

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Candida albicans*

2.1.1 Taksonomi *Candida albicans*

Berdasarkan *Catalogue of life* (2013), taksonomi dan penamaan

Candida albicans ialah sebagai berikut:

Kingdom	: Fungi
Phylum	: Ascomycota
Subphylum	: Saccharomycotina
Class	: Saccharomycetes
Ordo	: Saccharomycetales
Familia	: Saccharomycetaceae
Genus	: <i>Candida</i>
Spesies	: <i>Candida albicans</i>

2.1.2 Karakteristik dan Morfologi *Candida albicans*

Candida albicans adalah organisme *dimorphic*, artinya *Candida albicans* mempunyai beberapa morfologi yang berbeda menyesuaikan dengan kondisi lingkungan. Morfologi tersebut adalah *budding yeast cells (blastospores)*, *pseudohyphae*, *true hyphae*. *Blastospore* adalah bentuk *unicellular* dari jamur yang dapat membelah diri menjadi tunas baru. Proses pembentukan tunas baru ini melibatkan pertumbuhan material sel baru dari permukaan *blastospore*. Tunas baru biasanya berkembang pada bagian kutub dan menginisiasi fase pertumbuhan. Kemudian, dilanjutkan dengan proses pembelahan nukleus dan

septum terbentuk diantara induk dan sel anak. Selanjutnya dua sel unit terpisah dan terbentuk *blastospore* baru. *Hypha* adalah bentukan mikroskopik seperti tabung memanjang yang terdiri atas beberapa unit sel jamur yang dipisahkan oleh septa. Pembentukan *germ tube* adalah fase awal pada transisi *yeast-hypha*. *Blastospore* membentuk material seluler baru dalam bentuk silinder yang disebut *germ tube* yang akan tumbuh secara berlanjut melalui pemanjang *distal pole* selnya. Pembelahan sel secara mitosis muncul dalam hifa yang memanjang dan septa terbentuk di sepanjang *hyphae*. *Hyphae* dapat terbentuk sebagai cabang dari hifa yang telah ada atau melalui germinasi spora. *Mycelium* adalah seluruh sel jamur termasuk hifa dan cabang cabangnya (Sudbery, 2004).

Beberapa faktor lingkungan mempengaruhi pembentukan hifa yaitu suhu 37–40°C, pH 7.0 dan konsentrasi blastospora awal tidak melebihi 10⁶/ml. Termasuk juga *N-acetyl-D-glucosamine*, asam amino, biotin, sulfhydryl compounds, heme group, zinc, dan serum. Produksi *germ tube* di serum menjadi metode yang dipilih dalam mengidentifikasi *Candida albicans* pada spesimen klinis (Uwamahoro, 2010).

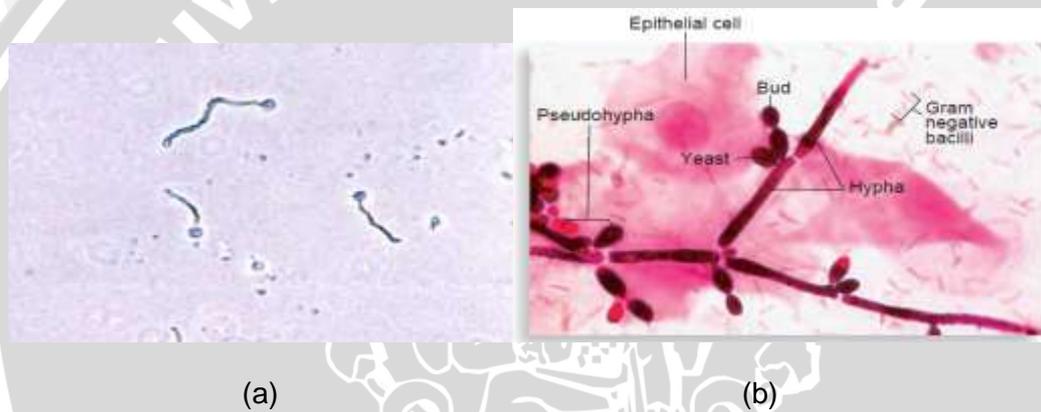
2.1.3 Identifikasi *Candida albicans*

2.1.3.1 Pewarnaan Gram

Pada pemeriksaan mikroskopis dengan pengecatan gram, ditemukan gambaran *candida albicans*, sebagai berikut, *yeast*, berbentuk oval dengan ukuran 4-6 µm, dan berdinding sel tipis (Kayser *et al.*, 2003; Vazquez and Sobel, 2003). Sering ditemukan pseudohifa gram positif dan kadang *mycelia* berseptata (Kayser *et al.*, 2003).

2.1.3.2 Uji produksi *Germ Tube*

Germ tube merupakan istilah untuk menyebut proyeksi hifa pada awal siklus sel sebelum septasi (Suzuki *et al.*, 2000). Cara cepat identifikasi *Candida albicans* bisa dilakukan dengan uji produksi *germ tube*, walaupun tidak spesifik (Vazquez and Sobel, 2003). Uji ini dilakukan dengan cara, menumbuhkan jamur dalam serum pada suhu 37° C dan mengamati pertumbuhan proyeksi kecil dinding sel yang berkembang setelah masa inkubasi, sekitar 60-90 menit (Forbes *et al.*, 2007).



Gambar 2.1 Karakteristik Mikroskopis *Candida albicans*. (a) *Germ tube* dari *Candida albicans* dengan perbesaran mikroskop 430x (b) *Yeast, hyphae, pseudohyphae* dari *Candida albicans* dengan pengecatan gram.

2.1.4 Komponen Dinding Sel *Candida albicans*

Dinding *Candida albicans* terdiri dari 90% karbohidrat dan 10% protein. Karbohidrat berfungsi utama dalam proses pengenalan antigen oleh sistem imun dan proteins mempunyai fungsi utama dalam proses adhesif dengan permukaan sel inang. Bagaimanapun juga, protein dinding sel juga berperan sebagai antigen dan oleh karena itu menjadi target vaksin, sebagai contoh protein *Als3*. *Polysaccharides* dari dinding sel *Candida albicans* terdapat dalam tiga bentuk utama di dinding sel yaitu *mannans*, β -*glucans* (β -1,3 *glucan* dan β -1,6 *glu-can*);

chitin atau *chitosan*. *Mannoproteins* membentuk lapisan terluar, sedangkan lapisan β -*glucan/chitin* terletak dibawah lapisan *mannoprotein*. *Mannan* terletak bebas di dinding sel. Protein dinding sel melekat pada β 1,3 *glucan*. *Chitin* dan β -1,3 *glucan* adalah polisakarida struktural pada dinding sel bagian dalam. Kedua molekul ini memberikan kekuatan dan bentuk pada dinding sel. Sebaliknya, *mannans* yang terletak di dinding terluar tidak berstruktur, namun memiliki permeabilitas yang rendah. Oleh karena itu, lapisan mannan mempengaruhi ketahanan dinding sel dan permeabilitas dinding sel terhadap obat antijamur, namun tidak mempengaruhi bentuk sel. Semua polisakarida dinding sel berkontribusi pada reaksi imunologis dari *Candida albicans*. *Chitin* dan *chitosan* juga berpartisipasi dalam pengenalan, aktivasi dan penguatan sistem imun (Gow and Hube, 2012).

2.1.5 Faktor Virulensi *Candida albicans*

2.1.5.1 Transisi Morfologi

Candida albicans mempunyai kemampuan untuk berganti bentuk dari yeast (*blastospore*) menjadi *pseudohyphae* dan *true hyphae*. Kemampuan ini mempunyai peran penting dalam proses infeksi. Sel *hyphae* berperan dalam invasi pada jaringan sedangkan sel yeast berperan dalam penyebaran patogen. Perubahan morfologi ini dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan seperti pH, temperatur, CO₂, nutrisi, serum, *N-acetyl-d-glucosamine* (Tsai, 2013).

2.1.5.2 Adhesins dari *Candida albicans*

Perlekatan *Candida albicans* pada sel dan jaringan inang merupakan langkah awal dalam proses infeksi *Candida*. Pada awalnya *Candida albicans*

berkoloni dan berproliferasi pada permukaan mukosa dari sel epitel. Kemudian diikuti dengan invasi, penyebaran patogen, dan kerusakan jaringan. Dinding *Candida albicans* mengandung beragam karbohidrat dan protein yang digunakan dalam perlekatan pada protein, epitel, dan endotel inang. Selain itu, *Candida albicans* dapat menempel pada komponen abiotik, seperti peralatan medis dan membentuk biofilms. Biofilm mempunyai kemampuan untuk menghindari pertahanan imun inang dan obat-obatan antijamur. Biofilm juga merupakan sumber infeksi yang akan terus menerus melepaskan sel *Candida albicans* pada tubuh inang. Beberapa molekul yang berperan dalam perlekatan *Candida albicans* pada inang antara lain *adhesins*, Hwp1, Eap1, and Int1. Hwp1 adalah protein utama pada dinding sel hifa dan dapat digunakan dalam perlekatan pada epitel inang. Hwp1 juga digunakan dalam pembentukan biofilm. Eap1 adalah protein pada dinding sel yang dibutuhkan dalam pembentukan biofilm dan perlekatan pada permukaan sel inang. Int1 adalah *integrin-like protein*, dimana delesi dari gen *int1* akan menurunkan kolonisasi *Candida albicans* pada epitel intestinal (Tsai, 2013).

2.1.5.3 Sekresi Enzim Hidrolitik

Enzim hidrolitik membantu *Candida albicans* dalam memperoleh nutrisi dan penyebaran dalam inang. Enzim ini juga dapat memodulasi respon imun inang dan menyebabkan kerusakan jaringan inang. Salah satu enzim hidrolitik adalah *Secreted aspartyl proteases* (Saps). Enzim Saps dikode oleh 10 gen Saps, SAP1-SAP10. Gen SAP ini diekspresikan secara berbeda pada tiap tipe sel *Candida albicans* yang berbeda dan pada tahap interaksi *Candida* dan inang. SAP1-3 dan SAP4-6 diekspresikan pada sel yeast dan hifa. SAP7

terdeteksi pada beberapa sampel klinis infeksi oral manusia dan SAP8 muncul pada infeksi vagina. SAP9 dan SAP10 diekspresikan baik pada sel *yeast* maupun *hyphae*. Sap1-3 proteins pada pH 3-5, sedangkan Sap4-6 aktif pada pH 5-7. Enzim ini membantu pathogen untuk menginfeksi beberapa tempat anatomis tubuh manusia. Sebagai contoh, Sap2 mempunyai kemampuan dalam mencerna albumin, hemoglobin, keratin, dan IgA. Sap2 mencerna protein menjadi *oligopeptida*. Oleh karena itu, Sap2 dan Sap lain berperan penting dalam pertumbuhan sel *Candida* dalam menggunakan protein tubuh inang sebagai sumber nitrogen *Candida albicans*. Degradasi protein manusia juga merusak barriers inang sehingga dapat mempermudah *Candida albicans* menginfeksi jaringan ataupun masuk sistem peredaran darah. Protein hidrolisis lain adalah *phospholipase* A-D (PLA, PLB, PLC and PLD) mampu menghidrolisis ikatan ester pada *glycerophospholipids* pada membran sel inang, dan berperan pada invasi jaringan. PLB adalah enzim *phospholipase* utama *Candida albicans*, dan mengandung aktivitas hidrolase dan lysophospho-lipaseetransacylase. Protein PLB mempunyai banyak substrat yang spesifik dan aktifitas hidrolase melepaskan *fatty acids* dari *phospholipids* dan *lysophospholipids* dengan cara menghidrolisis ikatan acyl ester. Selain Saps dan *phospholipases*, *Candida albicans* mengsekresi *serine peptidase* dan *lipases*. *Peptidase* mendegradasi protein serum manusia dan komponen matriks ekstraseluler, *lipases* menghidrolisis ikatan ester dari *mono-*, *di-*, dan *triacylglycerols* (Tsai, 2013).

2.1.5.4 Perubahan Fenotip

Perubahan fenotip membantu *Candida albicans* beradaptasi terhadap perubahan lingkungan pada tiap bagian anatomis tubuh inangnya. Penelitian

tentang sistem perubahan fenotip ini paling banyak diamati pada strain WO-1, yang dapat berubah antara koloni putih *hemispher* (W) dan koloni datar berwarna abu-abu (O). Perubahan W-O juga mengubah bentuk dan ukuran sel, kemampuannya dalam membentuk hifa, permukaan sel (seperti kemampuan melekat dan permeabilitas), komposisi membran, sekresi protease, pembentukan biofilm, sensitivitas pada *macrophage* dan antioksidan, antigenisitas, kepekaan obat, dan metabolisme (Tsai, 2013). Pada ginjal lebih banyak sel W yang berkoloni daripada sel O. Perubahan fenotip membantu *Candida albicans* bertahan hidup dalam inangnya membuat sel jamur lebih virulen dan efektif dalam proses infeksi.

2.1.5.5 Faktor Virulensi Lain

Faktor virulensi lain adalah kemampuan *Candida albicans* dalam memperoleh zat besi dari inangnya selama proses infeksi. Zat besi yang bebas yakni *lactoferrin* dan *transferrin* menghambat pertumbuhan sel dan membuat sel lebih mudah dirusak oleh neutrofil. Adhesin hifa Als3 membantu proses pengambilan zat besi dari ferritin inang, dan protein permukaan sel termasuk Rbt51 berperan dalam pengambilan zat besi dari hemin dan hemoglobin. Penelitian pada kultur dan sel biofilm mengindikasikan bahwa zat besi mempengaruhi resistensi obat *Candida albicans*. Sebagai contoh, pembatasan jumlah zat besi berkontribusi pada aktifitas antijamur *ciclopirox olamine*, antimikotik topical dari kelas *hydroxypyridone*. *Transporter siderophore* (Arn1) dibutuhkan untuk invasi dan penetrasi sel epitelial, dan kerusakan sel endothelial yang disebabkan oleh *Candida albicans* bergantung pada jumlah zat besi. Pada *Candida* mutan yang telah dihapus gen *high-affinity iron permease*

Ftr1 tidak mampu menyebabkan infeksi sistemik pada tikus, mengindikasikan bahwa pengambilan zat besi yang dimediasi oleh Ftr1 adalah faktor virulensi penting *Candida albicans* (Tsai,2013).

2.2 Bawang Merah

2.2.1 Taksonomi

Menurut *United State Departement of Agriculture* (2013), taksonomi dari bawang merah adalah sebagai berikut :

- Kingdom : Plantae
- Subkingdom : Tracheobionta
- Superdivision : Spermatophyta
- Division : Magnoliophyta
- Class : Liliopsida
- Subclass : Liliidae
- Order : Liliales
- Family : Liliaceae
- Genus : *Allium* L.
- Species : *Allium ascalonicum* L.



Gambar 2.2 Tumbuhan Bawang Merah (*Allium ascalonicum*)

2.2.2 Morfologi

Bawang merah merupakan tanaman semusim yang berbentuk rumput, berbatang pendek dan berakar serabut, tinggi dapat mencapai 15-20 cm dan membentuk rumpun. Akarnya berbentuk akar serabut yang tidak panjang. Bentuk daun tanaman bawang merah seperti pipa, yakni bulat kecil memanjang antara 50-70 cm, berlubang, bagian ujungnya meruncing, berwarna hijau muda sampai hijau tua dan letak daun melekat pada tangkai yang ukurannya relatif pendek. Pangkal daunnya dapat berubah fungsi seperti menjadi umbi lapis (Hapsoh dan Yaya Hasanah, 2011).

2.2.4 Kandungan Bawang Merah Dan Efek Antijamur

Zat-zat non gizi (fitokimia) yang terdapat dalam bawang merah yaitu *ascalin*, *diallyl sulfide* (*diallyl monosulfides*, *diallyl disulfides*, *diallyl trisulfides*), *flavone*, *flavonoid*, *polyphenol*, *selenium*, *furostanol saponins* (*ascalonicoside A1/A2*, *ascalonicoside B*), *quercetin*, *isorhametin* (Jaelani, 2007).

Pada tanaman spesies *Allium* telah banyak diketahui senyawa yang bermanfaat, seperti *alliin* dan *allicin* (Duke *et al.*, 2002; Josling, 2003), *allicepin* (Wang and Ng, 2003), *E/Z-ajoene*, *saponins* (Barile *et al.*, 2007), *steroids* (Ren *et al.*, 2010), *flavones* (Huma *et al.*, 2009), dan *polyphenolcarboxylic acids* (Pârvu *et al.*, 2010). Kualitas dan kuantitas dari senyawa fitokimia dari spesies *Allium* berbeda-beda tergantung spesiesnya (Fritsch and Keusgen, 2006; Vlase *et al.*, 2010).

Dari zat zat fitokimia tersebut bawang merah terbukti melalui beberapa penelitian mempunyai manfaat sebagai agen *hypoglycemic* (Jalal *et al.*, 2007), *hypocholesterolemic* dan *antioxidant* (Leelarungrayub *et al.*, 2006). Juga dilaporkan mempunyai aktifitas antijamur dan antibakteri (Amin and Kapadnis,

2005). Efek kesehatan dan antimikroba dari tanaman spesies *Allium* ini diyakini bergantung pada *diallyl sulfides* termasuk *diallyl monosulfide* (DMS), *diallyl disulfide* (DDS), *diallyl trisulfide* (DTS) dan *diallyl tetrasulfide* (DTTS) yakni senyawa yang mengandung sulfur dari tanaman bawang merah (Kim *et al.*, 2004).

Aktivitas antijamur dari tanaman bawang merah berkaitan dengan kandungan polifenolnya yang tinggi. Beberapa polifenol yang terkandung dalam bawang merah adalah *phenolic acids*, *flavonoid*, dan *tannins*. Banyaknya jumlah *hydroxyl group* dari komponen fenol berperan dalam membunuh mikroorganisme (Chai *et al.*, 2000). Senyawa *phenol* yang terdapat dalam umbi bawang merah adalah *furostanol saponin* (*ascalonicoside A1/A2* dan *ascalonicoside B*), *quercetin* dalam kadar besar, *isorhametin*, dan *glicoside* lainnya (Fattorusso *et al.*, 2002).

Penelitian oleh Leelarungrayub (2004) mengamati kadar senyawa phenol dan sulfur dari bawang merah dari beberapa macam metode ekstraksi, hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak heksan bawang merah mengandung senyawa phenol sebesar $5,413.62 \pm 62.97$ mg/kg, senyawa *diallyl disulfide* sebesar 325.5 ± 42.17 mg/g, *diallyl monosulfide* sebesar 169.5 ± 21.56 mg/g dan *diallyl trisulfide* 261.57 ± 12.98 mg/g sedangkan pada perasan bawang merah senyawa phenol sebesar $4,599.01 \pm 88.32$ mg/kg. Senyawa phenol dari *crude extract* bawang merah sebesar $4,086.37 \pm 84.54$ mg/kg. Penelitian lain Rattanaichaikunsopon (2009) mengamati bahwa dari minyak bawang merah mengandung senyawa *diallyl sulfide* sebesar 53.2% dengan komposisi *Diallyl monosulfide* 1.59%, *Diallyl disulfide* 24.66%, *Diallyl trisulfide* 16.08%, *Diallyl tetrasulfide* 10.88%.

Allicin mempunyai efek antibakteri (Cai *et al.*, 2007; Josling, 2003), antiviral, antitumor, *anticoagulant*, antihipertensi, *antiparasitic* dan *hepatoprotective effects* (Josling, 2003). Juga efisien terhadap beberapa spesies jamur patogen, seperti *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Candida albicans*, *Fusarium laceratum*, *Microsporium canis*, *Mucor racemosus*, *Penicillium sp.*, *Rhizopus nigricans*, *Saccharomyces sp.*, *Trichophyton granulosum* (Josling, 2003; Davis, 2005), *F. oxysporum* (Ogita *et al.*, 2006). *Allicin* terbukti mempunyai aktifitas antijamur terhadap *A. senescens ssp. montanum*, *A. niger*, *B. cinerea*, *B. paeoniae*, *P. gladioli*, and *F. oxysporum f. sp. tulipae*. Aktifitas antijamur dan antibakteri dari *allicin* berasal dari interaksinya dengan thiol grup dari protein dan asam amino, menghambat proses pembentukan ergosterol dengan mekanisme belum diketahui (Ogita *et al.*, 2007). Mekanisme antijamur lain adalah *allicin* memediasi produksi *lipoperoxide* pada plasma membran jamur sehingga meningkatkan permeabilitasnya (Horev-Azaria *et al.*, 2009). Lemar (2002) menambahkan, *allicin* juga berperan dalam menghambat succinate dehidrogenase.

Penelitian Wang *et al.* (2002) menggunakan *chromatography*, berhasil mengekstrak sebuah *polipeptida Ascalin* dari bawang merah yang tidak hanya mempunyai efek antijamur namun juga dapat memblokir HIV reverse transcriptase enzyme, *Ascalin* menghambat pertumbuhan *mycelium* dari jamur *Botrytis cinerea*. *Ascalin* juga menghambat *HIV-1 reverse transcriptase* lebih efektif jika dibandingkan dengan protein antijamur yang lain.

Parvu *et al.* (2011) mengamati efek antijamur *Allium senescens* dengan sebelumnya menghitung kadar *allin* dan *allicin* dalam ekstrak etanolnya diketahui bahwa mengandung 58.37 µg alliin/ml ekstrak dan 0.919 mg *allicin*/ml

ekstrak. Ekstrak tersebut mempunyai efek antijamur terhadap spesies *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, *B. paeoniae*, *Fusarium oxysporum f. sp. tulipae*, dan *Penicillium gladioli*, dengan kadar hambat minimum mulai 100 hingga 160 µl/ml.

Penelitian Amin (2004) mengukur kadar hambat minimal dan kadar bunuh minimal dari ekstrak segar, kering, dan ekstrak yang telah diautoklaf dari bawang merah terhadap beberapa spesies jamur. Untuk *Candida albicans* tercatat mempunyai kadar hambat minimal sebesar 5 mg/ml dan kadar bunuh minimal sebesar 10 mg/ml untuk ketiga jenis ekstrak.

2.3 Fluconazole

2.3.1 Definisi

Fluconazole adalah obat antijamur broad spectrum dari golongan triazole. *Fluconazole* mempunyai kelebihan dibandingkan obat dari golongan azole lainnya. Dibandingkan dengan ketoconazole, *fluconazole* lebih larut air sehingga dapat diberikan secara intravena pada pasien. Bioavailabilitas *fluconazole* mencapai 90% dan tidak dipengaruhi oleh pH lambung. *Fluconazole* dapat masuk ke dalam *cerebrospinal fluid* (CSF) dengan baik dengan kadar di dalam CSF mencapai 80% dari kadar dalam serum, ginjal adalah rute eliminasi utama obat dengan 70-80% obat diekskresikan melalui urine. *Fluconazole* relatif lebih aman bahkan hingga diberikan dengan dosis harian mencapai 1600 mg dan tidak berinterferensi dengan sintesis testosterone dan cortisol. *Fluconazole* lebih sedikit interaksi antar obatnya (Maertens, 2004).

2.3.3 Mekanisme Kerja

Fluconazole adalah *selective inhibitor* kuat pada cytochrome P-450 dependen enzyme lanosterol 14-alpha-demethylase. Fungsi enzim ini adalah untuk mengubah lanosterol menjadi ergosterol. Aktivitas fungistatis dari *fluconazole* berkaitan dengan hilangnya normal sterol yang diakibatkan oleh terakumulasinya 14-alpha-methyl sterol di dalam jamur. Aktivitas metilisasi dari *fluconazole* ini tidak sensitif terjadi di dalam sel mamalia (Sagent, 2009).

Fluconazole diabsorpsi hampir 100% dari *gastrointestinal tract*. Konsentrasi di plasma sama baik itu diberikan secara oral maupun secara intravena dan bioavailabilitasnya tidak terpengaruh makanan maupun asam lambung. Konsentrasi puncak di plasma adalah 4-8 µg/ml setelah *repetitive dose* 100 mg. Ekskresi melalui ginjal mencapai 90% eliminasi, dan *half time* eliminasinya adalah 25-30 jam. *Fluconazole* berdifusi dengan mudah ke cairan tubuh, termasuk ASI, sputum, dan saliva. Konsentrasi di CSF dapat mencapai 50%-90% dari konsentrasi di plasma (Goodman dan Gillman, 2011).

2.3.4 Aktivitas Antijamur

Fluconazole menunjukkan aktivitas antijamur pada beberapa strain mikroorganisme berikut secara *in vitro* maupun secara klinis *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Cryptococcus neoformans*. Berikut ini aktivitas antijamur *Fluconazole* yang telah terbukti secara *in vitro*, namun belum ada bukti secara klinis *Candida dubliniensis*, *Candida guilliermondii*, *Candida kefyr*, *Candida lusitanae* (Sagent, 2009).

Dari penelitian Sukmadewi (2013) diketahui bahwa kadar hambat minimal *fluconazole* terhadap *Candida albicans* adalah sebesar 400 µg/ml sedangkan kadar bunuh minimal sebesar 900 µg/ml.

2.3.5 Penggunaan Klinik

Fluconazole 200 mg pada hari pertama dan 100 mg setiap hari selama minimal 2 minggu efektif dosis untuk *candidiasis oropharyngeal*. Sedangkan untuk *candidiasis esophageal* dan *candidiuria* dapat menggunakan dosis 100-200 mg tiap harinya. *Vaginal candidiasis* tanpa komplikasi menggunakan dosis 150 mg *single dose*. 400 mg setiap hari untuk *deep candidiasis* pada pasien yang menerima transplantasi sumsum tulang dan bermanfaat untuk pasien *candidemia* dengan kondisi *immunocompromise*. *Fluconazole* mempunyai Kadar Hambat Minimal yang beragam terhadap *Candida albicans*, mulai dari 0.25 – 4 µg/ml. Kriteria resisten jika KHM ≥ 16 µg/ml (American Society of microbiology, 1998).

Fluconazole 400 mg tiap hari digunakan untuk 8 minggu pertama *treatment* pasien *meningitis cryptococcal* dengan AIDS setelah kondisi pasien secara klinis stabil dengan pemberian amphotericin B. Setelah 8 minggu, dosis diturunkan 200 mg tiap hari. (Goodman dan Gillman, 2011)

2.4 Uji Kepekaan Terhadap Antimikroba Secara *in Vitro*

2.4.1 Metode Dilusi Tabung

Prinsip dari metode dilusi, menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu sel mikroba yang diuji. Kemudian masing-masing tabung diisi dengan obat yang telah diencerkan secara serial.

Selanjutnya, seri tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada tabung. Konsentrasi terendah obat pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) adalah KHM dari obat. Selanjutnya, biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan dan keesokan harinya diamati ada atau tidaknya koloni mikroba yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni adalah KBM dari obat (Dzen *dkk.*, 2003).

2.4.2 Metode Dilusi Agar

Tes ini dikerjakan dengan menggunakan metode dilusi agar (*agar dilution test*). Larutan antimikroba yang sudah diencerkan secara serial dicampurkan ke dalam medium agar yang masih cair tetapi tidak terlalu panas, kemudian agar dibiarkan memadat, dan selanjutnya diinokulasi dengan bakteri. Dibutuhkan enam cawan dan satu cawan untuk kontrol positif tanpa antimikroba. Dengan metode ini, satu atau lebih bakteri yang terisolasi tercampur per cawan. Pada metode dilusi agar, diperlukan larutan antimikroba dengan kadar menurun yang dibuat menggunakan teknik pengenceran serial. Selanjutnya, diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Setelah diinkubasi, cawan diamati serta dihitung pertumbuhan bakteri (Forbes, 2007).

2.4.3 Metode Difusi Cakram

Prinsip dari metode ini adalah sebagai berikut. Obat dijenuhkan ke dalam kertas saring (cakram kertas). Cakram kertas yang menggunakan obat tertentu diletakkan pada media perbenihan agar padat yang telah diberi mikroba yang diuji, kemudian diinkubasikan 37°C selama 18-24 jam. Selanjutnya diamati

dengan area jernih sekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba. Untuk mengevaluasi hasil uji kepekaan tersebut, dapat dilakukan dua cara sebagai berikut :

Cara Kirby Bauer, yaitu dengan cara membandingkan diameter dari area (zona hambatan) di sekitar cakram dengan tabel standar yang dibuat oleh National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS). Dengan tabel ini dapat diketahui kriteria sensitif, sensitif intermediet, resisten.

Cara Joan-Stokes, yaitu dengan cara membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara mikroba kontrol yang sudah diketahui kepekaannya terhadap obat tersebut dengan isolat mikroba yang diuji. Pada cara Joan-Stokes, prosedur uji kepekaan untuk mikroba kontrol dan mikroba uji dilakukan bersama-sama dalam satu piring agar (Dzen *dkk.*, 2003).

