dilaporkan memiliki toksisitas rendah terhadap renal dengan bioavailabilitas baik di dalam tubuh (Linares *et al.*, 2005).

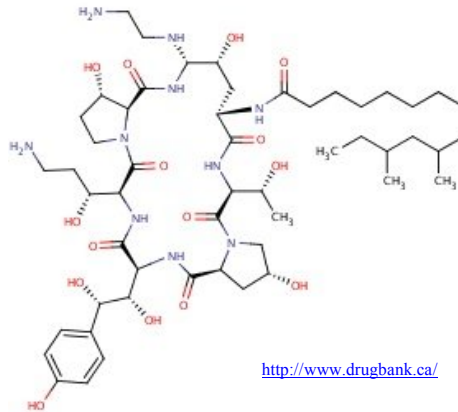


Gambar 3. Struktur molekul VOR.

c. Kaspofungin

Kaspofungin (CAS) (Gambar 4) merupakan golongan baru antijamur. Obat golongan *echinocandin* ini terbukti efektif menekan pertumbuhan *Aspergillus fumigatus* pada konsentrasi rendah disertai efek fungisidal walaupun sedikit. Kaspofungin merupakan derivat dari *pneumocandin Bo* (Manavathu *et al.*, 2003). Toksisitas obat ini dalam rentang terapi infeksi aspergillosis minimal (Maertens *et al.*, 2004).

Mekanisme kerja CAS dengan menghambat sintesis (1,3)-D-glukan pada dinding sel jamur, dengan penghambatan non kompetitif enzim (1,3)-D-glukan sintase yang merupakan komponen esensial bagi sebagian besar jamur



Gambar 4. Struktur molekul CAS.

untuk membentuk dinding selnya, termasuk *Aspergillus fumigatus*. Komponen inilah yang digunakan sebagai target obat baik sebagai fungisidal maupun fungistatik CAS (Ghannoum and Rice, 1999). Hasil uji *in vitro* CAS memberikan informasi bahwa efek fungisidal diperoleh dari penghambatan pembentukan dinding sel, sedangkan efek fungistatik dari perubahan integritas dinding sel jamur (Letscher-Bru and Herbrecht, 2003).

3. Metode uji sensitivitas antijamur

a. *Macrobroth dilution*

Metode *macrobroth dilution* seringkali dilakukan apabila terdapat beberapa fasilitas penelitian yang tidak tersedia di dalam laboratorium. Selain lebih mudah dan lebih murah dalam pengerjaannya, metode ini juga lebih mudah dikerjakan dibanding *microbroth dilution*. Utamanya untuk pengujian dengan volume besar dan jumlah sampel yang banyak (Therese *et al.*, 2006). Keuntungan lain menggunakan metode ini yaitu mempermudah pembacaan dan penentuan KHM (Kadar Hambat Minimal).

b. *Microbroth dilution*

Microbroth dilution merupakan metode yang direkomendasikan *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI) untuk menguji sensitivitas *Aspergillus fumigatus* terhadap beberapa obat antijamur, sesuai dalam referensi dokumen CLSI M38-A (Fothergill, 2012). Metode ini memiliki tahapan kerja yang hampir sama dengan *macrobroth dilution*. Perbedaan terdapat pada alat ujinya, yaitu dengan teknik *microbroth dilution* sering disebut sebagai *checkerboard analysis* (Badiee *et al.*, 2012).

c. *Disk diffusion*

Pada metode *disk diffusion* memungkinkan peneliti untuk mengatur sendiri konsentrasi kadar antijamur maupun antibiotik yang akan dimasukkan dalam disk (Therese *et al.*, 2006). Metode ini menggunakan media agar dalam cawan petri yang memerlukan kontrol suhu dan waktu inkubasi serta sterilitas dalam pengerjaannya (Siau and Kerridge, 1998).

d. *E-test*

E-test merupakan metode uji sensitivitas yang paling sederhana dari metode lain yang umumnya dipakai. *E-test* dibenamkan pada petri berisi media dan suatu jamur tertentu di dalamnya untuk kemudian diinkubasi selama beberapa waktu (Badiee *et al.*, 2012).

4. Interaksi antar antijamur

Data hasil penelitian Oakley *et al* (1998) terkait kombinasi vorikonazol dengan itrakonazol menunjukkan hasil yang sangat baik melawan pertumbuhan jamur *Aspergillus fumigatus* secara *in vitro*. Hasil tersebut ditinjau dari nilai KHM vorikonazol ketika dikombinasikan yaitu 0,5-1 µg/mL. Pada penelitian Manavathu *et al* (2003) terhadap kombinasi vorikonazol dengan kaspofungin menunjukkan hasil yang kurang baik, dibandingkan apabila vorikonazol dikombinasikan dengan ravukonazol. Sejauh yang diketahui peneliti, kombinasi antara amfoterisin B dengan vorikonazol maupun kaspofungin belum terdapat penelitian secara *in vitro* maupun kasus terapi yang menggunakan kombinasi amfoterisin B dengan vorikonazol maupun kaspofungin.

E. Landasan Teori

Sejak ditemukan beberapa golongan antijamur baru yang terbukti memiliki aktivitas lebih baik dibanding obat standard, AMB, kombinasi beberapa golongan antijamur mungkin dapat menghasilkan efek sinergis maupun aditif. Efek ini dinilai terhadap kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan jamur (fungistatik) dan kemampuannya dalam membunuh jamur (fungisidal). Semakin kecil nilai KHM dan KFM maka obat tersebut memiliki kemampuan yang baik sebagai agen antijamur.

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 (AMB) memiliki KHM 0,25 µg/mL dan KFM 1 µg/mL (Badiee *et al.*, 2012). Vorikonazol (VOR) memiliki KHM 0,5 µg/mL dan KFM 0,5 µg/mL (Perea *et al.*, 2002, Oakley *et al.*, 1998). Kaspofungin (CAS) memiliki KHM 32 µg/mL dan KFM >64 µg/mL (Perea *et al.*, 2002, Manavathu *et al.*, 2003). Manavathu *et al* (2003) dan Perea *et al* (2002) menyebutkan nilai KHM kombinasi VOR dan CAS berturut-turut yaitu 0,25 dan 16 µg/mL. Kombinasi AMB dengan CAS maupun VOR belum terdapat data dari penelitian terdahulu.

Perea *et al* (2002) dan Manavathu *et al* (2003) meneliti kombinasi VOR dan CAS, dengan hasil penelitian yang berbeda pada nilai KHM dan interpretasi interaksi antara VOR dan CAS. Nilai KHM VOR dari data keduanya hampir sama, yaitu 0,25 µg/mL sedangkan CAS berbeda yaitu 16 µg/mL (Perea *et al*, 2002) dan 32 µg/mL (Manavathu *et al*, 2003). Terdapat beberapa perbedaan dari beberapa hasil penelitian yang telah ada terkait efek kombinasi VOR-CAS. Oleh Perea *et al* (2002) kombinasi VOR dan CAS dinyatakan memiliki efek sinergis. Hal tersebut diprediksikan akibat pengaruh mekanisme aksi yang berbeda dari VOR maupun CAS.

F. Hipotesis

1. Antijamur kombinasi memiliki efektivitas lebih baik dibandingkan antijamur tunggal terhadap *Aspergillus fumigatus*
2. Interaksi yang terjadi dari kombinasi AMB-VOR, AMB-CAS, dan VOR-CAS diprediksikan memiliki efek sinergis.