

IN VITRO COMPARISON OF MINIMAL INHIBITORY CONCENTRATION (MIC) GRISEOFULVIN, ITRACONAZOLE, AND TERBINAFFINE AGAINST THE CAUSATIVE AGENT OF DERMATOPHYTOSIS ON GLABROUS SKIN IN MAKASSAR

Sari Handayani Pusadan^{1*}, Zakiani Sakka¹, Safruddin Amin², Nasrum Massi³

¹Departemen Kulit dan Kelamin, Fakultas Kedokteran, Universitas Alhairaat Palu, Sulawesi Tengah

²Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar

*Corresponding author: Telp: +62811454022 / +6281392003969 email: sari.diyana@gmail.com

ABSTRAK

Dermatofitosis adalah infeksi jamur golongan dermatofit, yaitu organisme yang menyerang jaringan keratin pejamunya. Tiga genus dermatofit yaitu: *Epidermophyton*, *Microsporum* dan *Trichophyton*. Menentukan KHM griseofulvin, itrakonazol dan terbinafin terhadap isolat agen penyebab dermatofitosis kulit *glabrous*. Pengambilan data deskriptif potong lintang dengan uji kepekaan griseofulvin, itrakonazol dan terbinafin terhadap isolat koloni dermatofit yang tumbuh melalui tehnik mikrodilusi kaldu pada Laboratorium Mikrobiologi RS Pendidikan UNHAS Makassar. Griseofulvin, itrakonazol dan terbinafin peka terhadap sebagian besar agen penyebab dermatofitosis pada kulit *glabrous* di Makassar yaitu dengan persentase kepekaan griseofulvin 96,15%, itrakonazole 96,30% dan terbinafin 100% dari 27 isolat dermatofit yang dapat diidentifikasi. Spesies yang telah resisten terhadap griseofulvin adalah *Trichophyton rubrum*, spesies yang resisten terhadap itrakonazole adalah *Microsporum audouinii* sedangkan terbinafin peka terhadap kedua Spesies *Trichophyton* dan *Microsporum*. KHM Itrakonazole lebih rendah dari griseofulvin dan lebih tinggi dibanding Terbinafin mengindikasikan bahwa terbinafin merupakan antifungal yang lebih peka dibanding kedua golongan obat tersebut.

Kata kunci: dermatofitosis, griseofulvin, itrakonazole, KHM, terbinafin

ABSTRACT

Dermatophytosis is a fungal infection of the dermatophyte group, namely organisms that attack the keratin tissue of their host. The three genera of dermatophytes are: Epidermophyton, Microsporum and Trichophyton. Objectives: Determine the MIC of griseofulvin, itraconazole and terbinafine against isolates of the causative agent of glabrous skin dermatophytosis. Methods: Collecting descriptive cross-sectional data using griseofulvin, itraconazole and terbinafine sensitivity tests on dermatophyte colony isolates growing using the broth microdilution technique at the Microbiology Laboratory of the Makassar UNHAS Teaching Hospital. Result: Griseofulvin, itraconazole and terbinafine were sensitive to most of the agents that cause dermatophytosis on glabrous skin in Makassar, namely with a sensitivity percentage of griseofulvin 96.15%, itraconazole 96.30% and terbinafine 100% of the 27 dermatophyte isolates that could be identified. The species that is resistant to griseofulvin is Trichophyton rubrum, the species that is resistant to itraconazole is Microsporum audouinii while terbinafine is sensitive to both Trichophyton and Microsporum species. Conclusions: The MIC of Itraconazole is lower than griseofulvin and higher than Terbinafine, indicating that terbinafine is a more sensitive antifungal than these two groups of drugs.

Keywords: dermatophytosis, griseofulvin, itraconazole, KHM, terbinafine

PENDAHULUAN

Jamur penyebab dermatofitosis adalah dermatofit, suatu kelompok jamur yang berfilamen yang dikenal sebagai *ringworm fungi*. Organisme yang menyerang jaringan keratin pejamunya diklasifikasikan menjadi tiga genus, yaitu *Epidermophyton*, *Microsporum* dan *Trichophyton*.¹

Pada umumnya obat antifungi berhubungan dengan biosintesis dan integritas ergosterol, sterol utama pada membran sel jamur. Kelompok lainnya mengganggu dinding sel jamur. Berdasarkan mekanisme aksi antifungi, dapat dibagi menjadi lima kelompok agen, yaitu poliene, azole, alilamin, ekinokandin dan agen lain termasuk griseofulvin dan flusitosin.²

Tes kepekaan dermatofit menjadi alat penting dalam meneliti kepekaan suatu obat antifungi terhadap dermatofit. Mahmoud Ghannoum menemukan suatu tes kepekaan antifungi (AST = *Antifungi Susceptibility Testing*). Fungsi AST ini memungkinkan klinisi menghubungkan data KHM secara *in vitro* dengan hasil klinis dan dapat memprediksi hasil terapi.⁶

Penelitian berikut ini untuk melihat perbandingan kepekaan Griseofulvin, itrakonazol dan terbinafin terhadap bahan isolat agen penyebab dermatofitosis secara *in vitro*, seperti halnya yang terlihat di dalam klinis. Belum ada data epidemiologi tentang kepekaan Itrakonazole dan terbinafin seperti pada Griseofulvin dan ketokonazole terhadap dermatofit secara *in vitro* dimakassar

METODOLOGI

Penelitian ini dilakukan analisis statistik secara analitik observasi dan deskriptif untuk mengetahui perbandingan kepekaan griseofulvin, itrakonazol dan terbinafin terhadap agen dermatofitosis *Trichophyton sp*, *Epidermophyton sp*, dan *Microsporum sp*. Penelitian dilakukan di Bagian Ilmu

Kesehatan Kulit dan Kelamin RS Dr. Wahidin Sudirohusodo dan RS Jejaring di Makassar. Pasien yang secara klinis didiagnosis dermatofitosis akan dilakukan pemeriksaan KOH 10% untuk sampel kulit serta dilakukan kultur pada media *Sabouraud Agar* (Glucose peptone agar yang mengandung 0,05 mg per ml kloramfeikol dan 0,008 mg per ml gentamisin). Pemeriksaan kerokan KOH 10% dan 20%. Kultur dan uji kepekaan dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Pertumbuhan jamur akan diperiksa 1-2 minggu setelah inkubasi pada suhu 30°C. Isolat sampel yang memenuhi kriteria inklusi akan diidentifikasi dan dikelompokkan berdasarkan spesies dan tipe dermatofitosis. Identifikasi spesies berdasarkan morfologi makroskopik dan mikroskopik koloni yang terbentuk sesuai dengan *guidelines Mycology Reference Laboratory* (MRL).

Masing-masing spesies akan diuji dengan uji kepekaan griseofulvin, itrakonazol dan terbinafin dengan metode uji mikrodilusi kaldu. Obat griseofulvin, itrakonazol dan terbinafin yang digunakan adalah dalam bentuk standar (*reference powder*) yang didapat secara komersil atau langsung dari produsen. *Reference powder* memiliki label yang menyatakan *assay potency* obat-obat tersebut (dalam mg atau internasional unit per bubuk). Kedua jenis obat tersebut dilarutkan dalam DMSO 10%. Stok larutan ini steril dan tidak menyokong pertumbuhan mikroorganisme lain. Disimpan pada suhu -20⁰-60⁰ C. Dilakukan persiapan untuk medium Assay yaitu medium kaldu yang dianjurkan adalah medium sintetik (*completely Synthetic Medium*). Standar yang dipakai adalah NCCLS M27-A2 adalah RPMI1640 (dengan glutamine tanpa bikarbonat dan dengan phenolred sebagai indikator pH. Medium harus dibuffer hingga mencapai pH 7,0± 0,1 pada suhu 25 C. buffer yang dipilih adalah yang tidak mengantagonis

jamur, dipilih buffer MOPS atau m phosphate. Isolat jamur atau Inokulum yang akan digunakan diperoleh dari biakan (subkultur) isolat pada SDA yang diproses pada suhu inkubasi 35° C untuk menjamin kemurnian dan viabilitas. Inokulum disiapkan dalam koloni diameter 1 mm dari biakan jamur berumur 24 jam, sebanyak 3-5 koloni. Koloni tersebut dilarutkan dalam 5 ml 0,855 NS. Suspensi dikocok dengan vortex selama 15 detik dan kepadatan sel kemudian disesuaikan dengan spektrofotometer dengan menambahkan salin steril hingga tercapai transmisi yang sesuai dengan yang dihasilkan standar 0,5 Mc Farland pada panjang gelombang 530 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

HASIL

Spesimen skuama pasien dermatofitosis yang terkumpul adalah 40 spesimen dan dilakukan kultur terhadap spesimen tersebut, namun hanya ada 27 koloni yang dapat dilakukan tes resistensi, karena kultur lainnya tidak terdapat pertumbuhan koloni, terkontaminasi *Aspergillus* atau pertumbuhan koloni *Candida* (nondermatofit).

Tabel 1. Jumlah isolat koloni dermatofit berdasarkan spesies

Dermatofit	Jumlah isolat
<i>Trichophyton spp</i>	
<i>Trichophyton mentagrophyt</i>	6
<i>Trichophyton rubrum</i> (granular type)	2
<i>Trichophyton rubrum</i> (downy type)	2
<i>Trichophyton rubrum</i>	2
<i>Trichophyton rubrum</i> (melanoid type)	1
<i>Trichophyton mentagrophytes</i> (downy type)	1
<i>Trichophyton verrucosum</i>	1

<i>Trichophyton concentricum</i>	1
<i>Trichophyton violaceum</i>	1
<i>Microsporum spp</i>	
<i>Microsporum audouinii</i>	7
<i>Microsporum ferrugineum</i>	2
<i>Microsporum distortum</i>	1

Berdasarkan penelitian eksperimental, berikut pada tabel 1 menunjukkan perbandingan KHM terhadap spesies Dermatofit, sebagai berikut:

Tabel 2. Perbandingan KHM terhadap spesies Dermatofit

Spesies Dermatofit	Antifungal agent	KHM
T.mentagropites	Griseofulvin	0,015625
	Itrakonazole	0,5 - 0,015625
	Terbinafin	0,25 - 0,015625
M.audonii	Griseofulvin	0,125 - 0,015625
	Itrakonazole	1 - 0,015625
	Terbinafin	1 - 0,015625
T.verrucosum	Griseofulvin	0,25
	Itrakonazole	0,125
	Terbinafin	0,125
T.rubrum tipe melanoid	Griseofulvin	0,03125
	Itrakonazole	0,0625
	Terbinafin	0,0625
T.rubrum tipe downy	Griseofulvin	2 - 0,015625
	Itrakonazole	0,0625 - 0,015625
	Terbinafin	0,25 - 0,015625
M.ferrugineum	Griseofulvin	0,015625
	Itrakonazole	0,03125 - 0,015625

	Terbinafin	0,0625 - 0,015625
T.concentricum	Griseofulvin	0,03125
	Itrakonazole	0,0625
	Terbinafin	0,0625
T.violaceum	Griseofulvin	0,01325
	Itrakonazole	0,03125
	Terbinafin	0,03125
M.distorum	Griseofulvin	0,125
	Itrakonazole	0,125
	Terbinafin	0,125
T.rubrum	Griseofulvin	2 - 0,125
	Itrakonazole	0,125 - 0,03125
	Terbinafin	0,125 - 0,0625
T.mentagropites tipe downy	Griseofulvin	0,0625
	Itrakonazole	0,03125
	Terbinafin	0,03125

Kisaran KHM griseofulvin terhadap dermatofit pada penelitian ini adalah 0,015625 - >2 ug/ml, 29,63% isolat terbanyak yang peka pada KHM 0,125 ug/ml (8 isolat koloni), yaitu *T.mentagrophytes*, *M.audouinii*, *T.rubrum* dan *M.distortum* memiliki KHM 0,125 ug/ml; kemudian 25,93% isolat terbanyak kedua yang peka pada KHM 0,015625 ug/ml (7 isolat koloni), yaitu: *M. Audouinii*, *M. ferrugineum*, *T.mentagrophytes* dan *T. Rubrum downy type*. 18,52% isolat yang peka pada KHM 0,03125 ug/ml (5 isolat koloni), yaitu: *T.mentagrophytes*, *T.rubrum melanoid type*, *T.concentricum*, *T.violaceum* dan *T.mentagrophytes downy type*. sedangkan 7 spesies lainnya memiliki KHM bervariasi antara 0,0625 ug/ml sampai 2 ug/ml.

Kisaran KHM itrakonazole terhadap dermatofit pada penelitian ini adalah 0,015625 - >1 ug/ml, 25,93% isolat terbanyak yang peka pada KHM 0,03125 ug/ml (7 isolat

koloni), yaitu *T.mentagrophytes*, *T.violaceum*, *T. rubrum*, *T.mentagrophytes downy type*, *M. audouinii* dan *M. ferrugineum*. kemudian 22,22% isolat terbanyak kedua yang peka pada KHM 0,015625 ug/ml dan KHM 0,0625 ug/ml (masing-masing 6 isolat koloni), yaitu: *T. rubrum granuler type*, *T. mentagrophytes*, *T. rubrum downy type*, *M. audouinii* dan *M. ferrugineum* peka pada KHM 0,015625 ug/ml serta *T. mentagrophytes*, *T. rubrum melanoid type*, *T. rubrum downy typ*, *T. concentricum* dan *M. audouinii* peka pada KHM KHM 0,0625 ug/ml. 8 spesies lainnya memiliki KHM bervariasi antara 0,125 ug/ml sampai 1 ug/ml.

Kisaran KHM terbinafin terhadap dermatofit pada penelitian ini adalah 0,015625 - > 0,25 ug/ml, 40,74% isolat terbanyak yang peka pada KHM 0,015625 ug/ml (11 isolat koloni), yaitu *T.rubrum granuler type*, *T.Mentagrophytes*, *T.mentagrophytes downy type*, *M. audouinii*, dan *M. ferrugineum*. isolat terbanyak kedua yang peka pada KHM 0,0625 ug/ml (6 isolat koloni), yaitu: *T. concentricum*, *T. violaceum*, *T. rubrum* dan *M. ferrugineum*. 10 spesies lainnya memiliki KHM bervariasi antara 0,03125 ug/ml sampai 0,25 ug/ml.

PEMBAHASAN

Penelitian ini memperlihatkan dermatofit terbanyak sebagai penyebab dermatofitosis kulit *glabrous* di Makassar selama 3 bulan adalah *T. Rubrum* (7 isolat), *M. audouinii* (7 isolat) dan *T. mentagrophytes* (7 isolat) dari 27 kasus. Penelitian epidemiologi infeksi dermatofit di Iran memperlihatkan *E. floccosum*, *T. verrucosum* dan *T. rubrum* sebagai dermatofit penyebab dermatofitosis pada sela paha dan batang tubuh.⁹ Dermatofit yang endemik di Asia dan Afrika antara lain *T.soudanense*, *T. violaceum* dan *M. audouinii*.¹⁰

Penelitian oleh Alio dkk menunjukkan KHM griseofulvin terhadap *T.rubrum* 1-5/0,013-1,56 ug/ml, *T.mentagrophytes* 1-10/<0,25 ug/ml, *Microsporum spp* 1-10/0,25-1 ug/ml.¹¹ Goh dkk menentukan KHM griseofulvin terhadap *T.rubrum* <0,25->64 ug/ml dan *T.mentagrophytes* <0,25 - 1 ug/ml.¹² Hazen KC menentukan KHM griseofulvin terhadap *T. Mentagrophytes* $\geq 64 - 2$ dan *Microsporum spp* $\geq 128 - 32$.¹³ Pada penelitian ini menunjukkan KHM griseofulvin terhadap *Trichophyton spesies* 0,015625-2 ug/ml, *T.rubrum* 0,015625-2 ug/ml, *T. Mentagrophytes* 0,015625-0,25 ug/ml, *Microsporum spp* 0,015625-0,125 ug/ml.

Penelitian oleh Hazen KC, menunjukkan KHM itrakonazole terhadap *T. rubrum* $\leq 0,0039$, $0,0156$ ug/ml, *T.mentagrophytes* $\leq 0,0313 - \leq 0,0039$ ug/ml, *Microsporum spp* $\leq 0,0039$ ug/ml.¹⁴ Elewski BE menentukan KHM itrakonazole terhadap *Trichopyton spesies* $\leq 0.06-1,0$ (0,12) ug/ml dan *Microsporum spesies* $\leq 0.06-0,5$ (0,25) ug/ml.¹⁵ Pada penelitian ini menunjukkan KHM itrakonazole terhadap *Trichophyton spesies* 0,015625-0,5 ug/ml, *T. rubrum* 0,015625-0,25 ug/ml, *T.Mentagrophytes* 0,015625-0,5 ug/ml, *Microsporum spp* 0,015625-1 ug/ml.

Penelitian oleh Hazen KC, menunjukkan KHM terbinafin terhadap *T. Rubrum* $\leq 0,0313 - \leq 0,0039$ ug/ml, *T.mentagrophytes* $\leq 0,0078 - \leq 0,0039$ ug/ml, *Microsporum spp* $\leq 0,0156 - \leq 0,0078$ ug/ml.¹⁴ Elewski BE menentukan KHM Terbinafin terhadap *Trichopyton spesies* ≤ 0.06 (≤ 0.06) ug/ml dan *Microsporum spesie* ≤ 0.06 (≤ 0.06) ug/ml.¹⁵ Leyden J menentukan KHM Terbinafin terhadap *Trichopyton spesies* ≤ 0.06 , *T. rubrum* $\leq 0,001 - \leq 0,038$ ug/ml, *Trichopyton verrucosum* 0,001-0,006 ug/ml, *T. Mentagrophytes* 0,001-0,006 ug/ml dan *Microsporum spesies* 0,002-0,07.¹⁶ Pada

penelitian ini menunjukkan KHM terbinafin terhadap *Trichophyton spesies* 0,015625-0,25 ug/ml, *T. rubrum* 0,015625-0,25 ug/ml, *T.Verrucosum* 0,0625 ug/ml, *T.Mentagrophytes* 0,015625-0,25 ug/ml, dan *Microsporum spp* 0,015625-125 ug/ml.

Penelitian yang dilakukan Hazen KC menyimpulkan bahwa terbinafin dan itrakonazole memiliki KHM yang rendah. Perbandingan Konsentrasi fungisidal minimal (KFM) dan KHM terbinafin terhadap dermatofit lebih rendah dibanding itrakonazole. Aktifitas fungisidal terbinafin sangat tinggi dan menghambat lebih cepat (7 jam) dibandingkan itrakonazole yang sangat rendah (aktifitas fungisidalnya sampai 10-12 jam).¹⁴

Pada penelitian ini, memperlihatkan kepekaan isolat dermatofit terhadap ke tiga golongan obat antifungi yaitu griseofulvin, itrakonazole dan terbinafin yang masih tinggi dengan masing-masing persentase griseofulvin 96,15%, itrakonazole 96,30% dan terbinafin 100% dari 27 isolat dermatofit. Hal ini sesuai dengan beberapa penelitian sebelumnya tentang kepekaan ketiga jenis antifungal yang telah di paparkan diatas. Ketiga antifugal tersebut masih efektif dengan tingkatan yang berbeda-beda terhadap berbagai agen dermatofit.

Didapatkan hampir pada semua penelitian bahwa terbinafin merupakan antifungi dengan efektifitas tertinggi dibandingkan itrakonazole dan griseofulvin. Walaupun terdapat satu penelitian oleh Tey HL., dkk, yang memperlihatkan griseofulvin yang lebih efektif dibandingkan terbinafin terhadap spesies *Microsporum* (0,408; 95% CI=0,254-0,656; $p < .001$).¹⁷

KESIMPULAN

Interpretasi akhir penentuan kepekaan dan resistensi antifungal terhadap dermatofit belum dapat ditegakkan Kesesuaian relevansi

klinis dan hasil KHM masih belum dapat ditentukan, karena terdapat kesulitan untuk menghubungkan proses in vitro dan in vivo.

DAFTAR PUSTAKA

1. Rinaldi MG. Dermatophytosis: epidemiological and microbiological update. *J Am Acad Dermatol*; 2000; 43: S120-4.
2. Chen SC, Sorrel TC. New drugs, Old drugs: Antifungal agents. *MJA*, 2007; 187: 404-9.
3. Roberts B, Friedlander S. Tinea capitis : a treatment update. *Pediatr Ann*. 2005; 34: 191-200.
4. Arrese JE, Pierard GE. Treatment Failures and Relapses in Onychomycosis: A Stubborn Clinical Problem. *Dermatology*. 2003; 207: 255-60.
5. Tripathi KD. Anti fungal drugs. In: *Essentials of Medical Pharmacology*. 1999; 4: 770-8.
6. Winnington P. Analysis of Dermatophyte Species Isolated in the British Isles between 1980 and 2005 and review of worldwide dermatophyte trends over the last three decades. *Med Mycol*. 2008; 12: 54-8.
7. Niewerth M, Splanemann V, Korting H, Ring J, Abeck D. Antimicrobial susceptibility testing of dermatophytes- comparison of the agar macrodilution and broth microdilution tests. *Chemotherapy*. 1997; 44: 31-5.
8. Hazen, KC. Evaluation of in vitro susceptibility of dermatophytes to oral antifungal agents. *J Am Acad Dermatol*. 2000; 43: S125-9.
9. Rassai S, Feily A, Sina A, Derakhshanmehr F. Some Epidemiological Aspects Of Dermatophyte Infections In Southwest Iran. *Acta Dermatovenerol Croat*. 2011; 19(1):13-5.
10. Ameen M. Epidemiology of superficial fungal infections. *Clin in Dermatol*. 2010; 28: 197-201.
11. Alio A, Mendoza M, Zambrano A, Al E. Dermatophytes growth curve and in vitro susceptibility test: a broth micro-titration method. *Med Mycol*. 2005; 319-25.
12. Goh C, Tay Y, Ali K, Koh M, Seow C. In vitro evaluation of griseofulvin, ketoconazoles and itraconazoles against various dermatophytes in singapore. *Int J Dermatol*. 1994; 33: 733-7.
13. Hazen KC. Fungicidal versus fungistatic activity of terbinafine and itraconazole: an in vitro comparison. *J Am Acad Dermatol*. 1998; 38: S37-41.
14. Elewski BE, Caceres HW, DeLeon L, Shimy SE, Hunter JA, Korotkiy N, et al. Terbinafine hydrochloride oral granules versus oral griseofulvin suspension in children with tinea capitis: results of two randomized, investigator - blinded, multicenter, international, controlled trials. *J Am Acad Dermatol*. 2008; 59: 41-54.
15. Leyden JJ. Pharmacokinetics and pharmacology of terbinafine and itraconazole. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 1998; 38: 5.
16. Tey HL, Tan ASL, Chan YC. Meta-analysis of randomized, controlled trials comparing griseofulvin and terbinafine in the treatment of tinea capitis. *J Am Acad Dermatol*. 2011; 64: 663-70.