

ADLN – PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

**TESIS**

**STUDI PENGARUH KOMBINASI RIFAMPISIN DENGAN SENYAWA  
TURUNAN (-)-EPIKATEKIN SEBAGAI ANTI-TUBERKULOSIS DAN STUDI  
HKSA SENYAWA TURUNAN (-)-EPIKATEKIN**



**NUR MASYITHAH ZAMRUDDIN**

**PROGRAM MAGISTER PROGRAM STUDI ILMU FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2015**

**TESIS**

**STUDI PENGARUH KOMBINASI RIFAMPISIN DENGAN SENYAWA  
TURUNAN (-)-EPIKATEKIN SEBAGAI ANTI-TUBERKULOSIS DAN STUDI  
HKSA SENYAWA TURUNAN (-)-EPIKATEKIN**



**NUR MASYITHAH ZAMRUDDIN**

**051314153008**

**PROGRAM MAGISTER PROGRAM STUDI ILMU FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2015**

**STUDI PENGARUH KOMBINASI RIFAMPISIN DENGAN SENYAWA  
TURUNAN (-)-EPIKATEKIN SEBAGAI ANTI-TUBERKULOSIS DAN STUDI  
HKSA SENYAWA TURUNAN (-)-EPIKATEKIN**

TESIS

Untuk Memperoleh Gelar Magister  
Dalam Program Studi Magister Ilmu Farmasi  
Pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga

Oleh :

**Nur Masyithah Zamruddin**

NIM 051314153008

PROGRAM MAGISTER PROGRAM STUDI ILMU FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
**Tanggal 22 Januari 201**

**Lembar pengesahan**

**TESIS INI TELAH DISETUJUI  
TANGGAL 22 JANUARI 2016**

**Oleh  
Pembimbing Ketua**



**Prof. Dr. Siswandono, MS., Apt.  
NIP 195210021980021001**

**Pembimbing Serta**



**Prof. Dr. Djoko Agus Purwanto, Apt., M.Si  
NIP. 19590805 198701 1 001**

**Mengetahui,  
Koordinator Program Magister  
Program Studi Ilmu Farmasi  
Fakultas Farmasi Universitas Airlangga**



**Prof. Dr. Bambang Prajogo Eko W., MS., Apt  
NIP. 195612171985031004**

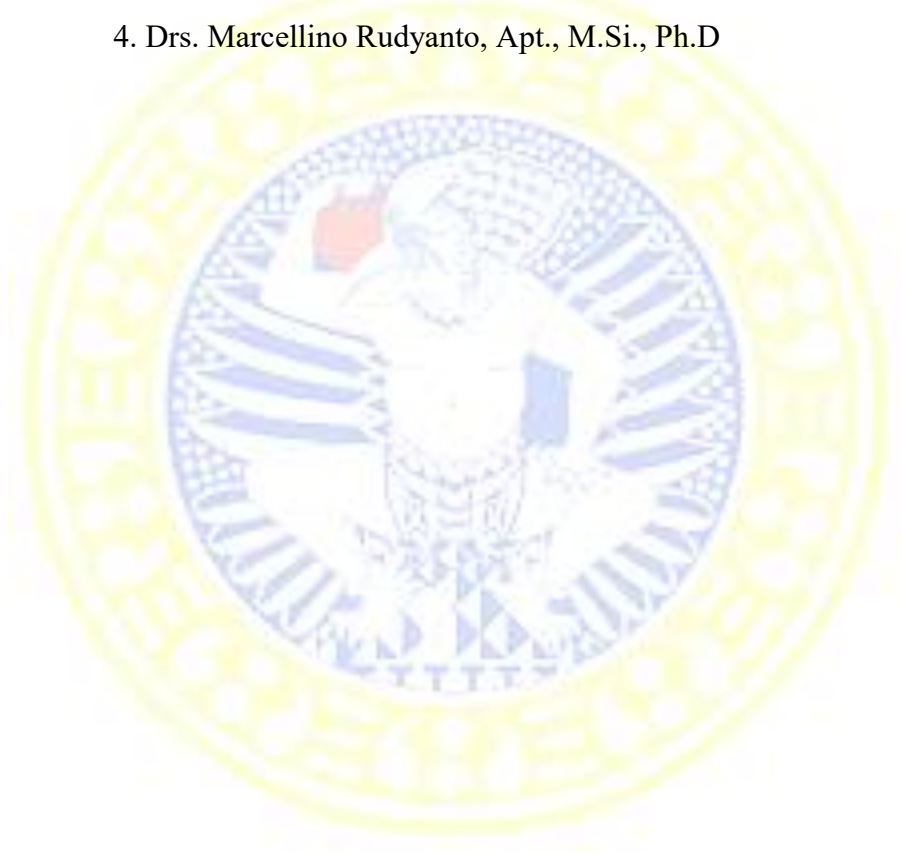
Telah diuji pada

Tanggal 23 Desember 2015

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Prof. Dr. Muhammad Zainuddin, Apt

Anggota : 1. Prof. Dr. Siswandono, MS., Apt.  
2. Prof. Dr. Djoko Agus Purwanto, Apt., M.Si  
3. Prof. Dr. Noor Erma Sugijanto, MS., Apt  
4. Drs. Marcellino Rudyanto, Apt., M.Si., Ph.D





## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadirat Allah SWT karena atas segala rahmat dan ridho-Nya penulis dapat menyelesaikan tesis ini dengan sebaik-baiknya. Tesis yang berjudul **“Studi Pengaruh Kombinasi Rifampisin dengan Senyawa Turunan (-)-Epikatekin sebagai Anti-Tuberkulosis dan Studi HKSA Senyawa Turunan (-)-Epikatekin”** ini dapat terselesaikan dengan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih dan penghargaan sebesar-besarnya pada :

1. Prof. Dr. Siswandono, MS., Apt. sebagai dosen pembimbing utama yang telah membimbing dan memberikan ilmunya dalam penyelesaian tesis ini.
2. Prof. Dr. Djoko Agus Purwanto, Apt., M.Si. sebagai dosen pembimbing serta yang memberikan ilmu dan bimbingannya sehingga tesis ini dapat terselesaikan.
3. Prof. Dr. Fasich, MS., Apt. selaku Rektor Universitas Airlangga Periode 2010-2015 dan Prof. Dr. Muhammad Nasih, MT Ak. selaku Rektor Universitas Airlangga Periode 2015-2020.
4. Dr. Umi Athiyah, MS., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang memberikan fasilitas dan prasarana yang dibutuhkan selama menempuh program magister.
5. Dr. Aty Widawaruyanti, M.Si., Apt. selaku Ketua, Drs. Hadi Poerwono, M.Sc., Ph.D., Apt. selaku Sekretaris dan Prof. Dr. Bambang Prajogo Eko W., MS., Apt. selaku Koordinator Program Studi S2 Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, yang memberikan sarana demi lancarnya studi magister.
6. Prof. Dr. Muhammad Zainuddin, Apt, Prof. Dr. Noor Erma Sugijanto, MS., Apt, Drs. Marcellino Rudyanto, Apt., M.Si., Ph.D sebagai dosen penguji tesis yang telah banyak memberikan saran demi sempurnanya tesis ini.
7. Para dosen di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah mendidik dan mengajarkan ilmunya.
8. Kedua orangtua Bapak H. Zamruddin Hasid dan Ibu Hj. Siti Umi Hanik, Suami tercinta Noordiansyah, anak tercinta Siti Sarah Noormalayla, kakak Mardliya Pratiwi Zamruddin dan Sabda Arief Zamruddin, adik Nur Hikmah Zamruddin,

serta seluruh keluarga besar yang telah membantu memberikan dukungan dalam pengerjaan tesis.

9. Teman seperjuangan, Anggita Mirzautika S.Farm., M.Farm., Apt, teman-teman minat pengembangan obat Rais Razak S.Farm., Apt, Alfian Febrian S.Farm., Apt dan Ahmad Marzuki S.Farm dan teman-teman lain yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.
10. Ibu Agnes dan Pak Sugeng dari Laboratorium *Institute of Tropical Disease* yang telah membantu dalam kegiatan penelitian
11. Pak Bakir dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Airlangga yang telah membantu dalam kegiatan penelitian
12. Pak Arie selaku staf administrasi S2 farmasi yang membantu dalam kelancaran administrasi perkuliahan.
13. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu atas bantuan dan dukungannya.

Akhir kata, semoga Allah senantiasa memberikan anugrah-Nya kepada kita semua. Semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi banyak orang dan dapat memberikan sumbangan untuk perkembangan ilmu pengetahuan dan ilmu kefarmasian di masa yang akan datang.

Surabaya, Desember 2015

Penyusun

### PERNYATAAN ORSINILITAS KARYA ILMIAH

Dengan ini saya menyatakan bahwa TESIS ini adalah ide asli atau murni dari saya yang diarahkan oleh Komisi Pembimbing saya, dan saya membuat proposal penelitian, melakukan penelitian, menuliskan laporan dalam bentuk naskah TESIS dengan pikiran dan tangan saya sendiri dengan arahan sepenuhnya Komisi Pembimbing saya pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Jika dikemudian hari ternyata TESIS ini merupakan hasil plagiat atau menggunakan jasa orang lain secara komersil baik itu keseluruhan maupun sebagian aspek terpenting, mulai dari pembuatan proposal, pelaksanaan penelitian, penulisan naskah TESIS, saya bersedia menerima sanksi apapun sesuai dengan peraturan yang berlaku pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, termasuk pencabutan gelar master yang saya peroleh, dan jika dikemudian hari ternyata kesalahan saya tidak terungkap oleh pihak Fakultas Farmasi meskipun kesalahan tersebut adalah benar terjadi, maka saya mempertanggungjawabkannya kepada Tuhan Yang Maha Kuasa.

Surabaya, Desember 2015  
Yang Membuat Pernyataan

  
NUR MASYITHAH ZAMRUDDIN



## RINGKASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan pengobatan tuberkulosis (TB) yang efektif dengan tujuan untuk melihat pengaruh senyawa turunan (-)-epikatekin (EC), yaitu (-)-epigallokatekin (EGC), (-)-epikatekin galat (ECG), dan (-)-epigallokatekin galat (EGCG) terhadap rifampisin (RIF) dalam menghambat atau membunuh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* ATCC H37RV (*M. tuberculosis*) ATCC H37RV akan mampu menurunkan nilai *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC) RIF. Uji *in silico* dilakukan dapat menggambarkan interaksi antara senyawa yang akan diuji dengan reseptor, sehingga dapat diprediksi aktivitas senyawa yang akan diuji. Aktivitas tersebut ditunjukkan dengan nilai energi ikatan yaitu nilai *Rerank Score* (RS), melalui program komputer *Mollegro Virtual Docker 5.5* (MVD). Nilai RS menunjukkan energi ikatan ligan dengan reseptor, semakin rendah nilai RS maka energi ikatan juga rendah, yang berarti kestabilan ikatan ligan dan reseptor makin tinggi, dan dapat diprediksikan aktivitasnya juga semakin besar (Pangaribowo, 2014).

Rifampisin dikombinasikan dengan senyawa turunan (-)-epikatekin diuji aktivitas anti-tuberkulosisnya dengan cara dilusi cair dengan angka yang didapat berupa serapan *density optic* dari alat neflometer. Metode ini mempunyai reliabilitas yang baik untuk menentukan nilai MIC. *Minimal inhibitory concentration* (MIC) di sini adalah konsentrasi terendah obat dalam menghambat pertumbuhan organisme namun tidak membunuh organisme. Konsentrasi terendah obat yang mencegah adanya pertumbuhan dari organisme adalah MIC (Street, 2014). Menurut (Mendes *et al.*, 2015) MIC terdiri dari MIC<sub>90</sub> dan MIC<sub>100</sub>, yaitu merupakan konsentrasi terendah dari suatu antimikroba

yang menghambat pertumbuhan bakteri sebesar 90% dan 100%. Studi hubungan kuantitatif struktur aktivitas (HKSA) senyawa turunan (-)-epikatekin dan RIF dilakukan dengan membuat persamaan HKSA melalui analisis regresi linier dan non linier dengan program SPSS 22.

Rifampisin terutama aktif terhadap sel yang sedang tumbuh, bekerja dengan menghambat *DNA-dependent RNA polymerase* mikobakteria dan mikroorganisme lain dengan menekan mula terbentuknya (bukan pemanjangan) rantai dalam sintesis RNA. Inti RNA polimerase dari berbagai sel eukariotik tidak mengikat rifampisin dan tidak mempengaruhi sintesis RNA (Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI, 2007).

Efek antimikroba senyawa katekin yaitu menghancurkan membran sel bakteri, menghambat sintesis asam lemak *fatty acid synthesis* (FAS) dan menghambat aktivitas enzim. Senyawa katekin memiliki efek antimikroba yaitu menghancurkan membran sel bakteri, menghambat sintesis asam lemak FAS dan menghambat aktivitas enzim (Reygaert, 2014). Katekin mengikat lapisan lemak pada membran sel bakteri yang merupakan mekanisme dari penghancuran membran sel bakteri. Katekin teh memiliki efek yang rendah terhadap membran sel bakteri gram negatif karena lipopolisakarida (LPS) membran luar bakteri gram negatif bermuatan negatif. Penghancuran membran sel bakteri menghambat kemampuan bakteri untuk mengikat sel host dan menghambat kemampuan bakteri untuk mengikat satu sama lain untuk menghasilkan biofilm. Penghancuran membran sel bakteri juga mengakibatkan ketidakmampuan bakteri untuk dapat mengeluarkan racun.

Asam lemak pada bakteri memiliki fungsi yang penting yaitu sebagai komponen fosfolipid pada membran sel (dan asam mikolat pada dinding sel *mycobacterium*) dan

sebagai sumber energi. Penghambatan FAS oleh teh hijau menghasilkan penghambatan bakteri untuk memproduksi metabolit racun (Reygaert, 2014).

Uji *in silico* RIF terhadap reseptor RNA Polimerase (RNAP) yang dapat diunduh dari *Protein Data Bank*, dipilih reseptor RNAP dengan kode 1I6V karena reseptor dengan kode 1I6V yang menyebutkan mekanisme rifampisin dalam menghambat RNA polimerase pada bakteri. Uji *in silico* senyawa turunan (-)-epikatekin terhadap reseptor *Fatty Acid Synthase* (FAS) yang dapat diunduh dari *Protein Data Bank* (PDB), dipilih reseptor FAS dengan kode 2VB7 karena mekanisme senyawa turunan (-)-epikatekin yaitu merubah permeabilitas membran sel bakteri dengan cara menghambat sintesis asam lemak FAS. Uji *in silico* juga memberikan gambaran tentang interaksi senyawa target dengan reseptor. Senyawa EC memiliki ikatan hidrogen antara gugus katekin dengan asam amino Gly 391, Phe 392, Ala 164 dan Thr 395, senyawa ECG memiliki ikatan hidrogen antara gugus katekin dengan asam amino His 333, Ser 334 dan Leu 335. Senyawa EGC dan memiliki ikatan hidrogen antara gugus katekin dengan asam amino Ala 165 dan Thr 165 dan senyawa EGCG dan memiliki ikatan hidrogen antara gugus katekin dengan asam amino His 333. Selain ikatan hidrogen, interaksi sterik yang dihasilkan dari ikatan hidrofobik antara ligand dan reseptor turut pula menentukan aktivitas ligan. Interaksi sterik memperkuat ikatan antara ligand dengan reseptor, sehingga dengan meningkatnya jumlah interaksi sterik diperkirakan aktivitas juga meningkat. Interaksi sterik senyawa EC dan turunannya terbentuk dengan asam amino : Gly 391, Phe 390, Phe 392, Ala 164, Thr 165, Thr 395, Gly 336, Leu 335, His 333 Ser 334 Phe 229, His 168 dan Ser 389

Rifampisin memiliki ikatan hidrogen dengan asam amino : Arg 409, Ser 411 dan Phe 394 dan memiliki interaksi sterik dengan asam amino : Arg 409, Ser 411, Phe 394, Glu 445, Gln 390, Gln 393 dan Ile 452. Penelitian pendahuluan yang dilakukan yaitu studi *docking in silico* didapatkan nilai RS RIF terhadap reseptor RNAP -117,2420, sedangkan nilai RS senyawa turunan (-)-epikatekin terhadap reseptor FAS yaitu, EC -92,994; RS ECG -135,821; RS EGC -95,458; dan RS EGCG -125,695. Senyawa turunan (-)-epikatekin diprediksi secara *in silico* memiliki aktivitas anti-tuberkulosis dan mampu menghambat sintesis asam lemak FAS pada *M. tuberculosis* dan senyawa turunan (-)-epikatekin yang terkandung dalam teh hijau diprediksi mampu bersinergi dengan RIF sebagai anti-tuberkulosis dengan membuka jalan bagi RIF dengan cara menghancurkan membran sel bakteri yaitu pada sintesis asam lemak FAS yang berada di luar sel *M. tuberculosis* sehingga RIF lebih mudah masuk ke dalam sel *M. tuberculosis* dan menghambat *DNA-dependent RNA polymerase M. tuberculosis*.

Penentuan MIC awal untuk masing-masing senyawa uji dimana nilai MIC akan digunakan untuk penentuan MIC pada uji aktivitas anti-tuberkulosis kombinasi senyawa RIF dengan senyawa turunan (-)-epikatekin. Kadar masing-masing senyawa yaitu RIF 20; 10; 5 dan 0,2 ppm, EGCG 150; 100; dan 50 ppm, EGC 25; 10 dan 5 ppm, ECG 25; 10 dan 5 ppm dan EC 10; 5 dan 1 ppm. Penggunaan kadar ini berdasarkan orientasi yang telah dilakukan. Uji penentuan MIC menunjukkan MIC RIF yaitu 5 ppm, EC yaitu 10 ppm, ECG yaitu 25 ppm, EGC yaitu 25 ppm dan EGCG yaitu 150 ppm. Nilai MIC tersebut yang selanjutnya akan digunakan pada uji aktivitas anti-tuberkulosis kombinasi RIF dan senyawa turunan (-)-epikatekin, apakah dengan adanya senyawa turunan (-)-epikatekin, akan menurunkan MIC awal RIF atau tidak.



Uji aktivitas anti-tuberkulosis kombinasi senyawa RIF dengan senyawa turunan (-)-epikatekin menunjukkan penurunan MIC RIF jika RIF dikombinasikan dengan EC, ECG, dan EGCG yaitu nilai MIC RIF menjadi 0,5 ppm dan bila dikombinasikan dengan EGC, MIC RIF menjadi 1 ppm. Uji aktivitas anti-tuberkulosis kombinasi RIF dan senyawa turunan (-)-epikatekin dikatakan memiliki efek sinergi karena secara nyata menunjukkan penurunan MIC yang besar, yaitu ketika uji penentuan MIC awal dilakukan menunjukkan MIC RIF dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji yaitu 5 ppm. Hasil uji aktivitas anti-tuberkulosis kombinasi RIF dan senyawa turunan (-)-epikatekin, yaitu ketika RIF 5; 1; 0,5 dan 0,2 ppm masing-masing dikombinasikan dengan EC 25 ppm nilai MIC RIF menjadi 0,5 ppm, RIF 5; 1; 0,5 dan 0,2 ppm masing-masing dikombinasikan dengan ECG 50 ppm nilai MIC RIF menjadi 0,5 ppm, RIF 5; 1; 0,5 dan 0,2 ppm masing-masing dikombinasikan dengan EGC 50 ppm nilai MIC RIF menjadi 1 ppm dan RIF 5; 1; 0,5 dan 0,2 ppm masing-masing dikombinasikan dengan EGCG 150 ppm nilai MIC RIF menjadi 0,5 ppm. Hasil ini membuktikan bahwa senyawa turunan (-)-epikatekin memberikan pengaruh terhadap kerja RIF sebagai anti-tuberkulosis, dan menunjukkan efek yang sinergi. Efek sinergi disini bahwa senyawa turunan (-)-epikatekin yang terkandung dalam teh hijau mampu bersinergi dengan RIF sebagai anti-tuberkulosis dengan membuka jalan bagi RIF dengan cara menghancurkan membran sel bakteri yaitu pada sintesis asam lemak *fatty acid synthase* (FAS) yang berada di luar sel *M. tuberculosis* sehingga RIF lebih mudah masuk ke dalam sel *M. tuberculosis* dan menghambat *DNA-dependent RNA polimerase M. Tuberculosis*.

Mekanisme sinergi antara turunan (-)-epikatekin dan beberapa antibiotik masih belum jelas (Zhao, *et al*, 2001). Zhao, *et al*, 2001 berhipotesis bahwa dampak langsung



dari turunan (-)-epikatekin pada dinding sel bakteri mungkin yang bertanggung jawab atas efek sinergi antara antibiotik dan turunan EC. Turunan (-)-epikatekin dan antibiotik bersinergi kemungkinan dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri secara langsung atau tidak langsung menyerang pada bagian yang sama yaitu pada dinding sel. Apabila hipotesis ini benar, turunan (-)-epikatekin akan menunjukkan efek sinergi ketika digunakan bersama dengan antibiotik penghambat biosintesis dinding sel. Kombinasi turunan (-)-epikatekin dengan beberapa antibiotik yang bekerja menghambat kerja protein atau sintesis asam nukleat, seperti tetrasiklin, minosiklin, kloramfenikol, streptomisin, gentamisin, kanamisin, eritromisin, rifampisin, dan ofloxasin menunjukkan efek *additive* dan *indifferent* (Jain *et al.*, 2006).

Hubungan sifat kimia fisika dan aktivitas biologis ditinjau secara kuantitatif, dari perhitungan HKSA, antara log aktivitas senyawa dengan parameter sifat lipofilik (ClogP), elektronik (E<sub>tot</sub>) dan sterik (CMR) menunjukkan bahwa tidak ada hubungan yang bermakna antara perubahan sifat lipofilik, elektronik dan sterik dengan aktivitas anti-tuberkulosis (Tabel 5.23). Peningkatan tetapan sifat lipofilik, elektronik dan sterik senyawa turunan (-)-epikatekin tidak menunjukkan adanya pengaruh aktivitas anti-tuberkulosis, hal ini ditunjukkan dengan nilai *r* hitung yang lebih kecil dibanding *r* tabel (*n* = 4, *r* tabel 5% = 0,950), nilai *F* hitung yang lebih kecil dibanding *F* tabel (*n* = 4, *F* tabel 5% = 6,26) dan nilai signifikansi > 0,05 yang berarti tidak ada perbedaan yang bermakna antara log aktivitas senyawa dengan parameter lipofilik, elektronik dan sterik, sehingga tidak ada korelasi antara parameter lipofilik (ClogP), elektronik (E<sub>tot</sub>) dan sterik (CMR) dari senyawa turunan (-)-epikatekin dengan aktivitas anti-tuberkulosis. Hasil perhitungan statistik yang menunjukkan tidak adanya hubungan

tersebut, mungkin disebabkan jumlah senyawa yang diuji dan replikasi yang terlalu sedikit dalam penelitian ini

