

INTISARI

Tuberkulosis (TB) merupakan salah satu penyakit infeksi di berbagai negara. Standar terapi TB menggunakan sediaan *fixed dose combination* (FDC), yang terdiri dari rifampisin (RIF), pirazinamid (PZA), isoniazid (INH) dan etambutol (EMB). Obat-obat tersebut berpotensi menyebabkan hepatotoksitas, kejadian di BBKPM Makassar sebesar 23,5%. Suplementasi ekstrak ikan gabus (EIG) pada pasien TB menunjukkan kenaikan indeks massa tubuh, kenaikan albumin dan percepatan status BTA negatif. Penggunaan FDC dan EIG secara bersamaan berpotensi mempengaruhi farmakokinetik obatnya. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk memvalidasi metode analisis LC-MS/MS untuk determinasi obat antituberkulosis lini pertama FDC dan aplikasinya pada studi farmakokinetik obat antituberkulosis FDC akibat pemberian EIG. Efek samping obat antituberkulosis dan pengaruhnya pemberian EIG dievaluasi berdasarkan perubahan SGPT, SGOT, ALP dan albumin serta histopatologi hepar.

Studi farmakokinetik dilakukan menggunakan tikus yang mendapatkan obat antituberkulosis FDC yang dikelompokkan menjadi kelompok kontrol dan perlakuan suplemen EIG dosis 54 mg/200 gBB. Sampling darah dilakukan pada waktu-waktu tertentu dan disimpan dalam bentuk serum. Evaluasi efek samping obat dilakukan pada tikus yang mendapatkan obat antituberkulosis dan EIG. Perubahan kimia darah dilakukan dengan reagen kit yang sesuai dan dibaca dengan spektrofotometer Vis serta histopatologi hepar dilakukan oleh dokter spesialis patologi. Preparasi sampel untuk penetapan kadar dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan metanol. Validasi metode analisis dilakukan dengan menggunakan LC-MS/MS dan fase gerak yaitu campuran metanol dan air secara *gradient* dengan kecepatan 0,4 mL/menit.

Hasil linieritas untuk INH, PZA dan RIF yaitu 0,02-25 µg/mL dan 0,02-6,00 µg/mL (EMB). Rentang %*recovery* EMB (91,0-111,2%), INH (95,5-116,9%), PZA (98,2-112,9%) dan RIF (81,2-113,4%). Presisi *intra-day* menunjukkan nilai RSD berturut-turut yaitu 0,7-8,3%; 3,5-9,4%; 4,0-8,6% dan 2,0-7,7% dan *inter-day* yaitu 2,0-5,9%; 3,8-7,3%; 5,0-7,6% dan 5,1-8,4%. Batas bawah kuantifikasi semua obat yaitu 0,02 µg/mL. Suplementasi EIG menurunkan kadar SGPT, SGOT, ALP dan kenaikan kadar albumin dibandingkan kelompok yang mendapatkan obat antituberkulosis FDC. Pemberian tunggal EIG tidak mempengaruhi profil farmakokinetik EMB ($p>0,05$), namun naik signifikan ($p<0,05$) untuk t_{maks} INH, volume distribusi (V_d), klirens (Cl) dan AUC PZA dan C_{maks} RIF dan PZA. Pemberian berulang EIG tidak mempengaruhi parameter farmakokinetik EMB dan RIF ($p>0,05$), namun mempengaruhi V_d , t_{maks} dan AUC_{0-∞} INH ($p<0,05$), dan mempengaruhi t_{maks} PZA ($p<0,05$). Metode LC-MS/MS memenuhi persyaratan validasi metode. Suplementasi EIG memberikan efek penurunan efek samping obat antituberkulosis. Pemberian EIG tunggal menyebabkan bioavailabilitas RIF dan PZA naik ($p<0,05$), sedangkan EMB dan INH tidak berubah signifikan ($p>0,05$), pemberian EIG berulang menyebabkan bioavailabilitas INH naik ($p<0,05$) sedangkan EMB, RIF dan PZA tidak naik signifikan ($p>0,05$).

Kata kunci: obat anti tuberkulosis, LC-MS/MS, validasi metode, ekstrak ikan gabus, profil farmakokinetik, efek samping obat

ABSTRACT

Tuberculosis (TB) is an infectious disease in any countries. Standard TB therapy uses fixed dose combination (FDC) regimen, which consist of rifampicin (RIF), pyrazinamide (PZA), isoniazid (INH) and ethambutol (EMB). These drugs have the potential to cause hepatotoxicity, the incidence at BBKPM Makassar was 23.5%. Supplementation of snakehead fish extract (EIG) in TB patients shows an increase in body mass index, an increase in albumin and an acceleration of BTA negative status. Concomitant use of FDC and EIG has the potential to affect the pharmacokinetics of the drug. Therefore, this study aims to validate the LC-MS/MS analysis method for the determination of first-line antituberculosis drug FDC and its application in pharmacokinetic studies of antituberculosis drug FDC due to administration of EIG. The side effects of antituberculosis drugs and the effect of EIG administration were evaluated based on changes in SGPT, SGOT, ALP and albumin as well as liver histopathology.

Pharmacokinetic studies were carried out using mice that received the antituberculosis drug FDC which were grouped into control groups and those treated with EIG supplements at a dose of 54 mg/200 g.BW. Blood sampling is carried out at certain times and stored in the form of serum. Evaluation of drug side effects was carried out on mice that received antituberculosis drugs and EIG. Changes in blood chemistry are carried out with appropriate reagent kits and read with a Vis spectrophotometer and liver histopathology is carried out by a specialist pathologist. Sample preparation for assay using the liquid-liquid extraction method using methanol. Validation of the analytical method was carried out using LC-MS/MS and the mobile phase was a mixture of methanol and water in a gradient at a speed of 0.4 mL/minute.

The linearity of INH, PZA and RIF are 0.02-25 µg/mL and 0.02-6.00 µg/mL (EMB). Range %recovery of EMB (91.0-111.2%), INH (95.5-116.9%), PZA (98.2-112.9%) and RIF (81.2-113.4%). Intra-day precision shows consecutive RSD values of 0.7-8.3%; 3.5-9.4%; 4.0-8.6% and 2.0-7.7% and inter-day namely 2.0-5.9%; 3.8-7.3%; 5.0-7.6% and 5.1-8.4%. The lower limit of quantification for all drugs is 0.02 µg/mL. EIG supplementation reduced SGPT, SGOT, ALP levels and increased albumin levels compared to the group receiving the antituberculosis drug FDC. A single administration of EIG did not affect the pharmacokinetic profile of EMB ($p>0.05$), but increased significantly ($p<0.05$) for INH t_{max} , volume of distribution (V_d), clearance (Cl) and AUC of PZA and C_{max} of RIF and PZA. Repeated dose of EIG did not affect the pharmacokinetic parameters of EMB and RIF ($p>0.05$), but affected V_d , t_{max} and $AUC_{0-\infty}$ INH ($p<0.05$), and affected t_{max} of PZA ($p<0.05$). The LC-MS/MS method meets the method validation requirements. EIG supplementation has the effect of reducing of side effects of antituberculosis drugs FDC. A single administration of EIG caused the bioavailability of RIF and PZA to increase ($p<0.05$), while EMB and INH did not change significantly ($p>0.05$), repeated dose of EIG caused the bioavailability of INH to increase ($p<0.05$) while EMB, RIF and PZA did not increase significantly ($p>0.05$).

Keywords: antituberculosis drugs, LC-MS/MS, validation of analytical method, snakehead fish extract, pharmacokinetic profile, side effect of drugs