

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Bakteri

2.1.1. Definisi

Bakteri adalah sebuah kelompok mikroorganisme bersel tunggal dengan konfigurasi selular prokariotik (tidak mempunyai selubung inti). Bakteri sebagai makhluk hidup tentu memiliki informasi genetik berupa DNA, tapi tidak terlokalisasi dalam tempat khusus (nukleus) dan tidak ada membran inti. DNA pada bakteri berbentuk sirkuler, panjang dan biasa disebut nukleoid. DNA bakteri tidak mempunyai intron dan hanya tersusun atas ekson saja. Bakteri juga memiliki DNA ekstrakromosomal yang tergabung menjadi plasmid yang berbentuk kecil dan sirkuler.¹

2.1.2. Klasifikasi

Bakteri dapat diklasifikasikan dengan berbagai cara. Salah satu klasifikasi yang paling sering digunakan adalah dengan menggunakan pewarnaan gram. Pewarnaan gram adalah prosedur mikrobiologi dasar untuk mendeteksi dan mengidentifikasi bakteri. Pewarnaan gram ditemukan oleh H. C. J. Gram, seorang histologis berkebangsaan Denmark, pada tahun 1884. Prosedur pewarnaan gram dimulai dengan pemberian pewarna basa, kristal violet. Larutan iodine kemudian ditambahkan; semua bakteri akan terwarnai biru pada fase ini. Sediaan kemudian diberi alkohol. Sel gram positif akan tetap mengikat senyawa kristal violet-iodine sehingga berwarna biru, sedangkan gram negatif akan hilang warnanya oleh alkohol. Sebagai langkah terakhir, *counterstain* (misalnya safranin yang berwarna merah) ditambahkan sehingga sel gram negatif yang tidak berwarna akan mengambil warna kontras; sedangkan sel gram positif terlihat dalam warna biru keunguan (violet).² Perbedaan ini terjadi karena perbedaan penyusun peptidoglikan pada struktur dinding selnya. Berikut dipaparkan kedua macam golongan bakteri berdasarkan pewarnaan gram.

- **Bakteri Gram Positif**

Dengan pewarnaan gram, golongan bakteri ini akan memberikan warna ungu. Golongan ini memiliki peptidoglikan setebal 20-80 nm¹ dengan komposisi

terbesar *teichoic*, *asam teichuroni*, dan berbagai macam polisakarida.² Asam teichoat berfungsi sebagai antigen permukaan pada gram positif. Letaknya berada antara lapisan membran sitoplasma dan lapisan peptidoglikan. Selain itu, golongan ini memiliki 40 lembar peptidoglikan pada dinding selnya, yang merupakan 50% dari seluruh komponen penyusun dinding sel.² Polisakarida dan asam amino pada lembar peptidoglikan bersifat sangat polar, sehingga pada bakteri gram positif yang memiliki dinding sel yang sangat tebal, dapat bertahan dari aktivitas cairan empedu di dalam usus. Sebaliknya, lembar peptidoglikan rentan terhadap lisozim sehingga dapat dirusak oleh senyawa bakterisidal.¹

- **Bakteri Gram Negatif**

Golongan ini memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis (5-10 nm)¹ dengan komposisi utama: lipoprotein, membran luar dan lipopolisakarida.² Membran luar pada gram negatif juga memiliki sifat hidrofilik, namun komponen lipid pada dinding selnya justru memberikan sifat hidrofobik. Selain itu terdapat saluran khusus yang terbuat dari protein yang disebut *porins* yang berfungsi sebagai tempat masuknya komponen hidrofilik seperti gula dan asam amino yang penting untuk kebutuhan nutrisi bakteri.¹ Lipoprotein mengandung 57 asam amino yang merupakan ulangan sekuen 15 asam amino yang saling bertaut dengan ikatan peptida dengan residu asam diaminopimelat dari sisi tetrapeptida rantai peptidoglikan. Komponen lipidnya terdiri dari *diglyseride thioether* yang terikat pada sistein terminal. Lipoprotein merupakan komponen yang mendominasi dinding sel gram negatif dan berfungsi menjaga stabilitas membran luar dan tempat perlekatan pada lapisan peptidoglikan. Membran luarnya merupakan struktur *bilayer*; komposisi lembar dalamnya mirip dengan membran sitoplasma, hanya saja fosfolipid pada lapisan luarnya diganti dengan molekul lipopolisakarida (LPS).² Selain itu terdapat ruang antara membran dalam dengan membran luarnya yang disebut ruang periplasma, terdiri dari lapisan murein dan larutan protein mirip gel (protein pengikat substrat tertentu, enzim hidrolitik, dan enzim detoksifikasi).¹

LPS yang merupakan tempat perlekatan dinding sel gram negatif terdiri dari lipid kompleks yang disebut lipid A, dimana melekat polisakarida yang terangkai dengan pusat dan ujung dari unit pengulangan, inti polisakarida, dan

antigen O. LPS terikat pada membran luar dengan ikatan hidrofobik. LPS disintesis pada membran sitoplasma dan dibawa ke posisi akhir di sebelah luar.² Lipopolisakarida berfungsi sebagai antigen (antigen O pada rantai karbohidratnya) dan toksin (endotoksin yang berasal dari komponen lipid A).¹

2.1.3. Struktur

Semua bakteri, kecuali mycoplasma, selnya dikelilingi oleh dinding sel yang kompleks. Di sekitar dinding sel bisa ditemukan berbagai struktur eksternal yang melekat seperti kapsul, flagella, dan pili. Pengetahuan mengenai dinding sel ini penting dalam menegakkan diagnosis dan mendalami patogenisitas bakteri.¹

Peptidoglikan adalah polimer kompleks yang terdiri dari 3 bagian: *backbone*, yang terdiri dari N-asetilglukosamin dan asam N-asetilmuramat, secara berselang-seling yang dihubungkan oleh ikatan beta 1-4 glikosida; sekelompok rantai tetrapeptida identik yang melekat pada asam N-asetilmuramat; dan sekelompok *identical peptide-cross bridges*. *Backbone* pada semua bakteri adalah sama, namun rantai tetrapeptida dan *identical peptide-cross bridges* berbeda.²

Karbon nomor 3 pada asam N-asetilmuramat disubstitusi oleh gugus eter laktil yang merupakan turunan dari piruvat. Gugus eter laktil menghubungkan *backbone* dengan rantai samping peptida yang mengandung L-alanin (L-ala), D-glutamat (D-glu), asam diaminopimelat (DAP), dan D-alanin (D-ala). Untai peptidoglikan (atau murein pada teks lama) disusun di ruang periplasma dari 10 subunit asam muramat. Lalu untaian tersebut saling berhubungan membentuk molekul glikan yang kontinu yang dapat meliputi seluruh sel. Rantai tetrapeptida yang berasal dari *glycan backbone* dapat saling bersilang-silangan dengan ikatan interpeptida antara gugus amino bebas pada DAP dan gugus karboksil bebas pada D-ala terdekat. Penyusunan peptidoglikan pada bagian luar membran plasma dimediasi oleh enzim periplasma, yaitu transglikosilase, transpeptidase dan karboksipeptidase. Tempat ini merupakan sasaran antibiotik golongan β -laktam yang bekerja dengan cara menghambat transpeptidase dan karboksipeptidase selama pembentukan murein pada dinding sel.³

Glycan backbone dari molekul peptidoglikan dapat dipecah oleh enzim yang dinamakan lisozim yang ada di serum binatang, jaringan, dan sekret, serta di dalam lisosom fagosit. Fungsi lisozim adalah melisis sel bakteri sebagai pertahanan konstitutif melawan bakteri patogen. Beberapa bakteri gram positif sangat sensitif terhadap lisozim meskipun dalam konsentrasi yang sangat rendah. Sekresi lakrimal (air mata) dengan pengenceran 1:40.000 tetap memiliki kemampuan untuk melisis beberapa sel bakteri. Bakteri gram negatif kurang rentan untuk diserang oleh lisozim karena peptidoglikannya dilindungi oleh membran luar. Sasaran pemecahan oleh lisozim adalah di ikatan 1,4 antara asam N-asetilmuramat dan N-asetilglukosamin.³

2.1.4. Pertumbuhan dan Reproduksi

Semua bakteri berkembang biak melalui pembelahan biner (aseksual) dimana dari satu sel membelah menjadi dua sel yang identik. Beberapa bakteri dapat membentuk struktur reproduktif yang lebih kompleks yang memfasilitasi penguraian dua sel yang baru terbentuk. Contoh bakteri yang seperti itu antara lain *fruiting body formation* oleh *Myxococcus* dan *erial hyphae formation* oleh *Streptomyces*.

Pertumbuhan bakteri yang terkontrol akan melewati tiga fase yang berbeda. Kultur bakteri biasanya dimulai dengan inokulasi satu koloni bakteri ke dalam media cair. Segera setelah itu pertumbuhan bakteri masuk ke dalam fase pertama, yaitu *lag phase*. *Lag phase* adalah fase pertumbuhan lambat, yang disebabkan oleh kebutuhan bakteri untuk beradaptasi dengan lingkungannya untuk mencapai fase pertumbuhan cepat. *Lag phase* memiliki tingkat biosintetik tinggi sehingga enzim yang dibutuhkan untuk mencerna berbagai macam substrat dihasilkan dalam jumlah yang banyak. Fase kedua adalah *log phase* (fase logaritmik), dikenal juga dengan fase eksponensial, yang ditandai dengan pertumbuhan yang sangat cepat secara eksponensial. Tingkat dimana sel berkembang biak pada fase ini disebut sebagai *growth rate* (k). Waktu yang dibutuhkan sel untuk membelah diri menjadi dua bagian dalam fase ini disebut sebagai *generation time* (g). Selama *log phase*, nutrisi dicerna pada kecepatan maksimal sampai semuanya habis. Lalu, masuklah koloni tersebut ke dalam fase

ketiga, fase stasioner. Fase ini ditandai dengan habisnya nutrisi yang tersedia. Sel mulai menghentikan aktivitas metabolisme serta menghancurkan protein nonesensial yang mereka miliki. Fase stasioner merupakan masa transisi dari perkembangan yang sangat cepat menuju masa dormansi. Fase terakhir yang dilewati bakteri adalah fase penurunan. Setelah periode waktu pada fase stasioner yang bervariasi pada tiap organisme dan kondisi kultur, kecepatan kematian meningkat sampai mencapai tingkat yang tetap, sering kali setelah mayoritas sel mati kecepatan kematian menurun drastis sehingga sejumlah kecil sel yang hidup akan bertahan selama beberapa bulan atau tahun.²

2.2. Antibiotik

Kemoterapi menggunakan antimikroba dimulai pada tahun 1935, yaitu dengan penemuan sulfonamid. Pada tahun 1940, diketahui bahwa penisilin, yang ditemukan pada tahun 1929, dapat menjadi substansi terapeutik yang efektif. Selama 25 tahun kemudian, penelitian agen kemoterapi berkisar seputar substansi yang berasal dari mikroba yang dinamakan antibiotik. Antimikroba secara umum digunakan untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh bakteri.²

Antimikroba yang efektif secara klinis adalah yang menunjukkan toksisitas selektif. Maksud dari toksisitas selektif adalah antimikroba berbahaya bagi parasit namun tidak berbahaya bagi inangnya.² Toksisitas selektif terjadi karena obat-obatan antimikroba mengganggu proses atau struktur bakteri yang tidak ada pada sel mamalia. Sebagai contoh, beberapa agen antimikroba bekerja pada sintesis dinding sel bakteri, dan yang lainnya mengganggu fungsi ribosom 70 S pada bakteri tapi tidak pada ribosom eukariotik 80 S.⁴

Beberapa agen antimikroba, seperti penisilin dan aminoglikosida, dapat membunuh mikroorganisme yang peka terhadapnya tanpa bantuan imunitas humoral atau selular. Pada keadaan demikian antimikroba atau antibiotik tersebut memiliki aktivitas bakterisidal. Sedangkan agen lain, seperti sulfonamid dan tetrasiklin memiliki aktivitas bakteriostatik karena secara reversibel menghambat proses metabolisme penting bakteri dan proses pembunuhan organisme yang menginfeksi inang bergantung pada pertahanan tubuh inang sendiri.⁴

Ukuran aktivitas *in vitro* suatu agen antimikroba dalam melawan organisme adalah *minimum inhibitory concentration* (MIC) dan *minimum lethal concentration* (MLC). MIC adalah konsentrasi antibiotik paling kecil untuk dapat mencegah pertumbuhan organisme pada kondisi standar. Sedangkan MLC adalah jumlah paling sedikit untuk membunuh inokulum yang telah ditetapkan terlebih dahulu persinya (biasanya 99,9%) dalam waktu yang diberikan.⁴

2.2.1. Klasifikasi

Antimikroba dikelompokkan berdasarkan mekanisme kerjanya yang secara umum terdiri dari empat kelompok utama.^{2,4}

1. Penghambatan terhadap sintesis dinding sel

Dinding sel berisi polimer mukopeptida kompleks (peptidoglikan) yang secara kimia berisi polisakarida dan campuran rantai polipeptida. Polisakarida berisi gula amino *N-acetylglucosamine* (NAG) dan asam *acetylmuramic*. Yang disebut terakhir hanya ditemui pada bakteri. Pada gula amino melekat rantai peptida pendek. Kekerasan dinding sel disebabkan oleh hubungan saling silang rantai peptida sebagai hasil reaksi transpeptidasi yang dilakukan oleh beberapa enzim.

Semua obat β -laktam menghambat sintesis dinding sel bakteri dan oleh karena itu aktif melawan pertumbuhan bakteri. Langkah awal dari aksi obat berupa ikatan obat pada reseptor sel yang disebut *protein binding penicillin* (PBP). PBP berada di bawah kontrol kromosom dan mutasi dapat mengubah jumlahnya atau afinitasnya terhadap obat β -laktam.

Setelah obat β -laktam melekat pada satu atau beberapa reseptor, reaksi transpeptidasi dihambat dan sintesis peptidoglikan dihentikan. Langkah selanjutnya meliputi perpindahan atau inaktivasi inhibitor otolitik pada dinding sel. Hal ini mengaktifasi enzim lisis dan menghasilkan lisis pada lingkungan yang isotonik.

Kurang toksiknya obat-obat β -laktam terhadap mamalia disebabkan oleh tidak adanya dinding sel jenis bakteri dengan peptidoglikannya. Perbedaan kerentanan bakteri gram positif dan negatif pada berbagai penisilin atau

sefalosporin bergantung pada perbedaan struktur dinding sel mereka (contohnya jumlah peptidoglikan, keberadaan reseptor, aktivitas enzim otolitik) yang menentukan penetrasi, ikatan, dan aktivitas obat.

Contoh antimikroba dari kelompok ini adalah penisilin, golongan sefalosporin, vancomycin, dan sikloserin. Beberapa obat lain seperti basitrasin, teikoplanin, ristocetin, dan novobiocin, menghambat langkah awal dari sintesis peptidoglikan.⁴

2. Penghambatan terhadap fungsi membran sel

Sitoplasma semua sel hidup dibatasi oleh membran sitoplasma, yang berperan sebagai barrier permeabilitas selektif, membawa fungsi transpor aktif, dan kemudian mengontrol komposisi internal sel. Jika fungsi integritas membran sitoplasma dirusak, makromolekul dan ion keluar dari sel, kemudian sel rusak atau terjadi kematian. Membran sitoplasma bakteri mempunyai struktur berbeda dibanding sel binatang dan dapat dengan mudah dikacaukan oleh agen tertentu. Oleh sebab itu, kemoterapi selektif adalah hal yang memungkinkan. Contoh dari mekanisme ini adalah polimiksin pada bakteri gram negatif.²

Golongan polimiksin bekerja dengan merusak komponen membran sel bakteri secara selektif. Polimiksin mengandung peptida siklik yang menyerupai detergen yang dapat merusak membran yang mengandung fosfatidiletanolamin secara selektif. Selain itu sejumlah antibiotik juga mengganggu fungsi biosintetik membran sel, contohnya adalah novobiocin yang menghambat sintesis DNA dan menghambat sintesis asam teikoat. Mekanisme ketiga adalah *ionophore*, yaitu zat yang memungkinkan difusi cepat dari kation tertentu melalui membran. Sebagai contoh adalah valinomycin yang memediasi pengeluaran ion kalium. Contoh antimikroba lain yang bekerja dengan menghambat fungsi membran sel adalah amfoterisin B, colistin, dan imidazol.⁴

3. Penghambatan terhadap sintesis protein

Kebanyakan inhibitor translasi protein atau sintesis protein bereaksi dengan kompleks ribosom-mRNA. Walaupun sel manusia juga memiliki ribosom, ribosom pada eukariotik berbeda dalam ukuran dan struktur dari ribosom

prokariotik. Konsekuensi yang potensial terjadi pada penggunaan antimikroba ini adalah kerusakan ribosom mitokondria eukariotik yang mengandung ribosom yang sejenis dengan prokariotik. Dua target pada ribosom yang dapat diganggu adalah subunit 30S dan subunit 50S.⁵ Aminoglikosida, contohnya streptomisin, menambahkan aminoglikan pada reseptor protein spesifik pada subunit 30S mikrobial, kemudian aminoglikosida memblokir aktivitas normal pembentukan peptida, dan terakhir pesan mRNA salah dibaca pada daerah pengenalan ribosom sehingga pada akhirnya dihasilkan protein nonfungsional.² Tetrasiklin merintangikan penempelan tRNA pada situs penerimaan A dan secara efektif menghentikan sintesis lebih jauh. Antibiotik lain menempel pada subunit 50S dan mencegah pembentukan ikatan peptida dengan menghambat enzim peptidil transferase.^{2,5} Antimikroba lain yang menghambat sintesis protein adalah makrolid, linkomisin, tetrasiklin dan kloramfenikol.

4. Penghambatan terhadap sintesis asam nukleat

Selain itu, gangguan sintesis asam nukleat juga dapat disebabkan oleh inhibitor kompetitif, sebagai contoh sulfonamid dan trimethoprim. Sulfonamid adalah struktur yang analog dengan asam p-aminobenzoat (PABA) yang merupakan metabolit penting dalam pembentukan asam folat. Sulfonamid masuk ke dalam reaksi yang melibatkan PABA dan bersaing pada sasaran enzim yang aktif. Sebagai hasilnya, dibentuk asam folat analog yang nonfungsional, sehingga pertumbuhan bakteri tertekan. Trimethoprim memiliki struktur yang analog dengan bagian pteridine pada molekul asam folat. Trimethoprim secara selektif menghambat aktivitas dihidrofolat reduktase bakteri, yang mengkatalisis perubahan folat pada bentuk koenzim yang kurang aktif.⁴

2.2.2. Pemeriksaan Aktivitas Antimikroba in vitro

Aktivitas antimikroba diukur secara in vitro untuk menentukan potensi agen antibakteri terlarut, konsentrasinya pada cairan dan jaringan tubuh, dan mengetahui kerentanan mikroorganisme tertentu terhadap konsentrasi antimikroba tertentu.

Faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas antimikroba in vitro antara lain:

- pH lingkungan
Beberapa obat lebih aktif pada suasana asam dan sebaliknya
- Komponen dari medium yang digunakan
 - Media kultur darah menghambat aminoglikosida
 - PABA pada ekstrak jaringan merupakan antagonis sulfonamid
 - Penambahan NaCl pada medium dapat meningkatkan deteksi *Staphylococcus aureus* yang resisten metisilin.
- Stabilitas obat
- Ukuran inokulum
Semakin besar ukuran inokulum kepekaan mikroorganisme terhadap antibiotik semakin berkurang. Selain itu mutan resisten lebih cenderung muncul pada populasi yang lebih besar.
- Lama inkubasi
Semakin lama masa inkubasi pada uji aktivitas antimikroba in vitro, semakin tinggi kemungkinan munculnya mikroorganisme yang resisten.
- Aktivitas metabolisme mikroorganisme
Organisme yang aktif dan tumbuh lebih rentan dibandingkan dengan yang sedang dalam fase istirahat.

Untuk menentukan sensitivitas mikroorganisme patogen terhadap obat antimikroba dapat dilakukan dengan dua metode, yaitu metode dilusi dan difusi. Penggunaan kedua metode tersebut harus mengikuti metode yang sudah standard. Salah satu metode standard yang dapat digunakan adalah metode *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*.

- **Metode dilusi**
Metode ini menggunakan antimikroba dengan konsentrasi yang diencerkan secara serial, baik dengan media cair atau padat. Kemudian bakteri uji diinokulasi pada media dan diinkubasi. Melalui pemeriksaan cara dilusi ini dapat diperoleh konsentrasi hambat minimum atau *minimum inhibitory concentration (MIC)* yaitu konsentrasi terkecil yang masih

dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Batas akhir yang diambil adalah kadar dimana antimikroba terlarut menghambat atau membunuh bakteri dengan kadar terendah. Uji sensitivitas cara dilusi agar memerlukan waktu pengerjaan yang lama dan penggunaannya dibatasi pada keadaan tertentu saja. Uji sensitivitas dilusi menggunakan medium cair di dalam tabung reaksi, tidak praktis dan jarang dipakai, namun kini ada cara yang lebih sederhana dan banyak digunakan yaitu *microdilution plate*.

- **Metode difusi**

Metode difusi agar paling sering digunakan untuk mengetahui kepekaan suatu bakteri terhadap antibiotik. Cakram kertas saring yang berisi sejumlah tertentu obat ditempatkan pada permukaan medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Setelah inkubasi, diameter zona hambat sekitar cakram diukur dan dijadikan ukuran kekuatan hambatan obat terhadap organisme uji. Metode ini dipengaruhi beberapa faktor fisik dan kimia, selain faktor antara obat dan organisme (misalnya sifat medium dan kemampuan difusi, ukuran molekular dan stabilitas obat). Meskipun demikian standardisasi faktor-faktor tersebut memungkinkan untuk dilakukannya uji sensitivitas dengan baik.

Acuan batasan kepekaan antibiotika untuk kuman patogen, diberikan oleh NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*, Amerika Serikat). Kuman yang resisten adalah kuman yang tidak bisa dihambat oleh antibiotik, dalam kadar yang biasanya cukup untuk menghambat kuman tersebut. Intermediet (*intermediate*) adalah kuman dengan KHM antibiotik yang kadarnya kurang lebih sama, dengan kadar dalam darah atau jaringan. Angka responsnya mungkin lebih rendah dari isolat kuman yang peka. Sementara, kuman yang peka (*susceptible*) adalah kuman patogen di mana infeksiya dapat diatasi dengan dosis antibiotika yang biasa. Beberapa faktor penting dalam mempertimbangkan KHM untuk diterapkan di klinik antara lain aktivitas *in vitro*, farmakokinetik, kadar yang dicapai di jaringan tempat infeksi, indikasi dan dosis yang ditetapkan serta data bukti klinik yang ada (*evidence based*).

2.2.3. Kuinolon

2.2.3.1. Deskripsi

Deskripsi Fleming's tentang penisilin di tahun 1930an menandakan permulaan era antibakteria. Selama tahun-tahun berikutnya, penelitian di bidang ini menghasilkan sintesis atau isolasi sejumlah besar agen antimikroba dengan mekanisme aksi yang berbeda-beda dan spektrum yang luas. Pada 1962, selama proses sintesis dan purifikasi klorokuin (agen antimalaria) ditemukan derivat dari klorokuin, yaitu asam nalidiksinat. Zat ini mempunyai aktivitas bakterisidal tetapi penggunaan klinis dari asam nalidiksinat terbatas pada pengobatan infeksi saluran kemih (ISK). Sesudah itu jenis-jenis antimikroba yang masih sekeluarga dengan asam nalidiksinat, seperti asam pipemidinat dan asam oksolinat, disintesis dan diperkenalkan ke dalam praktik klinis, walaupun kegunaannya juga masih terbatas untuk infeksi saluran kemih. Tambahkan atom fluorin di posisi 6 molekul kuinolon sangat meningkatkan aktivitas hingga kegunaan klinisnya tidak hanya untuk infeksi saluran kemih.⁶

Sepanjang tahun 1980an, banyak jenis fluorokuinolon dikembangkan. Agen ini memperlihatkan aktivitas yang ampuh terhadap bakteri gram negatif, tetapi tidak pada bakteri gram positif atau anaerob. Perubahan lebih lanjut pada kuinolon di tahun 1990an menghasilkan jenis-jenis baru yang tak hanya aktivitas ampuh terhadap bakteri gram negatif tetapi juga terhadap gram positif. Jenis yang lebih baru seperti trovafloksasin, juga menjanjikan aktivitas melawan anaerob. Baru-baru ini, *non-fluorinated* kuinolon (seperti PGE9262932 atau PGE9509924) sudah ditemukan.⁶ Kelebihan lainnya dari fluorokuinolon jenis-jenis yang baru adalah resistensi tidak berkembang secara cepat.⁷

Fluorokuinolon adalah senyawa yang mengandung sebuah asam karboksilat pada posisi 3 di struktur cincin dasar. Kuinolon yang lebih baru mempunyai sebuah fluorin pada posisi 6, dan banyak anggota kuinolon yang mengandung sebuah piperazin pada posisi 7.⁷

2.2.3.2. Mekanisme Kerja

Antibiotik fluorokuinolon memasuki sel dengan cara difusi pasif melalui kanal protein terisi air (*porins*) pada membran luar bakteri. Secara unik obat-obat

ini menghambat replikasi DNA bakteri dengan cara mengganggu kerja DNA-girase.⁷ Inhibisi ini tampaknya terjadi oleh interaksi antara obat dengan kompleks yang terdiri dari DNA dan salah satu dari kedua enzim target: DNA-girase dan topoisomerase IV.⁸ Pengikatan kuinolon pada enzim dan DNA untuk membentuk suatu kompleks menghambat langkah penggabungan kembali dan dapat menyebabkan kematian sel dengan menimbulkan adanya fragmen-fragmen yang kemudian akan dihancurkan eksonuklease bakteri.

DNA-girase adalah enzim yang mengompres DNA bakteri sehingga dapat diinkorporasi dalam sel bakteri, sedangkan topoisomerase diperlukan bagi struktur ruang DNA. Enzim tersebut hanya terdapat pada kuman dan tidak pada sel dari organisme lebih tinggi, sehingga sintesa DNA manusia tidak dihambat. Hal yang sama berlaku bagi sulfonamida dan antibiotika beta-laktam.⁹ Karena DNA-girase adalah suatu target tersendiri untuk terapi antimikroba maka resistensi silang dengan antibiotik lain yang sering dipakai jarang terjadi. Akan tetapi pada organisme yang resisten terhadap banyak obat, resistensi ini meningkat.⁷

2.2.3.3. Penggunaan

Senyawa kuinolon hanya dapat digunakan pada infeksi saluran kemih (ISK) tanpa komplikasi. Sedangkan fluorokuinolon adalah bakterisidal yang lebih luas spektrum indikasinya berkat kadarnya dalam darah mencapai nilai lebih tinggi. Dengan demikian zat-zat ini dapat pula digunakan pada ISK dengan komplikasi oleh kuman multiresisten.⁹

Fluorokuinolon sangat cepat dan lebih potensial dalam melawan organisme-organisme gram negatif seperti *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas sp.*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Legionella*, *Chlamydia* dan *Mycobacterium sp.* (kecuali *M. avium kompleks*).⁷ Karena itu, fluorokuinolon juga digunakan untuk infeksi saluran nafas, infeksi lambung-usus, prostatitis kronis, dan infeksi kulit dan jaringan lunak.⁹ Fluorokuinolon efektif dalam pengobatan gonorea tetap tidak efektif terhadap sifilis. Walaupun aktif terhadap beberapa organisme gram positif, fluorokuinolon tidak boleh dipakai dalam pengobatan infeksi *pneumococcus* atau *enterococcus*. Aktivitas fluorokuinolon terhadap

kuman-kuman anaerob buruk jika digunakan sebagai profilaksis operasi transuretral, tetapi fluorokuinolon menurunkan infeksi saluran kemih postoperatif.⁷

Dengan maksud menghambat meluasnya resistensi, maka sangat dianjurkan untuk menggunakan fluorokuinolon sebagai kemoterapeutika cadangan pada infeksi oleh bakteri yang resisten terhadap obat-obat standar. Sebagai pilihan pertama pada ISK tanpa komplikasi sebaiknya digunakan trimetoprim, nitrofurantoin atau sulfametizol. Fluorokuinolon merupakan satu-satunya antibiotikum oral yang berkhasiat terhadap *Pseudomonas* dan oleh sementara peneliti dianggap sebagai obat pilihan pertama pada *traveller's diarrhoea*.⁹

Selain untuk pengobatan infeksi pada manusia, kuinolon juga digunakan dalam kedokteran hewan.⁶

Tabel 1. Indikasi Penggunaan Kuinolon¹⁰

Indikasi	Agen
Infeksi saluran kemih tanpa komplikasi	asam nalidiksinat, cinoksasin, norfloksasin, lomefloksasin, enoksasin, ofloksasin, siprofloksasin, levofloksasin, gatifloksasin, trovafloksasin*
Infeksi saluran kemih dengan komplikasi dan pielonefritis	norfloksasin, lomefloksasin, enoksasin, ofloksasin, siprofloksasin, levofloksasin, gatifloksasin
Infeksi saluran nafas bawah	lomefloksasin, ofloksasin, siprofloksasin, trovafloksasin*
Infeksi kulit	ofloksasin, siprofloksasin, levofloksasin, trovafloksasin*
Infeksi gonokokus servikal dan uretral	norfloksasin, enoksasin, ofloksasin, siprofloksasin, gatifloksasin, trovafloksasin*
Infeksi klamidia & gonokokus servikal dan uretral	ofloksasin, trovafloksasin*
Infeksi tulang dan sendi, infeksi bakteri gram negative	Siprofloksasin
Diare oleh infeksi	Siprofloksasin
Demam tifoid	Siprofloksasin
Prostatitis	norfloksasin, ofloksasin, trovafloksasin*
Sinusitis akut	siprofloksasin, levofloksasin, gatifloksasin, moxifloksasin,

	trovafloksasin*
Eksaserbasi akut bronchitis kronik	levofloksasin, sparfloksasin, gatifloksasin, moxifloksasin, trovafloksasin*
Pneumonia komunitas	levofloksasin, sparfloksasin, gatifloksasin, moxifloksasin, trovafloksasin*
Infeksi intra-abdominal	trovafloksasin*
Infeksi pelvik dan ginekologik	trovafloksasin*
Pneumonia nosokomial	trovafloksasin*

*-- Trovafloksasin telah ditarik dari pasaran US; penggunaannya terbatas untuk trovafloksasin ditujukan untuk infeksi yang mengancam jiwa dan mengancam *ekstrimitas* (pneumonia nosokomial, pneumonia komunitas, infeksi intra-abdominal, pelvis, dan kulit), menerima terapi inisial dalam perawatan di fasilitas kesehatan, dan penggunaan tidak lebih dari 14 hari.¹¹

2.2.3.4. Klasifikasi

Klasifikasi kuinolon dapat dilihat pada table di bawah ini :¹⁰

Tabel 2. Klasifikasi kuinolon^{10,12}

Klasifikasi	Agen	Spektrum antimikroba	Indikasi umum
Generasi pertama	cinoksasin flumekuin asam nalidiksinat asam oksolinat asam piromidat asam pipemidinat rosoksasin	Organisme gram negatif (tidak termasuk <i>Pseudomonas sp.</i>)	Infeksi saluran kemih tanpa komplikasi
Generasi kedua	siprofloksasin enoksasin fleroksasin lomefloksasin nadifloksasin norfloksasin ofloksasin pefloksasin rufloksasin	Organisme gram negatif (termasuk <i>Pseudomonas sp.</i>), beberapa organisme gram positif (termasuk <i>Staphylococcus aureus</i> tetapi tidak <i>Streptococcus pneumoniae</i>) dan beberapa patogen atipikal	Infeksi saluran kemih dengan atau tanpa komplikasi dan pielonefritis, penyakit menular seksual, prostatitis, infeksi kulit dan jaringan penunjang
Generasi	balofloksasin	Sama seperti generasi kedua	Eksaserbasi akut bronkitis

ketiga	gatifloksasin grepafloksasin levofloksasin moxifloksasin pazufloksasin sparfloksasin temafloksasin tosufloksasin	ditambah cakupan terhadap gram positif yang lebih luas (<i>Streptococcus pneumoniae</i> sensitif penisilin dan <i>Streptococcus pneumoniae</i> resisten penisilin) dan aktivitas terhadap patogen atipikal yang lebih luas dari cakupan generasi kedua	kronik, pnemonia komunitas
Generasi keempat	klinafloksasin garenoksasin gemifloksasin sitafloksasin trovafloksasin* prulifloksasin	Sama seperti generasi ketiga ditambah cakupan terhadap bakteri anaerob yang luas	Sama dengan generasi pertama, kedua, dan ketiga (kecuali infeksi saluran kemih dan pielonefritis) ditambah infeksi intra-abdominal, pneumonia nosokomial, infeksi pelvis
Dalam perkembangan	ecinofloksasin		
<p>*-- Trovafloksasin telah ditarik dari pasaran US; penggunaannya terbatas untuk trovafloksasin ditujukan untuk infeksi yang mengancam jiwa dan mengancam ekstremitas (nosocomial pneumonia, community acquired pneumonia, complicated intra-abdominal, gynecologic, pelvic and skin infections), menerima terapi inisial dalam perawatan di fasilitas kesehatan, dan penggunaan tidak lebih dari 14 hari.¹¹</p> <p>*-- Grepafloksasin ditarik dari peredaran karena mempunyai efek samping terhadap jantung.¹³</p> <p>*-- Sparfloksasin ditarik dari peredaran pada Februari, 2001, karena kurang terjual.¹³</p> <p>*-- Gatifloksasin ditarik dari peredaran karena meningkatkan frekuensi hipoglikemia dan hiperglikemia dibandingkan dengan jenis fluorokuinolon lainnya.¹³</p>			

Beberapa contoh kuinolon antara lain:

1. **Asam nalidiksinat.** Derivat-nartiridin ini (1962) berkhasiat bakterisidal terhadap terutama bakteri gram negatif, termasuk *Escharichia coli*, *Proteus*, dan *Klebsiella*. *Pseudomonas* dan *Streptococcus faecalis* tidak peka terhadap asam ini. Mekanisme kerjanya melalui inhibisi terhadap sintesis DNA. Seperti halnya penisilin, zat ini hanya berkhasiat terhadap bakteri yang sedang tumbuh. Oleh karena itu, zat ini tidak dapat dikombinasi dengan zat-zat bakteriostatik (tetrasiklin, kloramfenikol) dan tidak pula dengan nitrofurantoin. Resistensi dapat terjadi dengan lebih cepat, terutama pada dosis di bawah 4 g sehari, sehingga tidak layak untuk penggunaan lama. Oleh sebab itu dan Pola sensitifitas ..., Uti Nilam Sari, FK UI., 2009

dengan tersedianya fluorokinolon dengan spektrum kerja lebih luas dan khasiat lebih kuat, penggunaannya terhadap infeksi saluran kemih tanpa komplikasi dewasa ini tidak dianjurkan lagi. Di sejumlah negara Barat peredaran antibiotik ini sudah dihentikan.⁹

2. **Asam pipemidinat.** Derivat-piperizanol dari nalidiksilat ini (1975) memiliki spektrum kerja lebih luas, yang juga meliputi pseudomonas. Efek bakterisidnya terhadap kuman yang sedang membelah adalah dua kali lebih kuat. Ekskresinya oleh ginjal demikian cepat sehingga kadarnya dalam darah rendah sedangkan dalam kemih relatif tinggi. Oleh karena itu asam pipemidinat khususnya digunakan pula pada ISK tanpa komplikasi.⁹
3. **Pefloksasin.** adalah derivat dari norfloksasin (1985) dengan daya kerja kurang kuat terhadap *Pseudomonas*. Zat ini digunakan pada ISK tanpa maupun dengan komplikasi.⁹
4. **Siprofloksasin.** Derivat-siklopropil dari kelompok fluorokuinolon (1987) ini berkhasiat lebih luas dan kuat daripada nalidiksilat dan pipemidinat, juga menghasilkan kadar darah/jaringan dan plasma yang lebih tinggi. Penggunaan obat secara sistemis lebih luas dan meliputi ISK berkomplikasi, infeksi saluran napas bila disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa*, infeksi saluran cerna, jaringan lunak kulit dan gonore.⁹ Kadang serum yang dicapai efektif terhadap banyak infeksi sistemik, kecuali infeksi berat yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap metisilin (*MRSA*), *enterococcus* dan *pneumococcus*. Siprofloksasin terutama berguna dalam mengobati infeksi-infeksi yang disebabkan oleh bermacam-macam *enterobacteraceae* dan basil gram negatif lainnya. Siprofloksasin merupakan suatu alternatif terhadap obat-obat yang lebih toksik seperti aminoglikosida. Siprofloksasin bisa berkerja sinergistik bersama obat-obat beta-laktam.⁷
5. **Norfloksasin.** Derivat-fluor dari pipemidinat (1983) ini adalah obat pertama dari kelompok fluorokuinolon generasi ketiga. Di samping khasiarnya terhadap ISK, juga efektif penggunaannya pada gonore, saluran cerna (gastroenteritis) dan infeksi mata tetapi tidak berkhasiat terhadap bakteri anaerob.⁹
6. **Ofloksasin.** Fluorokuinolon ini (1987) lebih kurang sama khasiatnya dengan siprofloksasin.⁹ Ofloksasin terutama digunakan dalam pengobatan prostatitis yang disebabkan oleh *E coli* dan penyakit-penyakit hubungan seksual kecuali sifilis. Ofloksasin bisa digunakan sebagai terapi alternatif pada penderita gonore, juga mempunyai beberapa manfaat dalam pengobatan infeksi kulit dan saluran napas bawah.⁷
7. **Lomefloksasin.** Derivat-difluor ini (1989) berkhasiat terhadap ISK dengan atau tanpa komplikasi dan sebagai profilaksis terhadap infeksi setelah pembedahan transuretral. Di samping itu zat ini juga digunakan terhadap serangan (eksaserbasi) bronkitis kronis.⁹
8. **Sparfloksasin.** Derivat-difluor ini (1995) berkhasiat lebih luas terhadap kuman gram positif dibandingkan siprofloksasin, masa paruhnya panjang (20jam) sehingga dapat

ditakarkan 1 kali sehari. Terhadap *Pseudomonas* dan *Proteus*, obat ini kurang aktif dibandingkan siprofloksasin. Sparfloksasin digunakan pada semua bentuk ISK, pneumonia akibat pneumokokus yang resisten terhadap penisilin, dan pada gonore.⁹

9. **Gatifloksasin:** Termasuk generasi ketiga yang dapat digunakan per oral maupun intravena terhadap infeksi saluran urin (gonore) dan infeksi pernapasan (pneumonia). Juga aktif terhadap kuman anaerob.
10. **Lomefloksasin.** Lomefloksasin berguna dalam pengobatan infeksi saluran kemih dan *bronchitis* yang disebabkan oleh *Haemophylus influenzae* atau *Moraxella catarrhalis*. Lomefloksasin tidak efektif terhadap bakteremia *pseudomonas*.
11. **Levofloksasin.** Levofloksasin digunakan pada pasien dengan pneumonia komunitas yang sedang dirawat di rumah sakit atau apabila dicurigai adanya patogen atipikal. Juga digunakan bila pneumonia tersebut diderita pasien yang sedang tidak dirawat di rumah sakit dengan faktor resiko infeksi pneumokokus yang resisten.⁸

2.2.3.5 Farmakokinetik

Aspek farmakokinetik dari fluorokuinolon antara lain:⁷

1. **Absorpsi.** Hanya 35-70% norfloksasin oral yang diabsorpsi. Tetapi, 70-90% fluorokuinolon lainnya diserap setelah pemberian oral. Ketersediaan hayati terbesar pada ofloksasin dan lomefloksasin. Preparat-preparat intravena siprofloksasin dan ofloksasin sudah tersedia. Minum obat fluorokuinolon bersamaan dengan sukralfat, antasid yang mengandung aluminium atau magnesium atau makanan tambahan yang mengandung besi atau seng dapat mengganggu absorpsi obat-obat anti bakteri ini.
2. **Distribusi.** Pengikatan dengan protein plasma berkisar dan 10-40% (Catatan: Kadar plasma norfloksasin bebas tidak cukup untuk pengobatan infeksi sistemik). Semua fluorokuinolon berdistribusi baik ke dalam semua organ tubuh. Kadarnya tinggi dalam tulang, urin, ginjal dan jaringan prostat (tetapi tidak di cairan prostat) dan konsentrasinya di paru-paru melebihi konsentrasinya dalam serum. Penetrasi ke dalam cairan serebrospinalis rendah, kecuali untuk ofloksasin dengan konsentrasi sebesar 90% seperti dalam serum. Fluorokuinolon juga berakumulasi dalam makrofag dan leukosit polimorfonuklear, sehingga efektif terhadap organisme intrasel seperti *Legionella*.

3. **Metabolisme.** Kecuali untuk ofloksasin dan lomefloksasin obat-obat ini sebagian dimetabolisme menjadi senyawa-senyawa yang kurang aktivitas antimikrobanya.
4. **Ekskresi.** Obat asli dan metabolitnya diekskresikan ke dalam urin. Ini adalah jalan ekskresi utama untuk ofloksasin. Gagal ginjal memperpanjang waktu paruh dari masing-masing obat. Fluorokuinolon lainnya mengalami pembuangan melalui hati dan ginjal: rute ini dianggap penting pada gagal ginjal. Waktu-paruh fluorokuinolon berkisar dari 3-5 jam kecuali lomefloksasin yang mempunyai waktu paruh 8 jam.

Tabel 3. Karakteristik berbagai jenis kuinolon¹⁰

Agen	Waktu paruh*	Rute pemberian	Penyesuaian dosis terhadap:	Efek samping†	Interaksi obat‡
Generasi pertama					
Asam nalidiksinat	60 s.d 90 menit	Oral	Gangguan ginjal		Warfarin
Cinoksasin	1.1 s.d. 2.7 jam	Oral	Gangguan ginjal	Hipersensitivitas (kurang dari 3% resipien)	
Generasi kedua					
Norfloksasin	2.3 s.d. 5.5 jam	Oral	Gangguan ginjal		Warfarin, siklosporin
Lomefloksasin	7 s.d. 8.5 jam	Oral	Gangguan ginjal	Fototoksisitas, sakit kepala (3 s.s 44% resipien), nyeri abdomen (11%), mual (5,6%)	
Enoksasin (Penetrex)	3.3 s.d. 7 jam	Oral	Gangguan ginjal dan hati (pasien dengan sirosis berat)	Fototoksisitas (ringan)	Warfarin, ranitidin, bismut subsalisilat, teofilin, kafein
Ofloksasin	5 s.d. 8 jam	Oral, intravena	Gangguan ginjal dan hati (pasien	Insomnia (13%)	Warfarin

			dengan penyakit berat)		
Siprofloksasin	3 s.d. 5.4 jam	Oral, intravena	Gangguan ginjal	Mual, muntah, nyeri abdomen	Warfarin, teofilin, kafein, siklosporin, gliburid
Generasi ketiga					
Levofloksasin	6 jam	Oral, intravena	Gangguan ginjal	Sakit kepala, mual (6.6 %), diare	
Sparfloksasin	21 jam	Oral	Gangguan ginjal	Fototoksitas (8 %), pemanjangan interval QT, <i>torsades des pointes</i>	Obat yang memanjangkan interval QT, termasuk antiaritmia kelas I, antidepresan trisiklik, fenotiazid, cisaprid, pentamidin dan eritromisin
Gatifloksasin	7 jam	Oral, intravena	Gangguan ginjal		Obat yang memanjangkan interval QT, termasuk antiaritmia kelas I, antidepresan trisiklik, fenotiazid, cisaprid, pentamidin dan eritromisin
Moxifloksasin	12 jam	Oral	Gangguan hati	pemanjangan interval QT	Obat yang memanjangkan interval QT, termasuk antiaritmia kelas I, antidepresan trisiklik, fenotiazid, cisaprid,

					pentamidin dan eritromisin
Generasi keempat					
Trovafloksasin	7.8 jam	Oral	Gangguan hati (pasien dengan sirosis ringan hingga sedang)	Pusing (2.4 s.d. 11%), hepatotoksik berat (jarang), vaginitis kandida (1 s.d. 10%)	morfin, asam sitrat, sodium sitrat
Alatrofloksasin		Intravena			
*-- Waktu paruh obat meningkat secara signifikan untuk obat yang dieliminasi ginjal					
†-- Semua kuinolon dapat menyebabkan mual, insomnia, dan pusing (>3 %); ruptur tendon dan kerusakan kartilago juga dapat terjadi					
‡-- semua kuinolon berinteraksi dengan sukralfat, antasid-antasid yang mengandung aluminium atau magnesium, besi, kalsium dan seng					

2.2.3.6. Efek samping dan kontraindikasi ⁹

Efek samping yang paling sering terjadi adalah gangguan lambung-usus (2%), seperti sakit perut, mual (4-8%), muntah, anoreksia dan diare (4-5%), jarang timbul sejenis radang usus-besar (kolitis pseudomembranosis). Di samping itu terjadi pula reaksi alergi (eritema, urticaria). Efek neurologi (sakit kepala, pening, neuropati dan perasaan kacau), efek psikis hebat (eksitasi, takut, gelisah, reaksi panik) dan konvulsi jarang terjadi, terkecuali pada penderita SLE (*Systemic Lupus Erythematosus*) dan pada penggunaan serentak NSAIDs. Efek samping yang lebih serius adalah efek jantungnya dengan mengakibatkan aritmia bilik (takiaritmia ventricular).

Karena ada indikasi timbulnya kelainan pada pembentukan tulang rawan dan persendian pada binatang percobaan, senyawa ini tidak dianjurkan penggunaannya oleh wanita hamil, juga selama laktasi karena dapat masuk ke dalam air susu ibu. Juga jangan diberikan pada anak-anak di bawah usia 16 tahun, karena dapat menimbulkan penyimpangan pada pembentukan tulang rawan terutama oleh asam nalidiksinat (jarang oleh siprofloksasin dan ofloksasin).

2.2.3.7. Resistensi

Karena spektrum aktivitas yang luas, kuinolon digunakan secara ekstensif. Baru-baru ini, siprofloksasin adalah agen antibakterial yang paling banyak dipakai di dunia. Tingkat penggunaan yang tidak rasional atau penggunaan yang tidak sesuai indikasi di beberapa negara berkembang, dipercaya sebagai penyebab terjadinya resistensi terhadap kuinolon.⁶ Sebagian besar literatur yang mempelajari mekanisme aksi dan resistensi terhadap kuinolon merujuk ke penelitian yang dilakukan terhadap *Enterobacteriaceae*, terutama *Escherichia coli*.⁶

Hingga kini, dua mekanisme resistensi terhadap kuinolon yang utama sudah diketahui, yaitu: perubahan pada target kuinolon, dan berkurangnya akumulasi di dalam bakteri karena impermeabilitas membran dan/atau ekspresi berlebih sistem pompa keluar (*efflux pump system*). Kedua mekanisme ini dimediasi kromosom. Selanjutnya, ada elemen pada plasmid yang bisa berpindah-pindah dan membawa gen *qnr* yang juga memunculkan kemampuan resisten terhadap kuinolon. Elemen ini mempunyai potensi mentransfer gen yang resisten kuinolon secara horizontal.⁶

1. Perubahan Target Obat⁶

Kuinolon beraksi dengan cara menghalangi aksi topoisomerase tipe II, DNA-girase dan topoisomerase IV. DNA-girase adalah enzim tetramerik yang terdiri dari dua subunit A dan dua subunit B, masing-masing disandikan sebagai *gyrA* dan *gyrB*. Fungsi utama enzim ini adalah mengkatalisasi superkoil negatif dari DNA. Topoisomerase IV adalah enzim A2B2 juga, disandikan oleh *parC* dan *parE* (merujuk sebagai *grlA* dan *grlB* pada *Staphylococcus aureus*). Subunit-subunit ini (*ParC* dan *ParE*) sangat homolog dengan *GyrA* dan *GyrB*. Topoisomerase IV berperan dalam dekatensasi DNA superkoil pada proses replikasi.¹⁴

Target kuinolon secara mendasar berbeda pada bakteri gram negatif dan gram positif. Terjadinya resistensi pada kuman gram negatif, enzim DNA-girase berperan utama dan topoisomerase IV memegang peranan sekunder. Pada kuman gram positif terjadi hal sebaliknya.⁹

Bagaimanapun juga, beberapa studi menunjukkan bahwa DNA-girase mungkin bertindak sebagai target pokok pada bakteri gram positif bagi beberapa jenis kuinolon, seperti sparfloksasin dan nadifloksasin. Lebih jauh lagi, jenis-jenis baru seperti clinafloksasin dan moxifloksasin, mempunyai afinitas yang sama pada kedua target.

- **Perubahan pada DNA-girase**

Sebagian besar perubahan GyrA pada *Eschericia coli* terjadi pada *Quinolone-resistence determining region* (QRDR), yaitu antara posisi 67 dan 106. Mutasi pada kodon-kodon 67, 81, 82, 83, 84, 87 dan 106 dari gyrA sudah diketahui sebagai penyebab perkembangan resistensi kuinolon oleh *Eschericia coli*. Bagaimanapun juga, beberapa mutasi dalam QRDR (contoh: mutasi pada *Eschericia coli* di posisi 67, 82 dan 106), hanya didapatkan pada studi laboratorium yaitu pada mutan yang resisten kuinolon. Baru-baru ini, posisi 51, daerah di luar QRDR, ditemukan sebagai mutasi titik baru yang juga mengakibatkan berkurangnya sensitifitas terhadap kuinolon.

Adanya satu mutasi di posisi QRDR dari gyrA yang telah disebutkan biasanya menghasilkan resistensi tingkat tinggi terhadap asam nalidiksinat. Sedangkan resistensi tingkat tinggi terhadap fluorokuinolon memerlukan mutasi tambahan di gyrA dan/atau di sasaran lain seperti parC.

Mutasi paling sering yang terjadi pada *Eschericia coli* yang resisten kuinolon adalah pada kodon 83 dari gyrA. Lebih jauh lagi, kelihatannya ini pula yang paling sering ditemukan dalam praktik klinis dan laboratorium pada Enterobacteriaceae lainnya, seperti *Citrobacter freundii* atau *Shigella sp.* atau pada patogen seperti *Neisseria gonorrhoeae* dan *Acinetobacter baumannii*. Pada isolat klinis, mutasi kedua tersering adalah pada kodon 87 dari gyrA. Strain dengan mutasi ganda di kodon 83 dan 87 mempunyai MIC terhadap kuinolon yang lebih tinggi. Fakta ini terbukti pada

mikroorganisme seperti *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas aeruginosa* atau *Neisseria gonorrhoeae*. Substitusi di posisi yang ekuivalen dengan asam amino (83 dan 87) pada *Eschericia coli* tersebut, juga paling sering digambarkan pada mikroorganisme gram positif yang resisten kuinolon.

Substitusi asam amino yang berbeda pada posisi sama akan menghasilkan tingkat sensitifitas yang berbeda karena akan mempengaruhi cara afinitas terhadap molekul kuinolon. Sebagai tambahan, mutasi di posisi lain mungkin mempengaruhi susunan protein secara menyeluruh, mempengaruhi interaksi dengan kuinolon.

Pada GyrB dari *Eschericia coli*, substitusi yang menghasilkan resistensi terhadap kuinolon terjadi di posisi 426 (Asp-426 ke Asn) dan 447 (Lys-447 ke Glu). Substitusi di posisi 426 kelihatannya menghasilkan resistensi ke semua kuinolon, sedangkan pada posisi 447 menghasilkan peningkatan derajat resistensi pada asam nalidiksinat, tetapi menghasilkan susceptibilitas yang bertambah untuk fluorokuinolon. Mutasi di posisi yang ekuivalen juga terjadi pada mikroorganisme gram positif.

○ **Perubahan pada topoisomerase IV**

Enzim topoisomerase IV memegang peranan utama pada terjadinya resistensi pada kuman gram positif, seperti pada *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus pneumoniae*. Sebuah mutasi yang terjadi di parC (grlA) pada *Staphylococcus aureus* mempengaruhi kodon 116, tempat terjadinya perubahan Ala ke Glu atau Pro, yang menyebabkan resistensi terhadap kuinolon. Mutasi pada kodon lain seperti 23 (Lys ke Asn), 69 (Asp ke Tyr), 176 (Ala ke Gly) atau 451 (Pro ke Gln) pada *Staphylococcus aureus* juga telah ditemukan sebagai penyebab resistensi.

Peran substitusi asam amino pada ParE ditemukan baik secara *in vivo* maupun *in vitro* akan menghasilkan mikroorganisme gram positif yang resisten kuinolon. Pada *Streptococcus pneumoniae* misalnya, terdapat mutasi Asp-435 menjadi Asn atau His-102 menjadi Tyr, sedangkan di *Staphylococcus aureus* asam amino yang berubah adalah Pro- 25 menjadi His, Glu-422 menjadi Asp, Asp-432 menjadi Asn atau Gly, Pro- 451 menjadi Ser atau Gln dan Asn-470 menjadi Asp. Bagaimanapun juga, masih sangat mungkin bahwa beberapa dari substitusi-substitusi ini tidak berperan dalam terjadinya resistensi terhadap kuinolon.

2. Penurunan *Uptake*⁶

Berkurangnya *uptake* kuinolon mungkin berhubungan dengan dua faktor yaitu peningkatan impermeabilitas bakteri pada agen antibakterial atau ekspresi berlebih sistem pompa keluar.

Kuinolon memasuki membran luar dengan dua cara berbeda yaitu melewati porin spesifik atau dengan difusi melalui fosfolipid bilayer. Tingkat difusi kuinolon sangat bergantung pada derajatnya hidrofobitas. Semua kuinolon dapat memasuki membran luar lewat porin tetapi hanya yang berhidrofobitas tinggi yang dapat berdifusi lewat *phospholipid bilayer*. Oleh karena itu, perubahan pada susunan porin dan/atau lipopolisakarida akan mengubah profil sensitifitas. Pada mutan dengan defek lipopolisakarida sensitifitas terhadap kuinolon hidrofobik bertambah, tetapi tingkat resistensi terhadap kuinolon hidrofilik tidak berubah.

Perubahan permeabilitas membran biasanya berhubungan dengan adanya penurunan porin. Hal ini ditemukan pada *Eschericia coli* dan bakteri gram negatif lainnya. Membran luar *Eschericia coli* mempunyai tiga porin utama (OmpA, OmpC dan OmpF). Pengurangan OmpF berhubungan dengan peningkatan resistensi ke beberapa kuinolon, tetapi tidak mempengaruhi MIC lainnya, seperti tosufloksasin atau sparfloksasin. Lebih jauh lagi, penurunan OmpF menghasilkan penurunan sensitifitas

terhadap antibiotik lainnya seperti beta-laktam, tetrasiklin dan kloramfenikol.

Beberapa lokus kromosom seperti MarRAB (terdiri dari tiga gen: marR yang menyandikan sebuah protein repressor; marA yang menyandikan activator transcriptional; dan marB yang menyandikan protein dengan fungsi yang belum diketahui) atau SoxRS (operon yang menyandikan dua protein: SoxR untuk protein pengatur; dan SoxS untuk activator transcriptional) mengatur jumlah ekspresi OmpF dan *efflux pump* di *Eschericia coli*.

Sistem pompa keluar juga ditemukan pada mikroorganisme gram positif, contohnya adalah NorA pada *Staphylococcus aureus*. NorA adalah pompa yang membutuhkan ATP dan dapat memompa ke luar kuinolon hidrofilik, seperti enoksasin atau norfloksasin, tetapi tidak mempengaruhi kuinolon hidrofobik seperti sparfloksasin. Adanya sistem pompa keluar seperti NorA juga ditemukan pada beberapa mikroorganisme gram positif lain seperti *Streptococcus spneumoniae* atau *Streptococcus grup viridians*.

3. Transfer resistensi kuinolon⁶

Plasmid *Klebsiella pneumoniae* dilaporkan dapat memindahkan sifat resistensinya terhadap kuinolon kepada strain lain. Tran & Jacoby menemukan plasmid yang berisi gen baru, yaitu gen *qnr*, yang menyandikan protein (terdiri atas 218 asam amino). Produk gen ini melindungi DNA-girase dari inhibisi oleh kuinolone, namun demikian efeknya pada topoisomerase IV belum jelas. Pada Februari 2003, Jacoby et al. menemukan prevalensi adanya gen ini pada mikroorganisme gram negatif (sebagian besar *Klebsiella pneumoniae* dan *Eschericia coli*) dari asal geografis yang berbeda yaitu di 19 negara di seluruh dunia.

2.3. Kultur Darah

2.3.1. Kepentingan Klinis

Keberadaan mikroorganisme yang hidup pada aliran darah pasien mempunyai kepentingan diagnostik dan prognostik yang substansial. Kultur darah

positif menegakkan diagnosis dan mengkonfirmasi bahwa ada etiologi infeksi pada penyakit yang sedang diderita pasien. Lebih jauh lagi, hal ini juga memberitahukan kepekaan antibiotik terhadap antibiotik sehingga terapi antibiotik dapat dilakukan secara optimal. Dari sudut pandang prognosis, tumbuhnya patogen yang penting secara klinis dari kultur darah mengindikasikan adanya kegagalan pertahanan *host* untuk menahan infeksi pada lokasi primer atau kegagalan dokter dalam mengeradikasi fokus infeksi.¹⁵

2.3.2. Pengumpulan dan Transpor Spesimen

- **Waktu Pengumpulan Kultur Darah**

Berbagai penelitian memperlihatkan bahwa masuknya bakteri ke aliran darah terjadi dalam rentang waktu kira-kira satu jam sebelum demam dan menggigil muncul. Walaupun sudah menjadi kebiasaan praktik untuk melakukan kultur darah pada interval 30-60 menit, Li et al menyatakan bahwa tidak ada perbedaan hasil kultur pada pemeriksaan dibuat secara simultan atau lebih dari 24 jam. Thompson et al mendapatkan tidak ada perbedaan kepositifan hasil kultur darah pada saat terjadinya puncak demam.¹⁵

Kultur darah sebaiknya dibuat secara simultan (atau dalam batasan waktu yang singkat). Pembuatan kultur darah dengan interval waktu panjang hanya diindikasikan ketika ada kepentingan untuk mendokumentasikan bakteremia yang berkelanjutan pada pasien yang dicurigai endokarditis infektif atau infeksi endovaskular lainnya.¹⁵

- **Jumlah Spesimen Darah untuk Pembuatan Kultur**

Beberapa studi mempelajari jumlah optimal spesimen darah yang diperlukan untuk mendeteksi bakteremia atau fungemia. Terdapat berbagai variabel yang penting dalam keberhasilan kultur darah antara lain perbedaan pada media kultur yang digunakan, metode, penggunaan agen antimikroba yang berbeda, volume darah yang dikultur, dan, yang paling penting, definisi yang berbeda mengenai positif benar (*true-positive*) dan kontaminasi pada kultur darah. Pedoman terbaru adalah membuat dua atau tiga set per episode. Kultur darah tunggal tidak boleh dilakukan pada pasien dewasa karena akan menyebabkan

volume kultur darah yang tidak adekuat dan hasil dari kultur darah tunggal lebih sulit untuk diinterpretasikan. Kultur darah hendaknya tidak diulang dalam dua hingga lima hari setelah memulai terapi antibiotik karena darah tidak menjadi steril segera.¹⁵

Penggunaan kultur darah surveilans telah diadvokasikan sebagai sebuah pengertian untuk mendeteksi adanya sepsis pada populasi tertentu, seperti di unit perawatan intensif, pasien yang sedang ditransplantasi, atau dengan kateter vaskuler; ataupun untuk ‘pemeriksaan kesembuhan’. Kultur darah yang dibuat untuk episode sepsis tidak bernilai banyak dan seharusnya tidak dilakukan secara rutin, sebagaimana hal tersebut tidak meningkatkan manajemen pasien tetapi hanya meningkatkan biaya.¹⁵

Hampir semua pasien dengan bakteremia ataupun fungemia dapat dilihat perkembangannya secara klinis dan tidak memerlukan *follow up* menggunakan kultur darah untuk menemukan apakah bakteremia dan fungemia masih ada atau tidak. Ada dua pengecualian mengenai hal ini. Pertama, bagi pasien dengan endokarditis infeksi dimana pembuktian sudah tidak adanya bakteremia dan fungemia dapat digunakan untuk tatalaksana dan pedoman terapi. Kedua, bagi pasien dengan bakteremia oleh *Staphylococcus aureus* yang tidak berkaitan dengan endokarditis infeksi, dimana kultur darah *follow up* positif yang dibuat pada 48-96 jam adalah prediktor terkuat dari komplikasi bakteremia *Staphylococcus aureus*.¹⁵

- **Volume Darah**

Volume dari darah yang diambil untuk kultur adalah variabel terpenting dalam mendeteksi adanya bektereia atau fungemia. Untuk dewasa, volume yang direkomendasikan untuk pembuatan kultur darah adalah 20-30 ml per kultur (misal: per kateterisasi vena). Untuk bayi dan anak-anak yang lebih muda, volume darah yang diambil harus tidak lebih dari 1% volume darah total pasien.¹⁵

- **Distribusi Darah ke Botol Aerob dan Anaerob**

Ketika volume darah lebih sedikit dari yang direkomendasikan untuk kultur, pertama-tama darah harus diinokulasikan ke botol atau kontainer aerobik;

sisanya diinokulasikan ke botol atau kontainer anaerobik. Hal tersebut sangat penting karena banyak bakteremia disebabkan oleh bakteri aerob dan fakultatif, yang akan lebih baik tumbuh di botol aerob.¹⁵

- **Desinfeksi Kulit dan Pencegahan Kontaminasi Kultur Darah**

Hampir semua kultur darah diambil dari kateterisasi vena. Untuk meminimalisir resiko kontaminasi oleh flora kulit, pada tempat pengambilan harus dilakukan desinfeksi. Tinktura iodin, klorida peroksid, dan klorheksidin glukonat lebih superior dari preparat povidon-iodin. Tinktura iodin dan klorheksidin glukonat kurang lebih sama. Preparat yang mengandung iodin membutuhkan waktu yang cukup untuk mendesinfeksi permukaan kulit (30 detik untuk tinktura iodin dan 1,5 s.d 2 menit untuk iodofor). Klorheksidin glukonat membutuhkan waktu yang sama dengan tinktura iodin, tetapi tidak berhubungan dengan kejadian reaksi alergi dan tidak membutuhkan pembersihan kulit setelah dilakukan kateterisasi vena dilakukan. Kerugian utama klorheksidin glukonat adalah tidak dapat dipakai untuk mendesinfeksi kulit pada bayi berumur kurang dari dua bulan; bagaimanapun juga, zat ini direkomendasikan sebagai desinfektan untuk bayi lebih dari dua bulan, anak-anak, dan dewasa.¹⁵

- **Pengumpulan Kultur Darah**

Kultur darah harus dibuat menggunakan teknik pencegahan umum. Teknik aseptis yang seksama harus dilakukan selama prosedur berjalan. Darah untuk kultur diambil dari vena, bukan arteri. Kultur darah arteri tidak menghasilkan nilai diagnostik yang lebih tinggi dibandingkan darah dari vena dan tidak direkomendasikan. Kultur darah yang dibuat dari alat-alat pengakses intravaskular yang terpasang pada pasien, seperti kateter intravena, berhubungan dengan kemungkinan kontaminasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan darah yang langsung diambil menggunakan kateterisasi vena. Walaupun terkadang diperlukan untuk mengambil darah melalui jalur intravena melalui alat-alat tersebut, kultur yang dibuat harus dipasangkan dengan kultur lain dengan bahan darah yang diambil melalui kateterisasi vena untuk membantu dalam interpretasi saat didapatkan hasil positif.¹⁵

Setelah mengidentifikasi tempat untuk melakukan kateterisasi vena, karet penutup pada botol atau tube kultur darah harus didesinfeksi dengan alkohol 70%. Tempat untuk melakukan kateterisasi vena pun juga harus didesinfeksi; biasanya pertama-tama memakai alkohol 70% dan ditunggu hingga kering, diikuti dengan aplikasi desinfektan utama, sehingga substansi tersebut dapat bertahan selama waktu yang direkomendasikan. Petugas yang akan mengambil darah tidak boleh memalpasi kulit yang sudah didesinfeksi kecuali apabila petugas tersebut memakai sarung tangan steril. Direkomendasikan untuk mengambil darah memakai jarum suntik steril kemudian ditransfer ke botol atau tube kultur darah. Darah dapat dialirkan secara langsung ke tube yang mengandung SPS (sodium polianetosulfonat), tetapi tidak boleh ke tube yang mengandung antikoagulan lain. Darah dari tube SPS dapat ditransfer ke medium kultur darah. Mengalirkan darah secara langsung ke vial kultur darah (misal: menggunakan jarum yang didesain untuk mengambil darah ke tube) tidak direkomendasikan karena adanya resiko refluks dari media kultur kembali ke dalam vena dan juga karena volume darah yang dialirkan langsung ke botol atau tube tidak dapat dikontrol. Alat pengambil darah telah tersedia dari berbagai pabrik; dan apabila digunakan harus mengikuti petunjuk masing-masing pabrik. Botol kultur darah harus diposisikan 'berdiri' saat digunakan dan terkadang harus dibalik secara perlahan untuk mencegah penggumpalan. Selain itu, laboratorium hendaknya memvalidasi bahwa proses kerja berlangsung secara efektif dalam meminimalisir kontaminasi ke dalam batas yang masih dapat diterima, yaitu $\leq 3\%$.¹⁵

Botol atau tube kultur darah harus dikirim ke laboratorium tidak lebih dari dua jam; botol kultur darah yang tertunda untuk dimasukkan ke dalam alat penyimpanan kultur darah dapat menunda atau menghalangi pendeteksian adanya pertumbuhan. Memegang botol pada suhu ruangan tidak boleh dari beberapa jam. Botol atau tube kultur tidak boleh didinginkan atau dibekukan setelah diinokulasi; pendinginan atau pembekuan dapat membunuh beberapa mikroorganisme dan membekukan wadah yang penuh terisi cairan dapat menyebabkan wadah tersebut pecah. Spesimen kultur darah yang diambil untuk lisis-sentrifugasi juga tidak boleh dipegang lebih dari delapan jam karena dapat menurunkan hasil atau menunda pertumbuhan bakteri patogen tertentu.¹⁵

- **Kriteria Penolakan untuk Spesimen Kultur Darah**

Spesimen kultur darah yang memenuhi kriteria di bawah ini harus ditolak dan harus diambil spesimen baru:¹⁵

- Botol atau kontainer yang tidak dilabel atau dengan pelabelan yang salah
- Botol atau kontainer pecah, rusak, ataupun bocor
- Darah yang menggumpal
- Medium mengandung antikoagulan selain SPS

2.3.3. Pedoman Khusus Berhubungan dengan Pemeriksaan Kultur Darah

Biosafety Level 2 (BSL-2) adekuat untuk aktifitas rutin sehubungan dengan pemeriksaan kultur darah, kecuali ada kecurigaan terhadap isolasi agen infeksius yang membutuhkan praktik *biosafety* dengan level lebih tinggi.¹⁵

Dokumen H3 CLSI/NCCLS menyediakan pedoman untuk protokol persiapan pada pengumpulan sampel darah dan pemeriksaan kultur darah. Flebotomis harus mengikuti prosedur untuk meminimalisasi resiko tertular infeksi melalui kontak dengan pasien atau spesimen yang diambil dari pasien. Sebuah aspek penting dari keamanan pasien yang berhubungan dengan pemeriksaan kultur darah adalah prosedur pengidentifikasian pasien. Dua tanda pengenal harus dibuat dan dibandingkan dengan formulir permintaan prosedur. Adapun informasi yang harus ada meliputi nama lengkap, alamat terkini, nomor identifikasi dari rumah sakit, atau tanggal lahir.¹⁵

Sampel yang diambil untuk pemeriksaan kultur darah harus diletakkan pada wadah utama yang anti bocor dengan penutup yang aman. Sampel harus ditranspor ke laboratorium dalam wadah sekunder yang dapat menahan apabila wadah utama pecah dan bocor. Untuk spesimen kultur darah yang ditranspor menggunakan *pneumatic tube*, sebaiknya digunakan kantong plastik yang tidak bocor saat transpor. Botol diletakkan dalam wadah transpor plastik utama, kemudian ditutup. Botol-botol diamankan menggunakan plester atau karet gelang mengelilingi botol. Letakkan botol tersebut ke wadah transpor plastik kedua dan tutup. Tanda pengenal sampel dan surat permintaan diletakkan di pembawa

transpor yang kemudian ditutup, dikunci, dan ditranspor ke laboratorium dengan protokol standar. Tidak ada spesimen lain yang boleh ditranspor secara bersamaan dengan spesimen untuk kultur darah.¹⁵

Sampah yang dihasilkan dari kegiatan yang berhubungan dengan pemeriksaan kultur darah harus dikelola sesuai dengan prosedur pembuangan sampah *biohazard* dari institusi yang bersangkutan, dengan tidak melanggar regulasi lokal dan pemerintahan. Dokumen GP5 CLSI/NCCLS (*Clinical Laboratory Waste Management*) menyediakan informasi berhubungan dengan elemen kunci dalam tatalaksana dan pedoman terhadap bahan-bahan buangan untuk membangun sebuah sistem pengelolaan sampah yang efektif di laboratorium.¹⁵

2.4. Kerangka Konseptual

