

**POTENSI  $\alpha$ -MANGOSTINDARI EKSTRAK PERIKARP MANGGIS (*Garcinia mangostana* L.) DALAM MENGHAMBAT SEKRESI PROTEIN CULTURE FILTRATE PROTEIN (CFP)-10 PADA *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv**

**TUGAS AKHIR**

**Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sajana Farmasi**



**Oleh :**

**Alify Yanura Putri**

**NIM. 115070500111029**

**PROGRAM STUDI FARMASI**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2015**

## DAFTAR ISI

|  |          |
|--|----------|
| HALAMAN PENGESAHAN.....                          | iii      |
| KATA PENGANTAR.....                              | iv       |
| ABSTRAK.....                                     | vi       |
| ABSTRACT.....                                    | vii      |
| DAFTAR ISI.....                                  | viii     |
| DAFTAR TABEL.....                                | xii      |
| DAFTAR GAMBAR.....                               | xiii     |
| DAFTAR SINGKATAN.....                            | xiv      |
| <b>BAB 1 PENDAHULUAN.....</b>                    | <b>1</b> |
| 1.1 Latar Belakang.....                          | 1        |
| 1.2 Rumusan Masalah.....                         | 4        |
| 1.3 Tujuan.....                                  | 4        |
| 1.3.1 Tujuan Umum.....                           | 4        |
| 1.3.2 Tujuan Khusus.....                         | 4        |
| 1.4 Manfaat.....                                 | 4        |
| 1.4.1 Manfaat Akademis.....                      | 4        |
| 1.4.2 Manfaat Praktis.....                       | 5        |
| <b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....</b>               | <b>6</b> |
| 2.1 Tuberkulosis.....                            | 6        |
| 2.1.1 Pengertian Tuberkulosis.....               | 7        |
| 2.1.2 Etiologi Tuberkulosis.....                 | 8        |
| 2.1.3 Patogenesis Tuberkulosis.....              | 11       |
| 2.1.4 Terapi Tuberkulosis.....                   | 12       |
| 2.2 <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .....      | 22       |
| 2.2.1 Taksonomi <i>M. tuberculosis</i> .....     | 22       |
| 2.2.2 Karakteristik <i>M. tuberculosis</i> ..... | 23       |

|   |   |           |
|---|---|-----------|
| 2.2.3   | Protein CFP-10 <i>M. tuberculosis</i> H37Rv .....   | 25        |
| 2.2.4   | Mekanisme Protein CFP-10 dalam Virulensi <i>M. tuberculosis</i> ....  | 37        |
| 2.2.5.  | Mekanisme Sekresi Protein CFP-10 oleh <i>M. tuberculosis</i> .....  | 29        |
| 2.3   | Manggis ( <i>Garcinia mangostana</i> L.) .....  | 30        |
| 2.3.1   | Taksonomi Manggis ( <i>Garcinia mangostana</i> L.) .....  | 30        |
| 2.3.2   | Karakteristik Manggis ( <i>Garcinia mangostana</i> L.) .....  | 31        |
| 2.3.3   | Kandungan Aktif Ekstrak Perikarp Manggis ( <i>Garcinia mangostana</i><br>L.).....   | 32        |
| 2.3.4   | Mekanisme Kandungan Aktif Ekstrak Perikarp Manggis ( <i>Garcinia</i><br><i>mangostana</i> L.) Terhadap Sekresi Protein CFP-10 <i>M. tuberculosis</i><br>H37Rv ..... | 33        |
| <b>BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN .....</b> |   | <b>35</b> |
| 3.1   | Kerangka Konsep .....   | 35        |
| 3.2   | Hipotesis Penelitian .....  | 36        |
| <b>BAB 4 METODE PENELITIAN.....</b>                         |   | <b>37</b> |
| 4.1   | Rancangan Penelitian.....   | 37        |
| 4.2   | Sampel Penelitian.....  | 37        |
| 4.3   | Variabel Penelitian.....  | 37        |
| 4.3.1   | Variabel Bebas.....   | 37        |
| 4.3.2   | Variabel Tergantung.....  | 38        |
| 4.4   | Lokasi dan Waktu Pelaksanaan.....   | 38        |
| 4.5   | Instrumen Penelitian .....  | 38        |
| 4.5.1   | Alat dan Bahan Maserasi .....   | 38        |
| 4.5.2   | Alat dan Bahan Pembuatan Larutan Ekstrak Perikarp Manggis<br>Pembanding .....   | 39        |
| 4.5.3   | Alat dan Bahan Uji Fitokimia .....  | 39        |
| 4.5.4   | Alat dan Bahan Uji Kuantitatif HPLC MS/MS Ekstrak Perikarp<br>Manggis .....   | 39        |



|        |   |    |
|--------|---|----|
| 4.5.5  | Kultur <i>M. tuberculosis</i> dengan Media Lowenstein Jensen .....  | 39 |
| 4.5.6  | Pembuatan Media BD BACTEC MGIT 960 SIRE dan Perlakuan Ekstrak Manggis, Larutan Ekstrak Perikarp Manggis Pemanding, dan Larutan Rifampicin dengan Bakteri <i>M. tuberculosis</i> ..... | 40 |
| 4.5.8  | Analisa Profil Protein dengan Metode SDS-PAGE Metode Pewarnaan Coomassie Blue .....   | 40 |
| 4.5.9  | Analisa Profil Protein dengan Metode SDS-PAGE Metode Pewarnaan Silver Stain .....   | 40 |
| 4.5.9  | Alat dan Bahan Uji Spesifitas Protein CFP-10 dengan Dot Blot dan Visualisasi Membran <i>Nitrocellulose</i> dengan ImageQuant LAS 500 .....  | 41 |
| 4.6    | Definisi Operasional.....   | 41 |
| 4.7    | Prosedur penelitian.....  | 44 |
| 4.7.1  | Pengumpulan dan Persiapan Bahan .....   | 44 |
| 4.7.2  | Maserasi Perikarp Manggis .....   | 44 |
| 4.7.3  | Uji Fitokimia Ekstrak .....   | 45 |
| 4.7.4  | Identifikasi $\alpha$ -mangostin dengan HPLC MS/MS .....  | 46 |
| 4.7.5  | Kultur <i>M. tuberculosis</i> dengan Media Padat Lowenstein Jensen..  | 47 |
| 4.7.6  | Inokulasi <i>M. tuberculosis</i> pada Media Cair BD BACTEC MGIT 960 SIRE .....  | 47 |
| 4.7.7  | Pembuatan Larutan Ekstrak Perikarp Manggis, Rifampicin, dan Ekstrak Perikarp Manggis Pemanding.....   | 48 |
| 4.7.8  | Identifikasi Pertumbuhan Bakteri <i>M.tuberculosis</i> H37Rv dalam Media BD BACTEC MGIT 960 SIRE .....  | 51 |
| 4.7.9  | Penentuan Kadar Total Protein Sampel dengan Metode Nanodrop ND-1000 Thermo Scientific .....   | 51 |
| 4.7.10 | Analisa Profil Protein dengan SDS-PAGE Metode Pewarnaan Coomassie Blue.....   | 52 |

|   |           |
|---|-----------|
| 4.7.11 Analisa Profil Protein dengan SDS-PAGE Metode Pewarnaan Silver Stain.....  | 55        |
| 4.7.11 Uji Spesifitas CFP-10 dengan Metode Dot Blot dan Visualisasi dengan Menggunakan ImageQuant LAS 500.....              | 59        |
| 4.8 Analisis Data .....   | 62        |
| 4.9 Diagram Alur Penelitian.....  | 63        |
| <b>BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA.....</b>  | <b>64</b> |
| 5.1 Hasil Penelitian .....  | 64        |
| 5.1.1 Maserasi Perikarp Manggis dengan Etanol 95%.....  | 64        |
| 5.1.2 Skrining Kandungan Fitokimia Ekstrak Perikarp Manggis dan Penentuan Kadar $\alpha$ -mangostin dengan HPLC MS/MS ..... | 64        |
| 5.1.3 Identifikasi Pertumbuhan <i>M. tuberculosis</i> .....   | 65        |
| 5.1.4 Penentuan Kadar Protein Sampel Dengan Metode Nanodrop .....   | 66        |
| 5.1.5 Hasil Identifikasi Protein CFP-10 Menggunakan SDS PAGE .....  | 66        |
| 5.2 Analisis Data .....   | 73        |
| 5.2.1 Analisis Statistik Profil Protein dengan SDS-PAGE Metode Pewarnaan Coomassie Blue.....                                | 73        |
| 5.2.2 Analisis Statistik Profil Protein dengan SDS-PAGE Metode Pewarnaan Silver Stain .....                                 | 75        |
| <b>BAB 6 PEMBAHASAN.....</b>  | <b>77</b> |
| <b>BAB 7 PENUTUP .....</b>  | <b>88</b> |
| 7.1 Kesimpulan .....  | 88        |
| 7.2 Saran .....   | 88        |
| <b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>  | <b>90</b> |

## DAFTAR TABEL

|   |    |
|---|----|
| Tabel 2.1 Panduan Pengobatan Standar yang Direkomendasikan oleh WHO dan IUATLD ( <i>International Union Against Tuberculosis and Lung Disease</i> ) ..... | 15 |
| Tabel 2.2 Panduan OAT Kategori 1 dalam Paket Kombipak untuk Penderita dengan Berat Badan Antara 33-50 kg .....  | 16 |
| Tabel 2.3 Panduan OAT Kategori 2 dalam Paket Kombipak untuk Penderita dengan Berat Badan Antara 33-50 kg .....  | 17 |
| Tabel 2.4 Panduan OAT kategori 3 dalam Paket Kombipak untuk Penderita dengan Berat Antara 33-55 kg .....  | 18 |
| Tabel 2.5 Efek Samping Ringan OAT dan Penatalaksanaannya .....  | 18 |
| Tabel 2.6 Efek Samping Berat OAT dan Penatalaksanaannya .....   | 19 |
| Tabel 4.1 Perlakuan Variabel pada Media BD BACTEC MGIT 960 SIRE .....   | 50 |
| Tabel 4.2 Komposisi bahan pembuatan <i>separating gel</i> .....   | 52 |
| Tabel 4.3 Komposisi bahan pembuatan <i>stacking gel</i> .....   | 53 |
| Tabel 4.4 Komposisi sampel yang diinjeksikan ke dalam sumuran .....   | 54 |
| Tabel 4.5 Komposisi bahan pembuatan <i>separating gel</i> .....   | 55 |
| Tabel 4.6 Komposisi bahan pembuatan <i>stacking gel</i> .....   | 56 |
| Tabel 4.7 Komposisi sampel yang diinjeksikan ke dalam sumuran .....   | 56 |
| Tabel 5.1 Hasil Skrining Kandungan Fitokimia Ekstrak Perikarp Manggis.....  | 65 |
| Tabel 5.2 Hasil Pengukuran Kadar $\alpha$ -mangostin pada Ekstrak Perikarp Manggis dengan HPLC MS/MS .....  | 65 |
| Tabel 5.3 Hasil Penentuan Kadar Protein Sampel Dengan Metode Nanodrop   | 66 |
| Tabel 5.4 Perhitungan Intensitas Cahaya Pita Protein Hasil Pewarnaan Metode Coomassie Blue .....  | 68 |
| Tabel 5.5 Perhitungan Intensitas Cahaya Pita Protein Hasil Pewarnaan Metode Silver Stain .....  | 70 |
| Tabel 5.6 Kuantifikasi Data Kualitatif Hasil Visualisasi Membran <i>Nitrocellulose</i> dengan ImageQuant LAS 500 .....                                    | 72 |



**DAFTAR GAMBAR**

Gambar 2.1 *Mycobacterium tuberculosis*..... 22

Gambar 2.2 *M. tuberculosis* pada Media Lowenstein-Jensen Setelah 6 Minggu Penanaman, Suhu 37°C..... 23

Gambar 2.3 Mekanisme Sekresi CFP-10 oleh *Mycobacterium tuberculosis* . 30

Gambar 2.4 *Garcinia mangostana* L. .... 31

Gambar 3.1 Kerangka Konsep..... 35

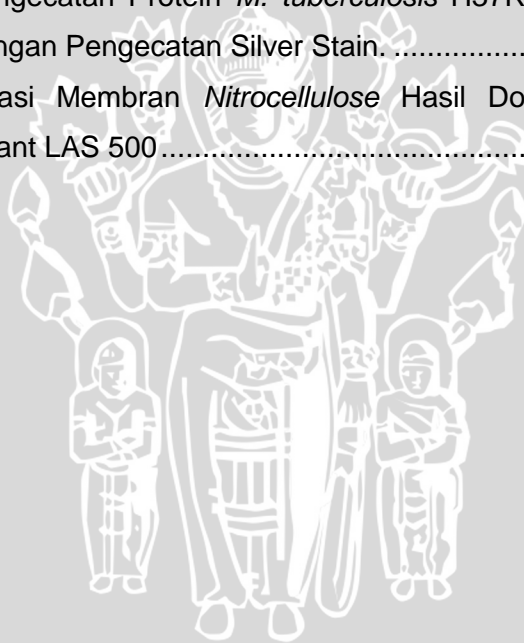
Gambar 4.1 *Mapping* sampel pada Membran *Nitrocellulose*..... 59

Gambar 5.1 Ekstrak Kental Perikarp Manggis Hasil Maserasi ..... 64

Gambar 5.2 Hasil Pengecatan Protein *M. tuberculosis* H37Rv Dalam Filtrat Kultur dengan Pengecatan Coomassie Blue. .... 67

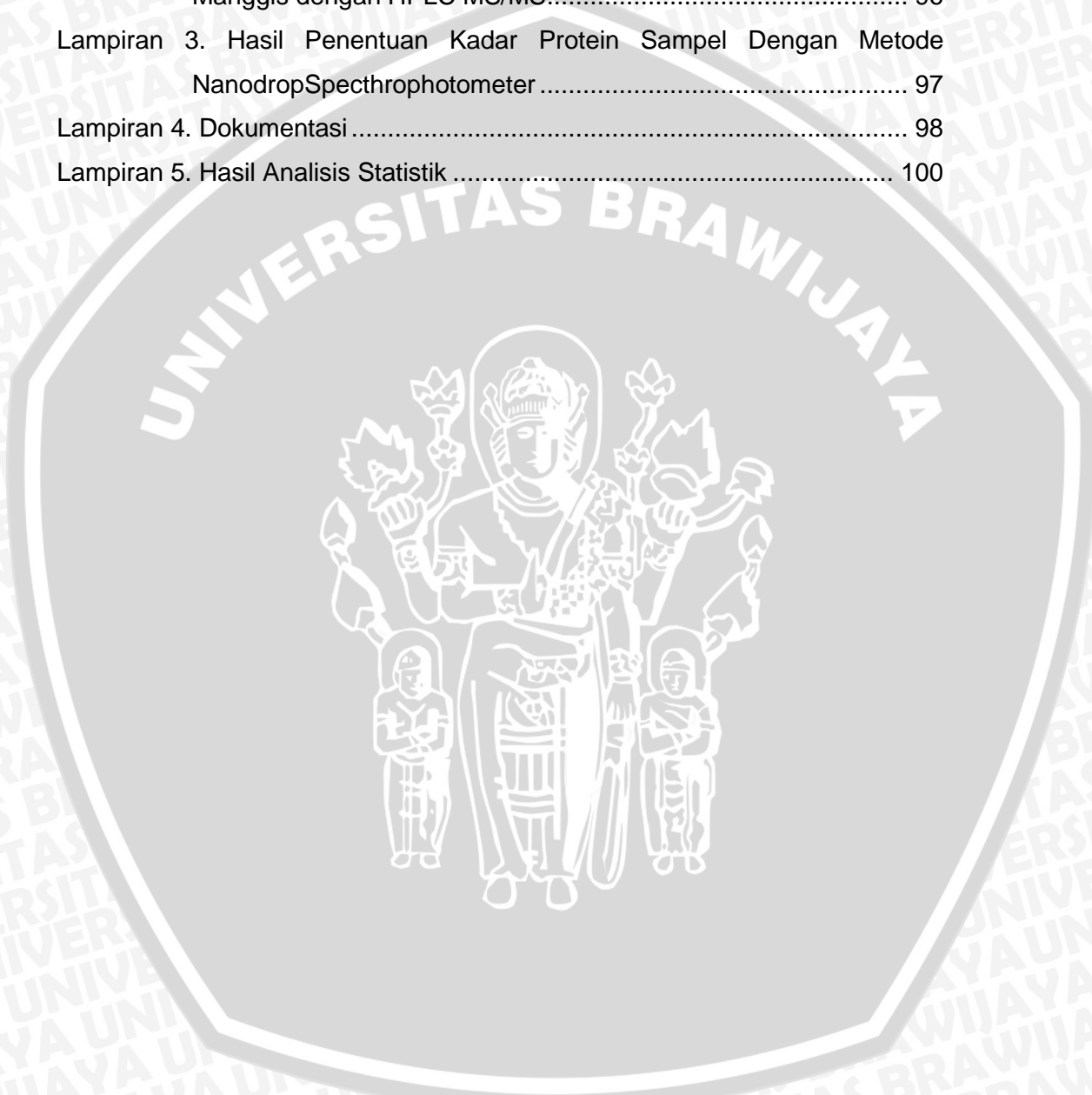
Gambar 5.3 Hasil Pengecatan Protein *M. tuberculosis* H37Rv Dalam Filtrat Kultur dengan Pengecatan Silver Stain. .... 69

Gambar 5.4 Visualisasi Membran *Nitrocellulose* Hasil Dot Blot dengan ImageQuant LAS 500..... 72



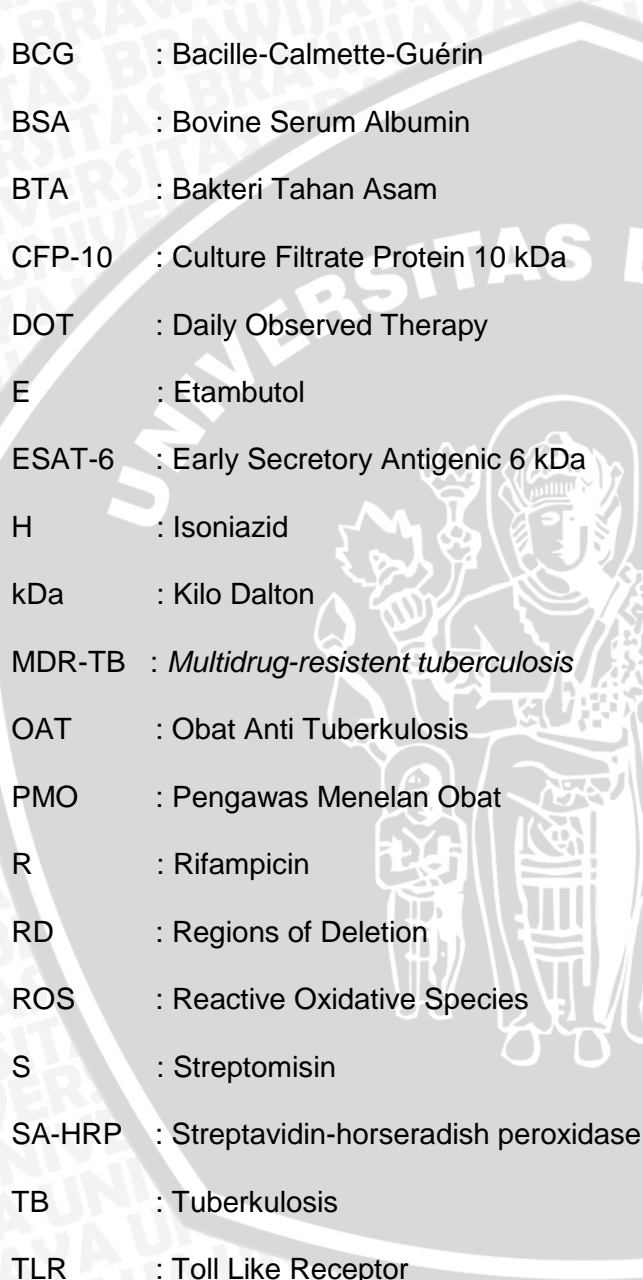
## DAFTAR LAMPIRAN

|   |     |
|---|-----|
| Lampiran 1. Hasil Skrining Fitokimia .....  | 95  |
| Lampiran 2. Hasil Pengukuran Kadar $\alpha$ -mangostin pada Ekstrak Perikarp Manggis dengan HPLC MS/MS..... | 96  |
| Lampiran 3. Hasil Penentuan Kadar Protein Sampel Dengan Metode Nanodrop Spectrophotometer .....             | 97  |
| Lampiran 4. Dokumentasi .....   | 98  |
| Lampiran 5. Hasil Analisis Statistik .....  | 100 |





## DAFTAR SINGKATAN



|        |   |
|--------|---|
| ATP    | : Adenosin trifosfat                      |
| BCG    | : Bacille-Calmette-Guérin                 |
| BSA    | : Bovine Serum Albumin                    |
| BTA    | : Bakteri Tahan Asam                      |
| CFP-10 | : Culture Filtrate Protein 10 kDa         |
| DOT    | : Daily Observed Therapy                  |
| E      | : Etambutol                               |
| ESAT-6 | : Early Secretory Antigenic 6 kDa         |
| H      | : Isoniazid                               |
| kDa    | : Kilo Dalton                             |
| MDR-TB | : <i>Multidrug-resistant tuberculosis</i> |
| OAT    | : Obat Anti Tuberkulosis                  |
| PMO    | : Pengawas Menelan Obat                   |
| R      | : Rifampicin                              |
| RD     | : Regions of Deletion                     |
| ROS    | : Reactive Oxidative Species              |
| S      | : Streptomisin                            |
| SA-HRP | : Streptavidin-horseradish peroxidase     |
| TB     | : Tuberkulosis                            |
| TLR    | : Toll Like Receptor                      |
| Z      | : Pirazinamid                             |