

Uji Kepekaan Obat Anti Tuberkulosis Lini Kedua Menggunakan BACTEC *Mycobacterium Growth Indicator Tubes* (MGIT) 960

Yuni Rukminiati

Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Litbangkes, Kemenkes RI
email : rukminiati@litbang.depkes.go.id

Abstract

The emergence of Multidrug resistance tuberculosis (MDR TB) is a failure treatment caused by Mycobacterium tuberculosis is real threat for TB control program. Second line drugs were using for person who has MDR TB. The objective of this study was to evaluate the Mycobacterium Growth Indicator Tube (MGIT) 960 System as media for testing of Mycobacterium tuberculosis susceptibility to second line drugs. Levels of high sensitivity and specificity, and time of the testing time is the parameter being assessed. Thirty MDR TB isolates were tested for susceptibility to ofloxacin, amikacin, and kanamycin by MGIT 960, and the result were compared to those obtain with proportion method on Lowenstein Jensen media, considered a reference method. Results for ofloxacin showed sensitivity 100% and specificity 75%, whereas for amikacin sensitivity 96% and specificity 100%; kanamycin sensitivity showed both specificity of 100%. The time required to obtain result was faster compared to the reference method, with an average of 9 days by the MGIT960.

Keyword : MDR-TB, Secondline drugs of Tuberculosis, MGIT 960

Pendahuluan

Setiap tahun di Indonesia ditemukan 250 ribu kasus baru tuberkulosis dengan sekitar 140 ribu kematian. Sebagian penderita tuberkulosis berada di golongan usia produktif (15-55 tahun). Tuberkulosis dapat diobati dengan efektif menggunakan obat anti tuberkulosis (OAT) lini pertama seperti isoniazid, rifampisin, ethambutol dan pirazinamid. Jika penderita tuberkulosis tidak melakukan pengobatan dengan benar maka dapat mengakibatkan terjadinya resistensi obat. Pada tahun 1990-an terjadi Multi Drug Resistance Tuberculosis (MDR-TB) yang membutuhkan pengobatan lini kedua. MDR-TB merupakan resistensi obat terhadap setidaknya 2 obat tuberkulosis lini pertama yaitu rifampisin dan isoniazid yang merupakan dua OAT

paling penting dalam pengobatan tuberkulosis.

Kecepatan dan keakuratan hasil uji kepekaan *M. tuberculosis* terhadap obat anti tuberkulosis lini kedua akan membantu klinisi membuat keputusan dalam pemilihan terapi obat dan membantu untuk mencegah penyebaran MDR TB. Di Indonesia saat ini uji kepekaan yang dipakai adalah dengan metode proporsi agar. Metode ini menggunakan media Lowenstein Jensen (LJ) yang merupakan gold standard yang sensitif tetapi membutuhkan waktu lama untuk pertumbuhan bakteri (umumnya 21 hari semenjak awal uji). Media cair seperti BACTEC *Mycobacterium Growth Indicator Tube* (MGIT) 960 mengurangi waktu pertumbuhan bakteri bila dibandingkan dengan pada media padat. Pada Juni 2007 WHO

merekomendasikan penggunaan media cair untuk kultur dan DST (Drug Susceptibility Testing) bagi negara miskin dan berkembang untuk menghadapi epidemik HIV-TB dan uji resistensi obat TB.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil uji kepekaan menggunakan media BACTEC MGIT 960 dan membandingkan hasil uji tersebut dengan uji kepekaan menggunakan media Lowenstein Jensen.

Metode

Penelitian eksperimental dilakukan di laboratorium Mikrobiologi FKUI pada April 2008 hingga Mei 2009 menggunakan 30 isolat *M. tuberculosis* yang berasal dari isolat stok Departemen Mikrobiologi FKUI dari tahun 2005-2008. isolat kontrol sensitif menggunakan strain H37Rv sedangkan isolat kontrol resisten obat anti-tuberkulosis lini kedua (amikasin/kanamisin serta resisten ofloksasin) menggunakan isolat yang berasal dari WHO Supranational Reference Lab. Network (IMVS Australia). Pada penelitian ini uji kepekaan OAT lini kedua (menggunakan ofloksasin, amikasin, dan kanamisin) dengan BACTEC MGIT 960 dikembangkan, dan diuji kecepatan dan akurasi. Semua isolat disubkultur pada media Lowenstein Jensen (LJ) sebelum diuji dengan obat anti-tuberkulosis.

Obat anti tuberkulosis lini kedua yang digunakan adalah ofloksasin (2 µg/ml), amikasin (1 µg/ml) dan kanamisin (5 µg/ml) yang berasal dari SIGMA yang dilarutkan dengan akuades steril dan disimpan pada suhu -70°C. Penghitungan konsentrasi antibiotik berdasarkan protokol dari WHO *Supranational Reference Laboratory Network* (IMVS Australia).^{5,6,7}

Persiapan Suspensi Bakteri

Bakteri disubkultur pada medium LJ. Disiapkan 3 botol dengan masing-masing diberi tulisan HEAVY 1(H1), HEAVY 2(H2) dan LIGHT (L) untuk pengenceran suspensi bakteri. Uji kepekaan dilakukan pada bakteri yang berumur 3-4 minggu. Dibuat suspensi bakteri yang densitasnya disetarakan dengan Mc Farland 0,5 (H1).^{5,6,7} Kemudian dibuat larutan dengan konsentrasi serial yaitu 1 ml suspensi bakteri tersebut selanjutnya dipindahkan ke tabung yang berisi akuades 4 ml (H2). Kemudian 100 µl suspensi bakteri dari botol H2 dipindahkan ke dalam tabung yang berisi 10 ml aquades (L).

Uji Kepekaan

500 µl larutan botol H2 dipindahkan ke dalam tabung MGIT berlabel obat yang telah dipersiapkan dan 500 µl suspensi bakteri dari botol L dipindahkan ke dalam tabung MGIT berlabel kontrol yang telah dipersiapkan. Tabung MGIT kontrol dan tabung yang berisi obat ditempatkan dalam rak khusus dan dimasukkan ke dalam mesin MGIT. Hasil pemeriksaan didapatkan dari mesin setelah inkubasi 5-19 hari. Mesin MGIT akan mengeluarkan sinyal merah (positif) bila Growth Unit (GU) dalam tabung 400. Hasil uji kepekaan dengan media BACTEC MGIT 960 dibandingkan dengan uji kepekaan menggunakan media Lowenstein Jensen (gold standard).

Analisis Data

Data hasil uji kepekaan OAT lini kedua akan dianalisis menggunakan uji sensitifitas dan spesifisitas.

Hasil dan Pembahasan

Uji Kepekaan

Tabel 1 menunjukkan hasil uji kepekaan obat anti tuberkulosis lini kedua

menggunakan media BACTEC MGIT 960 dan uji kepekaan menggunakan media Lowenstein.

Tabel 1. Hasil uji kepekaan *M. tuberculosis* terhadap OAT lini kedua

OAT ($\mu\text{g/ml}$)	MGIT 960	Hasil Uji Kepekaan		Sensitifitas (%)	Spesifisitas (%)
		Lowenstein Jensen Sensitif	Resisten		
Ofloksasin (2 $\mu\text{g/ml}$)	Sensitif	26	1	100	75
	Resisten	0	3		
Amikasin (1 $\mu\text{g/ml}$)	Sensitif	21	0	96	100
	Resisten	1	8		
Kanamisin (5 $\mu\text{g/ml}$)	Sensitif	26	0	100	100
	Resisten	0	4		

Waktu Uji Kepekaan

Pada penelitian ini, uji kepekaan *M. tuberculosis* terhadap OAT lini kedua pada BACTEC MGIT 960 memberikan sinyal positif pada hari 5-12(rata-rata 9 hari).

Pembahasan

Ofloksasin

Pada penelitian ini terlihat bahwa uji kepekaan dengan MGIT 960 memberikan hasil yang sama dengan uji pada standar baku yaitu menggunakan media Lowenstein Jensen, terdapat 1 sampel yang memberikan hasil yang berbeda. Hal ini sesuai dengan penelitian Martin (2008) tentang uji kepekaan *M. tuberculosis* menggunakan MGIT manual di Brasil pada 188 isolat menunjukkan

hasil 147 isolat (78 %) sensitif dan 41 isolat (21 %) resisten terhadap ofloksasin.

Fluorokuinolon merupakan OAT lini kedua yang paling potensial untuk pengobatan MDR-TB karena mempunyai efek bakterisida yang cukup kuat. Ofloksasin merupakan turunan fluorokuinolon yang bekerja dengan menghambat enzim DNA gyrase sehingga proses replikasi dan transkripsi DNA *M. tuberculosis* terhambat. Resistensi *M. tuberculosis* terhadap ofloksasin terjadi karena mutasi pada subunit A (gen *gyr A*) pada DNA gyrase. Critical concentration untuk ofloksasin adalah 2 $\mu\text{g/ml}$.^{7,8,9}

Amikasin

Pada uji kepekaan dengan menggunakan amikasin terlihat bahwa hasil yang didapat hampir sama dengan

hasil uji kepekaan menggunakan media LJ, hanya 1 sampel yang memberikan hasil yang berbeda dengan nilai sensitifitas 95,5% serta spesifisitas 100%. Penelitian yang dilakukan Kruuner (2005) pada 133 isolat yang dilakukan uji kepekaan amikasin dengan konsentrasi 1 µg/ml menggunakan media MGIT 960 menunjukkan hasil 108 isolat (81,20 %) sensitif dan nilai spesifisitas uji ini adalah 96 % serta spesifisitasnya 99 %. Sensitifitas dan spesifisitas MGIT 960 yang tinggi memperlihatkan bahwa MGIT 960 baik untuk uji kepekaan *M. tuberculosis* terhadap amikasin. Amikasin merupakan obat suntik yang golongan aminoglikosida yang bekerja dengan cara menghambat sintesis protein dengan mengikat ribosom 30S. Aminoglikosida hanya bekerja pada bakteri yang sedang membelah, oleh karena itu antibiotik ini hanya berguna pada pengobatan fase induksi. Amikasin umumnya aktif terhadap mikobakterium yang sudah resisten terhadap streptomisin.

Kanamisin

Pada penelitian ini didapatkan hasil yang sama dengan uji kepekaan menggunakan media LJ. Pada penelitian Bastian (2001) tentang uji kepekaan kanamisin pada MGIT dengan konsentrasi kanamisin 5 µg/ml didapat nilai sensitifitas 100 % dan spesifisitas 97 % dengan waktu rata-rata hasil uji kepekaan *M. tuberculosis* terhadap kanamisin adalah 5,1 hari. Kanamisin merupakan OAT yang berperan dalam menghambat sintesis protein dengan mengikat ribosom 30S.

Uji kepekaan terhadap obat anti-tuberkulosis konvensional membutuhkan waktu 3 sampai 8 minggu untuk mengidentifikasi strain sensitif atau resisten terhadap OAT. Medium cair seperti *Mycobacterium Growth Indicator Tube*

(MGIT) membutuhkan waktu inkubasi kurang lebih 15 hari untuk menumbuhkan *M. tuberculosis*, 1-2 minggu lebih cepat bila dibandingkan pertumbuhannya pada media padat. Hal ini sesuai dengan Martin (2008) bahwa penggunaan media padat dibutuhkan 3 sampai 8 minggu untuk mengetahui strain yang sensitif atau resisten terhadap OAT, sedangkan media cair dapat membantu mempersingkat lamanya pemeriksaan, yaitu 15 hari.¹⁰

Pada Juni 2007 WHO merekomendasikan penggunaan media cair untuk kultur dan uji kepekaan bagi negara sedang berkembang untuk menghadapi epidemi HIV-TB dan resistensi obat TB, MGIT merupakan metode yang sensitif dan cepat untuk uji kepekaan *M. tuberculosis* terhadap OAT lini pertama tetapi belum ada metode uji standar untuk OAT lini kedua.

Diagnosis laboratorium MDR-TB dan XDR TB (extensively drug resistant TB) menggunakan BACTEC MGIT 960 untuk obat lini kedua yang diaplikasikan langsung pada sampel sputum dapat menghemat waktu pemeriksaan.

Tidak tersedianya kit komersial OAT lini kedua sepertinya OAT lini pertama yang dikenal sebagai kit SIRE menyebabkan pembuatan larutan kerja obat harus dipersiapkan secara akurat. Kualitas kontrol menggunakan strain H37Rv sebagai kontrol sensitif dan strain yang resisten terhadap obat anti tuberkulosis lini kedua harus selalu dilakukan untuk meningkatkan keakuratan hasil uji. Selain itu pembacaan hasil resisten atau sensitif tidak secara otomatis dibaca oleh alat seperti halnya pada lini pertama. Hasil harus dianalisis secara manual dengan melihat nilai Growth Unit (GU) yang dikeluarkan oleh

alat. Jika nilai GU 400 maka dikatakan isolat tersebut resisten.

Kesimpulan

Penggunaan media BACTEC MGIT 960 untuk uji kepekaan obat anti tuberkulosis mempunyai kelebihan yaitu hasil yang lebih cepat dibandingkan dengan Lowenstein Jensen (LJ) dengan hasil yang sama akurat dan sensitif. Sedangkan kekurangannya dibandingkan dengan LJ yaitu membutuhkan biaya yang lebih mahal dan tingkat kontaminasi pengujian menggunakan MGIT 960 juga tinggi.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih dan penghormatan kami sampaikan kepada Laboratorium Mikrobiologi FKUI untuk kesempatan yang telah diberikan bagi penulis untuk melakukan penelitian.

Daftar Rujukan

1. *Lembar Fakta TB*. Diunduh 2009 Mei 3 dari http://www.tbindonesia.or.id/pdf/Lembar_Fakta_TB.pdf.
2. Jawetz, Melnick dan Adelberg's. *Medical microbiology*, ed.23. California: Appleton and Lange. 2004. p.319, 321-4.
3. *Clinical Microbiology Reviews*, July 2003, p. 463-496
4. Sjahrurachman Agus. *Kultur dan uji kepekaan M. tuberculosis terhadap obat anti tuberculosis lini pertama*. Departemen Kesehatan RI. 2008.
5. World Health Organization(WHO). *Policy Guidance on Drug Susceptibility Testing (DST) of Second-line Anti-Tuberculosis Drugs*, Final Draft. Geneva, October 2007.
6. SOP BACTEC MGIT 960 SIRE Kit, Uji Kepekaan Obat Anti Tuberkulosis. Lab. Mikrobiologi Klinik FKUI
7. Protokol pemeriksaan uji resistensi berdasarkan Guidelines for drugs susceptibility Testing For Second-Line anti Tuberculosis for Dots-Plus tahun 2001
8. Martin A, von Groll A, Fissette K, Palomino J.C, Varaine F, Portaels F. *Rapid detection of Mycobacterium tuberculosis Resistance to Second-Line Drugs by Use of the Manual Mycobacterium Growth Indicator Tube System*. J. Clin. Microbiol. 2008.46(12); 3952-6.
9. Armen Muchtar. *Farmakologi Obat Anti-tuberkulosis (OAT) Sekunder*. J. Tuberkulosis Indonesia 3(8), 23-28.
10. World Health Organization. XDR- TB, Extensively Drug-Resistant Tuberculosis. Diunduh 2007 Juli 23 dari http://www.who.int/xdrmap_20june_en.pdf.
11. Hillemann D, Weizenegger M, Kubica T, Richter E, Niemann S. *Use of Genotype MTBDR Assay for Rapid Detection of Rifampin and Isoniazid Resistance in Mycobacterium tuberculosis Complex Isolates*. J. Clin. Microbiol. Aug. 2005, p. 3699-703
12. Bastian I, Rigouts L, Palomino J. C, Portaels F. *Kanamycin susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis using Mycobacterium Growth Indicator Tube and a colorimetric method*. Antimicrob. Agents Chemother. 2001. 45:1934-6