



UNIVERSITAS INDONESIA

**INTERAKSI FARMAKOKINETIK EFAVIRENZ DAN
RIFAMPISIN PADA SUKARELAWAN SEHAT**

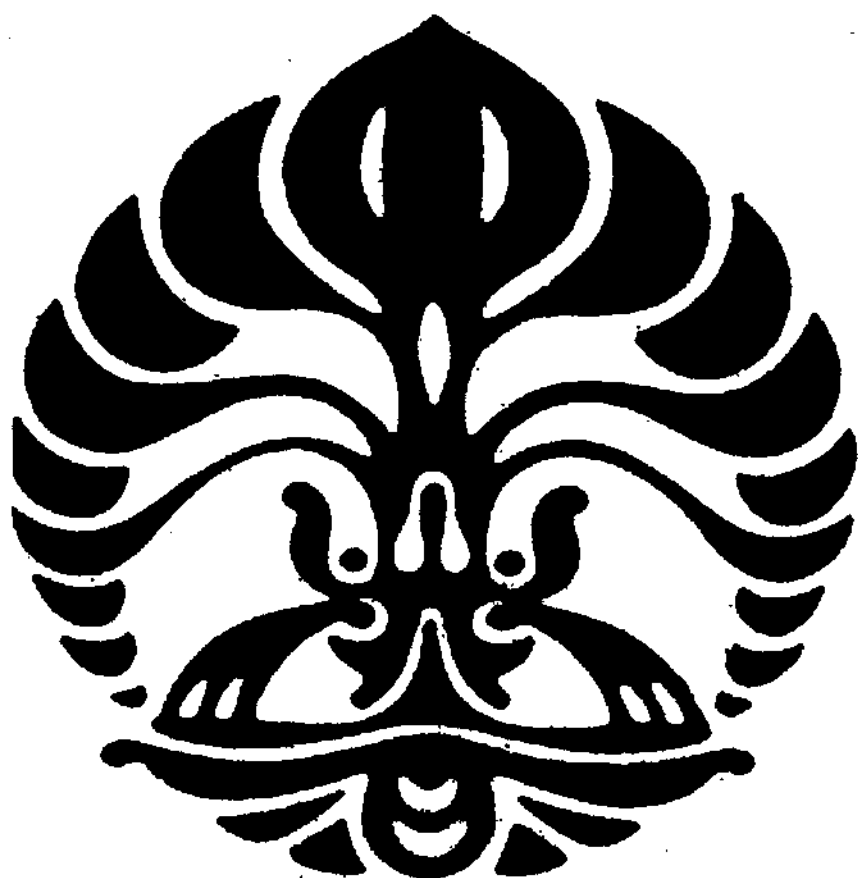
TESIS

**OLEH:
Dr. Yenny
NPM 0606150675**

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS FARMAKOLOGI KLINIK
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS INDONESIA**

JAKARTA

2009



HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh:

Nama : dr. Yenny
NPM : 0606150675
Program Studi : Farmakologi Klinik
Judul Tesis : Interaksi farmakokinetik efavirenz dan rifampisin pada sukarelawan sehat.

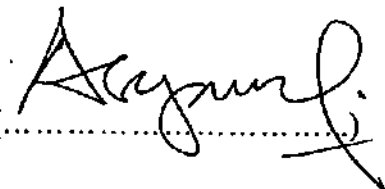
Tesis disetujui oleh:

Pembimbing I : dr. Nafrialdi, Sp.PD, PhD. ()

Pembimbing II : Prof. DR. dr. Rianto Setiabudy, Sp.FK. ()

Ketua Program Studi Farmakologi Klinik FKUI:

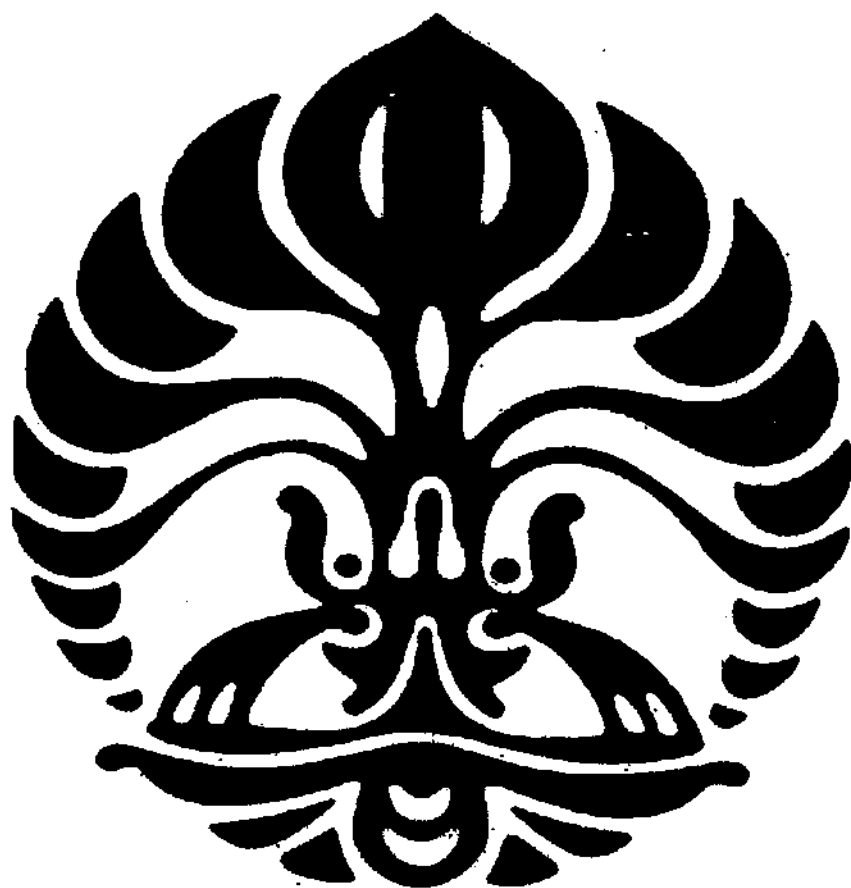
Prof. dr. Amir Syarif, SKM, SpFK

()

Ketua Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI:

dr. Nafrialdi, Sp.PD, PhD.

()



KATA PENGANTAR

Puji syukur saya ucapkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas kasih karunia dan kemurahanNya, saya dapat menyelesaikan tesis ini. Penulisan tesis ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Dokter Spesialis Farmakologi Klinik pada Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Saya menyadari segala keterbatasan yang saya miliki, sehingga tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, saya tidak akan mungkin menyelesaikan tesis ini pada waktunya. Oleh karena itu, ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya saya tujukan kepada:

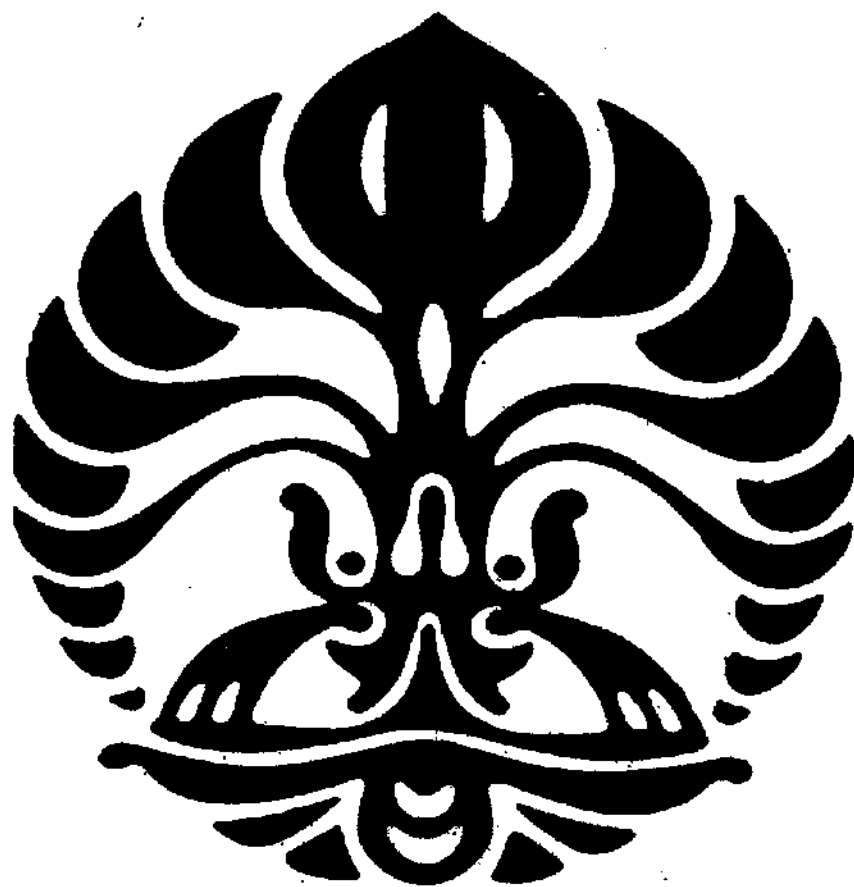
1. Dr. Nafrialdi, Sp.PD., PhD., selaku dosen pembimbing I dan sebagai Ketua Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI yang telah meluangkan waktu dan tenaganya dalam menyelesaikan tesis ini.
2. Prof. DR. dr. Rianto Setiabudy, Sp.FK., selaku dosen pembimbing II yang telah dengan sabar membimbing dan memberikan bantuan yang sangat besar dalam penyusunan tesis ini. Terima kasih Prof. Rianto, mudah-mudahan saya mampu untuk terus melakukan riset di Universitas saya dan Prof. Rianto tidak bosan untuk terus membimbing saya setelah saya lulus nanti.
3. Dra. Metta Sinta Sari Wiria. Apt, MS, yang dengan tangan terbuka selalu menawarkan bantuannya dalam bidang laboratorium untuk membantu kelancaran penyelesaian tesis ini.
4. Dr Sulistia Gan Gunawan, SpFK., atas bantuannya dalam memberikan masukan dan penyutingan dalam penulisan tesis saya.
5. Prof. Dra. Arini Setiawati, PhD, yang memberikan masukan dalam ilmu farmakokinetik dan perhitungan statistik
6. Prof. dr. Zubairi Zoerban, Sp.PD., atas bantuan obat yang dibutuhkan untuk terlaksananya penelitian ini.
7. Dr. Pusparini, SpFK., yang telah berjasa dalam membantu perekutan subyek penelitian, dan memberikan dukungan moril.
8. Prof. dr. Amir Syarif, SKM, Sp.FK., selaku Ketua Program Studi Farmakologi, dan Dr. Vivian Soetikno, Sp.FK., selaku Sekretaris Program Studi Farmakologi Klinik atas dukungannya selama ini.
9. Semua Dosen Staf Pengajar di Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI yang tidak mungkin disebutkan satu persatu, yang telah demikian sabar membimbing saya selama ini.

10. Ketua Departemen Farmakologi dan Terapi Universitas Trisakti dr. Laurentia J. Pudjiati, MSc, dan seluruh Staf Farmakologi dr. Elly Herwana, MSc, dr. J. Tanu Hendrata, dr. Rachman Wahab, drg. DR. Didi Nugroho, PhD, drg. Sheila Kusnoto, dr. Joice atas dorongan dan pengertian yang diberikan.
11. Prof. DR. Adi Hidayat, MS, PhD., selaku Ketua Dewan Riset Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti atas bimbingan, kesabaran, dan dorongannya sebelum dan saat saya melakukan pendidikan dokter spesialis farmakologi klinik dalam bidang riset, dan statistik.
12. Prof. dr. Murad Lesmana, selaku Staf Editor jurnal *Universa Medicina* dan Staf Dewan Riset Fakultas Kedokteran Trisakti yang selama ini dengan sabar selalu membimbing dan memberikan dukungan moril maupun akademik khususnya dalam cara penulisan makalah yang benar.
13. Seluruh teman seangkatan dan seluruh peserta Program Studi Pendidikan Dokter Spesialis Farmakologi Klinik yang selalu bersama dalam suka dan duka untuk terus bersemangat dalam menyelesaikan studi ini.
14. Suami, orang tua yang selama ini telah memberikan dukungan materil dan moril sehingga saya dapat menyelesaikan studi ini.
15. Seluruh pihak yang namanya tidak bisa saya sebutkan satu persatu.

Akhir kata, dari lubuk hati saya yang terdalam semoga Tuhan Yang Maha Esa berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga tesis ini membawa manfaat bagi perkembangan ilmu.

Jakarta, Desember 2009

Penulis.



ABSTRAK

Nama : Yenny
Program Studi : Farmakologi Klinik
Judul : Interaksi farmakokinetik efavirenz dan rifampisin pada sukarelawan sehat.

LATAR BELAKANG:

Rifampisin dilaporkan menginduksi metabolisme efavirenz pada manusia. Saat ini banyak pasien HIV juga terinfeksi dengan tuberkulosis. Data mengenai interaksi antara rifampisin dan efavirenz pada sukarelawan sehat belum diketahui di Indonesia.

TUJUAN:

Studi ini bertujuan meneliti besarnya pengaruh rifampisin terhadap bioavailabilitas efavirenz pada sukarelawan sehat.

METODE:

Dalam penelitian selama 3 minggu, menggunakan *before-and-after trial*, 8 sukarelawan sehat ikut serta dalam studi ini. Parameter farmakokinetik yang digunakan dalam studi ini adalah luas area di bawah kurva kadar obat dalam plasma-waktu dari jam ke-0 – jam ke-72 (AUC_{0-72}), luas area di bawah kurva kadar obat dalam plasma-waktu dari jam ke-0 – jam tidak terhingga (AUC_{0-inf}), kadar obat maksimum (C_{max}), waktu yang dibutuhkan untuk mencapai kadar maksimum (T_{max}), dan waktu yang dibutuhkan kadar obat dalam plasma untuk turun menjadi setengahnya pada fase eliminasi ($T_{1/2}$). Sukarelawan dipuasakan semalaman, dan keesokan paginya diberikan 1 tablet efavirenz 600 mg. Contoh darah diambil pada jam ke 0 (kontrol), 2, 3, 4, 5, 6, 24, dan 72 jam setelah pemberian obat. Setelah pengambilan contoh darah terakhir, subyek diinduksi dengan memberikan 1 tablet rifampisin 450 mg/hari selama 1 minggu. Pasca induksi rifampisin, prosedur ini diulang. Kadar efavirenz dalam plasma ditentukan dengan kromatografi cair kinerja tinggi. Uji t berpasangan, dan *Wilcoxon's match paired test* digunakan untuk menentukan adanya perbedaan signifikan rerata AUC_{0-72} , AUC_{0-inf} , C_{max} , T_{max} , and $T_{1/2}$ kadar efavirenz dalam plasma.

HASIL:

Saat *baseline*, rerata AUC_{0-72} sebesar 46.80 ± 9.27 mcg/mL.h, AUC_{0-inf} sebesar 96.38 ± 38.10 mcg/mL.h, C_{max} sebesar 2.19 ± 0.68 mcg/mL.h, T_{max} sebesar 4.50 ± 0.93 jam, dan $T_{1/2}$ sebesar 96.60 ± 42.38 jam.

Pasca induksi dengan rifampisin selama 1 minggu, terdapat penurunan signifikan rerata AUC_{0-72} 9.53 ± 11.26 mcg/mL.h ($p = 0.048$; $CI_{95\%} = 0.112 - 18.940$), AUC_{0-inf} 37.24 ± 42.43 ($p = 0.034$; $CI_{95\%} = 0.021 - 0.406$) mcg/mL.h, and T_{max} 1.13 ± 0.99 jam ($p = 0.015$; $CI_{95\%} = 0.296 - 1.953$). Tidak terdapat penurunan signifikan rerata C_{max} , and $T_{1/2}$ pasca induksi dengan rifampisin.

KESIMPULAN:

Pemberian efavirenz dosis tunggal 600 mg/hari bersama rifampisin 450 mg selama 1 minggu menurunkan bioavailabilitas efavirenz pada sukarelawan sehat.

Kata kunci: efavirenz, rifampisin, interaksi farmakokinetik, sukarelawan sehat.

ABSTRACT

Name : Yenny
Study Program : Clinical Pharmacology
Title : Pharmacokinetic interaction efavirenz and rifampicin in healthy volunteers

BACKGROUND:

Rifampicin has been reported to induce the metabolism of efavirenz in men. Today it has been known that many patients with HIV are also infected with tuberculosis. Data on interaction between rifampicin and efavirenz in healthy volunteers has never been known in Indonesia.

OBJECTIVE

To evaluate the bioavailability of efavirenz after induction with rifampicin in healthy volunteers.

METHODS

In a 3-week, before-and-after trial, 8 healthy volunteers were included in this trial. The pharmacokinetic parameters used in this study were the area under the concentration-time curve from time zero to hours 72 (AUC_{0-72}), the area under the concentration-time curve from time zero to infinite (AUC_{0-inf}), the maximum concentration (C_{max}), time needed to reach the maximum concentration (T_{max}), and the time takes for serum concentration to decrease by one-half in the elimination phase ($T_{1/2}$). The volunteers were fasted overnight and in the morning they received one tablet efavirenz 600 mg. Blood samples were drawn at 0 (control), 2, 3, 4, 5, 6, 24, and 72 hours after the administration of the drug. This procedure was repeated after a daily induction period of 1 week with 450 mg rifampicin. The plasma concentration of the efavirenz was determined by means of an high-performance liquid chromatography method. Paired-t test and Wilcoxon's match-paired test were chosen to find significant differences mean concentration AUC_{0-72} , AUC_{0-inf} , C_{max} , T_{max} , and $T_{1/2}$ efavirenz in plasma.

RESULT

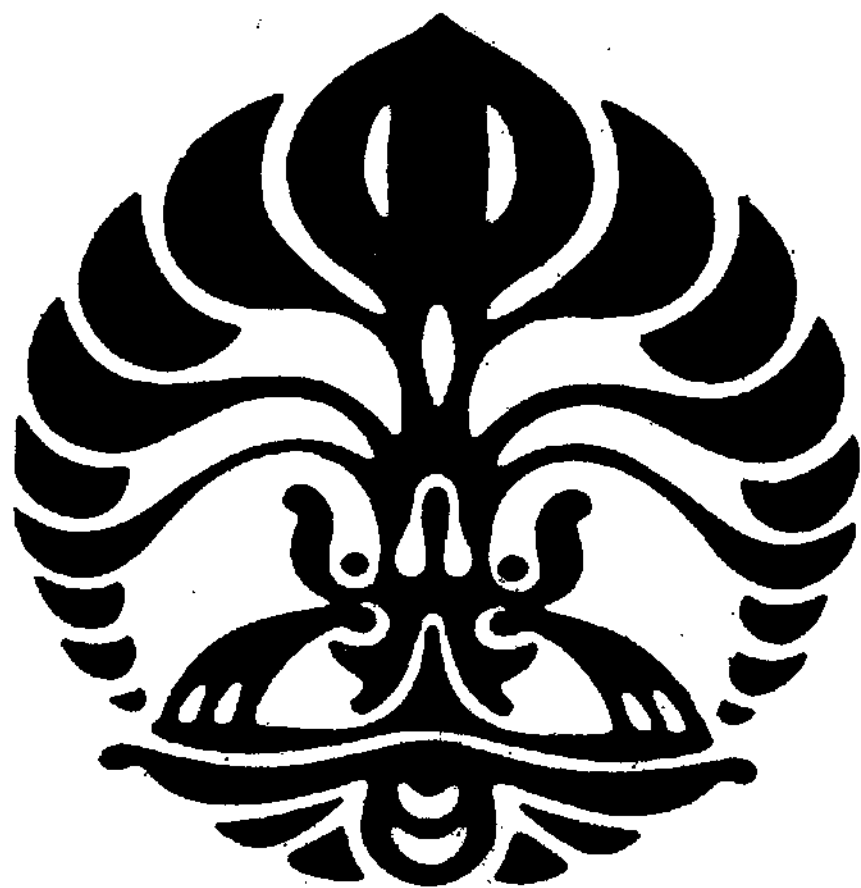
At baseline, the mean of AUC_{0-72} was 46.80 ± 9.27 mcg/mL.h, AUC_{0-inf} was 96.38 ± 38.10 mcg/mL.h, C_{max} was 2.19 ± 0.68 mcg/mL.h, T_{max} was 4.50 ± 0.93 hours, and $T_{1/2}$ was 96.60 ± 42.38 hours.

After one week induction with rifampicin, there were a significant reduction in the mean of AUC_{0-72} 9.53 ± 11.26 mcg/mL.h ($p = 0.048$; $CI_{95\%} = 0.112 - 18.940$), AUC_{0-inf} 37.24 ± 42.43 ($p = 0.034$; $CI_{95\%} = 0.021 - 0.406$) mcg/mL.h, and T_{max} 1.13 ± 0.99 hours ($p = 0.015$; $CI_{95\%} = 0.296 - 1.953$). There were, however, no significant reduction in the mean of C_{max} , and $T_{1/2}$ after induction with rifampicin.

CONCLUSION

Coadministration of single dose of efavirenz 600 mg/day with rifampicin 450 mg for 1 week significantly reduced the bioavailability efavirenz in healthy volunteers.

Keywords: efavirenz, rifampicin, pharmacokinetic interaction, healthy volunteers.



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.3.1. Tujuan Umum	3
1.3.2. Tujuan Khusus	3
1.4. Hipotesis	3
1.5. Manfaat penelitian	3
1.5.1. Untuk Pemerintah	3
1.5.2. Untuk Peneliti	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Infeksi oportunistik TB pada penderita HIV	4
2.2. Interaksi obat	7
2.3. Metabolisme obat dan sitokrom P-450	8
2.4. Reseptor nukleus dan induksi enzim sitokrom P-450	9
2.5. Mekanisme induksi sitokrom P-450 oleh rifampisin	10
2.6. <i>Rifamycin</i>	12
2.7. Efavirenz	14
2.8. Studi interaksi rifampisin dan efavirenz	18
2.9. Aplikasi klinik	22

BAB 3. METODE PENELITIAN	24
3.1. Desain Penelitian	24
3.2. Tempat dan Waktu Penelitian	24
3.3. Seleksi subyek penelitian	24
3.3.1. Pemilihan subyek	24
3.3.2. Persetujuan Etik	25
3.3.3. Besar sampel	25
3.4. Batasan Operasional	25
3.5. Parameter Penelitian	26
3.6. Cara Kerja	26
3.7. Alur Studi	27
3.8. Pemeriksaan Klinik dan Laboratorium	28
3.8.1. Pemeriksaan Klinik	28
3.8.2. Pemeriksaan Laboratorium	29
3.9. Data	33
3.9.1. Pencatatan Data	33
3.9.2. Pengolahan dan Analisis Data	33
BAB 4. HASIL PENELITIAN	34
4.1. Demografi	34
4.2. Data skrining	35
4.3. Parameter penelitian	36
4.4. Uji hipotesis	45
4.5. Keluhan subyek	46
4.6. Uji validasi	46
BAB 5. PEMBAHASAN	48
BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN	57
6.1. Ringkasan	57
6.2. Kesimpulan	58
6.3. Saran	58
DAFTAR PUSTAKA	59
RIWAYAT HIDUP	64

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Gambar 2.1. Proses biotransformasi obat oleh hepar	8
2. Gambar 2.2. Struktur reseptor nucleus	9
3. Gambar 2.3. Interaksi obat pada tingkat molekuler	11
4. Gambar 2.4. <i>Cross-talk</i> antara PXR dan CAR <i>signaling pathway</i>	11
5. Gambar 2.5. Tempat kerja obat yang termasuk kelas <i>rifamycin</i>	13
6. Gambar 2.6. Tempat kerja NNRTI	15
7. Gambar 2.7. Struktur kimia efavirenz	15
8. Gambar 2.8. Metabolisme efavirenz	16
9. Gambar 4.3.1. AUC ₀₋₇₂ kadar efavirenz dalam plasma tiap subyek prainduksi dan pasca induksi dengan rifampisin	37
10. Gambar 4.3.2. Rerata kadar efavirenz dalam plasma prainduksi dan pasca induksi dengan rifampisin	39
11. Gambar 4.3.3. C _{max} kadar efavirenz dalam plasma tiap subyek prainduksi dan pasca induksi dengan rifampisin	40
12. Gambar 4.3.4. T _{max} kadar efavirenz dalam plasma tiap subyek prainduksi dan pasca induksi dengan rifampisin.	42
13. Gambar 4.3.5. AUC _{0-inf} kadar efavirenz dalam plasma tiap subyek prainduksi dan pasca induksi dengan rifampisin	44
14. Gambar 4.3.6. T _{1/2} kadar efavirenz dalam plasma tiap subyek prainduksi dan pasca induksi dengan rifampisin	46
15. Gambar 4.6. Kromatogram plasma sukarelawan	

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Tabel 2.1. Rekomendasi waktu memulai terapi antiretroviral	6
2. Table 2.2. Profil farmakokinetik rifampisin	13
3. Tabel 2.3. Profil farmakokinetik efavirenz	17
4. Tabel 2.4. Ringkasan studi interaksi efavirenz dan rifampisin pada penderita koinfeksi HIV-TB	23
5. Tabel 4.1. Data demografi	34
6. Tabel 4.2. Data skrining laboratorium	35
7. Tabel 4.3.1. AUC ₀₋₇₂ kadar efavirenz dalam plasma prainduksi dan pasca induksi rifampisin	36
8. Tabel 4.3.2. Cmax kadar efavirenz dalam plasma prainduksi dan pasca induksi rifampisin	38
9. Tabel 4.3.3. Tmax kadar efavirenz dalam plasma prainduksi dan pasca induksi rifampisin	40
10. Tabel 4.3.4. AUC _{0-inf} kadar efavirenz dalam plasma prainduksi dan pasca induksi rifampisin	42
11. Tabel 4.3.5. T _{1/2} kadar efavirenz dalam plasma prainduksi dan pasca induksi rifampisin	44
12. Tabel 4.8. Uji ketepatan dan ketelitian pengukuran kadar efavirenz dalam plasma	47

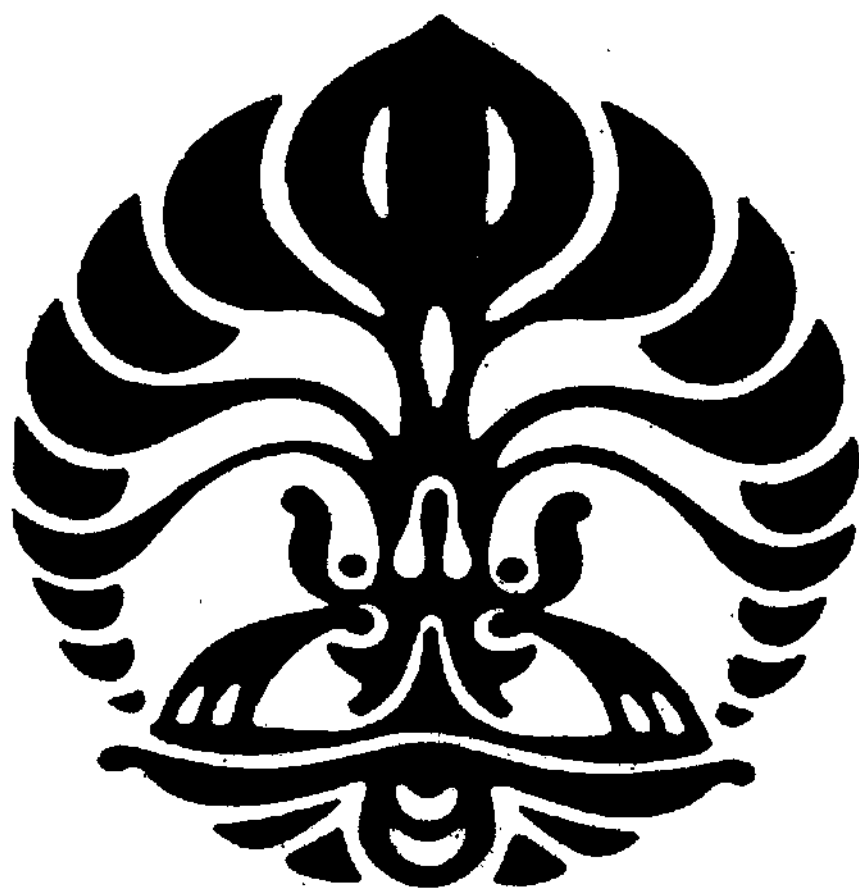
DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Lembar informasi untuk subyek penelitian (*informed concent*)
- Lampiran 2. Lembar persetujuan setelah penjelasan
- Lampiran 3. Catatan harian subyek studi
- Lamprian 4. Jadwal pengambilan sampel darah
- Lampiran 5. Keterangan lolos kaji etik dari Komisi Etik Penelitian FK UI
- Lampiran 6. Sertifikat analisis pemeriksaan kadar efavirenz
- Lampiran 7. Kadar obat dalam darah tiap subyek prainduksi dan pasca induksi
rifampisin
- Lampiran 8. Uji normalitas dan analisis statistik

DAFTAR SINGKATAN

AF-1	: <i>Activation function-1</i>
AF-2	: <i>Activation function-2</i>
AIDS	: <i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i>
ARV	: <i>Antiretroviral</i>
AU	: <i>Adsorbance unit</i>
AUC ₀₋₇₂	: Luas area di bawah kurva kadar obat dalam plasma terhadap waktu, dari waktu 0 sampai waktu terakhir kadar obat diukur yaitu jam ke-72.
AUC _{0-inf}	: luas area di bawah kurva kadar obat dalam plasma terhadap waktu, dari waktu 0 hingga waktu tak terhingga.
BHIVA	: <i>British HIV Association</i>
BTA	: Basil tahan asam
C ₁₂	: Konsentrasi jam ke-12
CAR	: <i>Constitutive androstane receptor</i>
CD4 ⁺	: <i>Cluster of deferentiation-4</i>
CDC	: <i>Central for Disease Control and Prevention</i>
C _{max}	: Konsentrasi obat maksimal
C _{min}	: Konsentrasi obat minimal
CYP	: Sitokrom
CV	: <i>Coefficient of variation</i>
DBD	: <i>DNA binding domain</i>
DHHS	: <i>Department of Health and Human Services</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid dependent</i>
EDTA	: <i>Ethylenediamine-tetraacetic acid</i>
Efz	: Efavirenz
FDA	: <i>Food and Drug Administration</i>
FKUI	: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
GST	: <i>Glutathione-S-transferase</i>
HIV	: <i>Human Immunodeficiency Virus</i>
HPLC	: <i>High-performance liquid chromatography</i>

IL	: <i>Interleukin</i>
IL- γ	: Interferon- γ
IMT	: Indeks massa tubuh
IS	: <i>Internal standard</i>
Kbz	: Karbamazepin
LBD	: <i>Ligand binding domain</i>
LOQ	: <i>Lower limit of quantitation</i>
LTR	: <i>Long terminal repeat</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear factor κB</i>
NNRTI	: <i>Non-nucleoside reverse-transcriptase inhibitor</i>
PDPAI	: Perhimpunan Dokter Peduli AIDS Indonesia
PDPI	: Perhimpunan Dokter Paru Indonesia
Pka	: Konstanta disosiasi
Pokdisus	: Kelompok studi khusus
PPAR	: <i>Peroxisome proliferators activated receptor</i>
PXR	: <i>Pregnane X receptor</i>
QC	: <i>Quality control</i>
RNA	: <i>Ribonucleic acid polymerase</i>
RPM	: <i>Revolution per minute</i>
SGPT	: <i>Serum glutamic pyruvic transaminase</i>
SPSS	: <i>Statistical Package for the Sosial Sciences</i>
SSP	: Susunan saraf pusat
SULT	: <i>Sulfotransferase</i>
T _{1/2}	: Waktu yang dibutuhkan konsentrasi obat dalam plasma turun menjadi setengahnya pada fase eliminasi.
TB	: Tuberkulosis
TEA	: Trietilamin
Tmax	: Waktu sejak pemberian obat sampai dicapai Cmax
TNF- α	: <i>Tumor necrosis factor-α</i>
UGT	: <i>Uridine diphosphate-glucuronosyltransferase</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>



BAB 1 PENDAHULUAN

1.1. LATAR BELAKANG

Tuberkulosis merupakan salah satu infeksi oportunistik yang sering ditemukan pada penderita yang terinfeksi HIV. Hasil survei di Departemen Pulmonologi dan Ilmu Kedokteran Respirasi FKUI-RS. Persahabatan, tahun 2000-2005 menunjukkan peningkatan tajam presentase tuberkulosis (TB) pada penderita *Human Immunodeficiency Virus* (HIV) dari 5,88% tahun 2000 menjadi 33% pada tahun 2005.¹ Infeksi HIV merupakan faktor risiko utama yang menyebabkan TB menjadi aktif, dikatakan penderita HIV mempunyai potensi mengalami TB aktif sebesar 40% sedangkan penderita tanpa HIV adalah sebesar 5%.¹ Studi lain menyebutkan sekitar 85% penderita HIV juga terinfeksi TB.² Angka mortalitas penderita HIV yang disertai TB melebihi 50%.³

Regimen terapi TB yang menggunakan rifampisin mutlak diperlukan bagi keberhasilan terapi penderita HIV yang terinfeksi TB. Uji klinik menunjukkan regimen terapi TB yang tidak menggunakan rifampisin atau hanya menggunakan rifampisin pada dua bulan pertama terapi memperlihatkan peningkatan angka kejadian kegagalan terapi atau relaps.⁴

Penggunaan antiretroviral (ARV) bersama dengan rifampisin menimbulkan masalah interaksi obat.⁵ Ada perbedaan potensi induksi sistem enzim sitokrom P450 (CYP) di dalam kelas *rifamycin*, di mana potensi induksi terkuat dimiliki oleh rifampisin. Rifampisin merupakan penginduksi poten enzim sitokrom P450 yang memetabolisme banyak obat, termasuk yang memetabolisme *non-nucleoside reverse-transcriptase inhibitor* (NNRTI). Pengaruh rifampisin terhadap sitokrom P450 terjadi terutama terhadap isozim CYP3A4 dan CYP2C8/9. Selain itu, rifampisin juga menginduksi isozim CYP2C19 dan CYP2B6 dalam jumlah yang lebih sedikit.⁶

Efavirenz merupakan NNRTI yang direkomendasikan oleh *the World Health Organization* (WHO) terapi inisial lini pertama pada penderita HIV.⁷ Farmakokinetik efavirenz menunjukkan obat ini terutama dimetabolisme oleh isozim CYP2B6 dan CYP3A4.⁸

Studi longitudinal yang dilakukan oleh Friedland *et al.*⁹ menunjukkan adanya variasi yang luas pada kadar plasma efavirenz bila diberikan bersama-sama dengan rifampisin. Hal ini menyebabkan penderita yang terpapar dengan dosis subterapeutik mempunyai risiko untuk kegagalan terapi dan timbulnya resistensi, sedangkan penderita

yang terpapar dosis tinggi punya risiko tinggi untuk mengalami efek samping pada susunan saraf pusat.

Permasalahan yang timbul adalah penentuan dosis optimal efavirenz bila diberikan bersama dengan rifampisin. Sebelum menentukan dosis optimal, perlu dipelajari dulu pola interaksi kedua obat tersebut. Hal ini dilakukan mengingat kadar efavirenz dapat dipengaruhi oleh banyak faktor antara lain etnik, dan penggunaan obat-obatan lainnya. Selain itu terdapat perbedaan antar individu dalam kecepatan metabolisme obat, dan sebagian dari variasi ini disebabkan oleh adanya polimorfisme genetik dalam enzim yang memetabolisme obat.¹⁰ Oleh karena itu maka perlu dipelajari pola interaksinya pada orang sehat.

Studi interaksi farmakokinetik efavirenz dan rifampisin pada sukarelawan sehat belum pernah dilakukan di Indonesia. Studi pada sukarelawan sehat ini dapat memberikan prediksi yang tepat interaksi obat efavirenz dengan rifampisin tanpa dipengaruhi oleh obat lain, seperti halnya studi farmakokinetik yang dilakukan pada penderita HIV. Karena itu pada kesempatan ini hendak dilakukan studi pendahuluan untuk melihat interaksi farmakokinetik efavirenz dan rifampisin pada sukarelawan sehat di Indonesia.

1.2. RUMUSAN MASALAH

Berapakah besarnya penurunan bioavailabilitas efavirenz dalam plasma orang sehat setelah diinduksi oleh rifampisin?

1.3. TUJUAN PENELITIAN

1.3.1. Tujuan Umum

Mempelajari interaksi rifampisin dengan efavirenz.

1.3.2. Tujuan Khusus

Mengetahui besarnya pengaruh pemberian rifampisin terhadap bioavailabilitas efavirenz pada pemberian peroral pada sukarelawan sehat

1.4. HIPOTESIS

Rifampisin dapat menurunkan bioavailabilitas efaviranz dalam darah orang sehat.

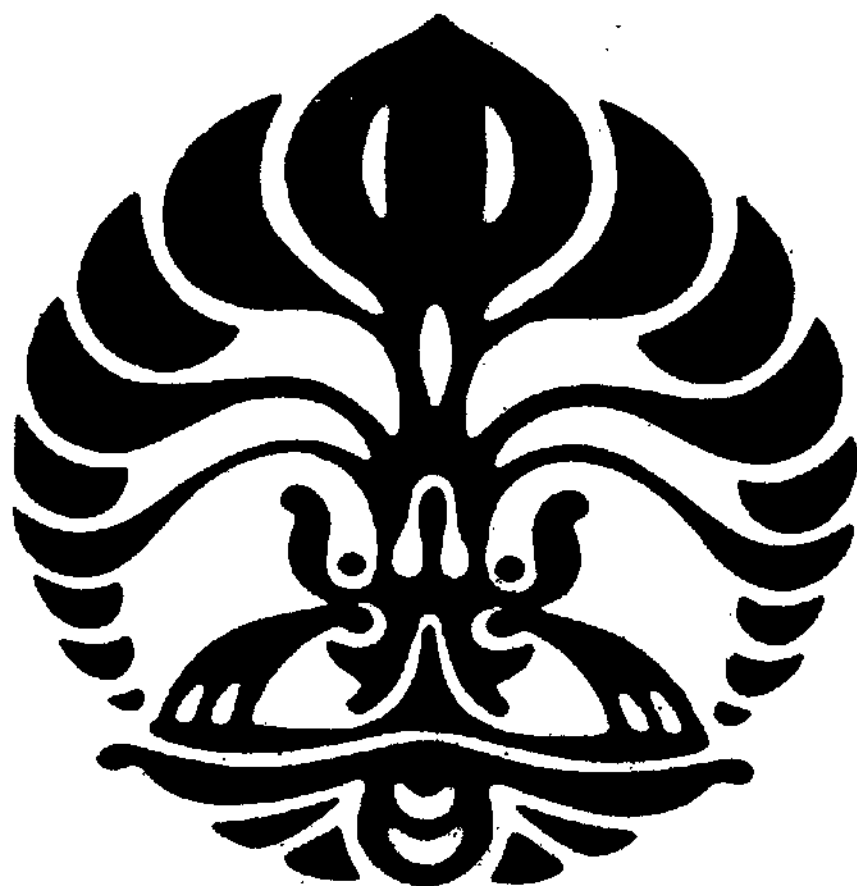
1.5. MANFAAT PENELITIAN

1.5.1. Untuk Pemerintah

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan untuk membuat panduan dalam optimalisasi dosis efavirenz pada pasien HIV yang juga memperoleh rifampisin di Indonesia.

1.5.2. Untuk Peneliti

Apabila hasil studi pendahuluan dapat membuktikan terdapat penurunan bioavailabilitas efavirenz dengan pemberian rifampisin, maka diharapkan penelitian ini dapat menjadi data dasar untuk dilakukannya penelitian lanjutan berupa studi farmakokinetik pada populasi.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1. INFEKSI OPORTUNISTIK TB PADA PENDERITA HIV

HIV mempersulit penanganan infeksi tuberkulosis, demikian juga sebaliknya. Infeksi HIV meningkatkan risiko reaktivasi infeksi TB laten meningkatkan, sementara individu yang telah terinfeksi HIV, dan baru mengalami infeksi oportunistik TB mempunyai progresivitas penyakit yang lebih tinggi.¹¹

Limfosit T (*cluster of differentiation-4*) $CD4^+$ dan makrofag berperan penting dalam respon imun terhadap infeksi *Mycobacterium tuberculosis*. Adanya infeksi TB menyebabkan pelepasan sitokin proinflamasi misalnya, interferon- γ (IFN- γ), interleukin (IL)-1, IL-2, dan *tumor necrosis factor- α* (TNF- α) oleh $CD4^+$ mengaktifkan makrofag dan membunuh TB intraseluler. Pembentukan sel T sitotoksik juga merupakan mekanisme proteksi tambahan dalam respon terhadap infeksi TB.

Infeksi HIV menyebabkan disfungsi dan pengurangan progresif jumlah sel $CD4^+$.¹² Kondisi ini menyebabkan penderita HIV mempunyai risiko tinggi untuk mengalami reaktivasi TB laten sama tingginya dengan risiko untuk mengalami infeksi TB baru. Sebaliknya infeksi TB sendiri dapat meningkatkan progresivitas HIV. Keberadaan TB dan antigen mayor dinding selnya (lipoarabinomannan) dalam tubuh menyebabkan *upregulation* gen-gen pembentuk sitokin proinflamasi IL-1, IL-2, IL-6, dan TNF- α . Sitokin yang terbentuk akan meningkatkan replikasi HIV dengan cara mengaktifasi faktor transkripsi *nuclear factor κ B* (NF- κ B) dan IL-6, sehingga menyebabkan peningkatan transkripsi *long terminal repeat* (LTR) dari HIV.¹² Proses ini distimulasi secara langsung dan tidak langsung oleh IL-1 dan TNF- α , sitokin yang dalam keadaan normal berperan dalam mekanisme pertahanan terhadap infeksi TB, pada koinfeksi HIV/TB sebaliknya makin mempercepat progresivitas HIV ke stadium lanjut.¹²

TB muncul pada infeksi HIV awal dengan nilai $CD4^+$ yang masih tinggi. Manifestasi klinis penderita yang mengalami koinfeksi HIV/TB tergantung dari derajat imunodefisiensi yang dialami. Pada penderita dengan nilai $CD4^+ > 350$ sel/ μ L manifestasi klinis TB menyerupai penderita TB yang tidak terinfeksi HIV. Manifestasi klinis yang dijumpai berupa batuk kronik lebih dari 3 minggu, demam, penurunan berat badan, nafsu makan menurun, rasa letih, berkeringat pada waktu malam, nyeri dada, dan batuk darah. Sebagian besar penderita seringkali tidak mempunyai gejala. Mayoritas penderita terinfeksi TB mempunyai lokasi yang masih terbatas pada paru, dengan gambaran

radiologis berupa infiltrat fibronoudular pada lobus atas paru dengan atau tanpa disertai kavitas. Pada penderita dengan nilai $CD4^+$ yang rendah, gambaran radiologis yang terlihat berbeda; infiltrat interstitial dan miliar lebih sering ditemukan pada lobus atas dan tengah paru. Selain itu limfadenopati mediastinal lebih sering ditemukan. Bila nilai $CD4^+ < 200$ sel/ μ L, TB ekstrapulmonal (limfadenitis, pleuritis, perikarditis, dan meningitis) lebih sering ditemukan.¹³

Diagnosis TB paru pada penderita HIV sama dengan penderita yang tanpa disertai HIV. Diagnosis ditegakkan berdasarkan anamnesis dan pemeriksaan jasmani yang ditunjang oleh pemeriksaan langsung sputum 3 hari berturut-turut untuk menemukan basil tahan asam (BTA), rontgen dada, dan biakan kuman.¹⁴

Pada prinsipnya, kemoterapi tuberkulosis yang adekuat harus diberikan pada semua individu yang mendapatkan terapi TB, tanpa memandang apakah individu tersebut terinfeksi HIV atau tidak. Prinsip terapi TB ini mencakup penggunaan kombinasi standar obat-obat antituberkulosis. Obat-obat antituberkulosis lini pertama meliputi isoniazid, rifampisin, pirazinamid, etambutol dan streptomisin. Regimen terapi standar pengobatan TB dalam bentuk kombinasi yang terdiri dari dua macam atau lebih obat. Regimen standar enam hingga 9 bulan terapi yang terdiri dari regimen terapi 2 bulan (fase inisial) dengan menggunakan isoniazid, rifampisin, pirazinamid, dan etambutol, diikuti dengan 4-7 bulan terapi (fase lanjutan) dengan menggunakan isoniazid dan rifampisin. Untuk semua kasus TB yang responsif, regimen terapi standar ini tampaknya adekuat pada penderita yang terinfeksi HIV maupun yang tidak terinfeksi HIV.¹⁵

Efek samping antituberkulosis lebih sering terjadi pada penderita HIV dibandingkan tanpa HIV,¹⁶ karena itu obat antituberkulosis sebaiknya tidak dimulai bersama-sama dengan antiretroviral guna mengurangi kemungkinan interaksi obat, dan reaksi paradoks.¹⁵ Obat antiretroviral tetap diteruskan pemberiannya jika penderita HIV sudah dalam terapi antiretroviral.¹⁷

Sampai saat ini waktu yang optimal untuk memulai terapi antiretroviral masih dipertentangkan. Rekomendasi yang dikeluarkan oleh Kelompok Studi Khusus (Pokdisus) *Acquired Immunodeficiency Syndrome* (AIDS) Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia berkerja sama dengan Perhimpunan Dokter Peduli AIDS Indonesia (PDPAI)¹⁸, WHO¹⁹, dan *Central for Disease Control and Prevention* (CDC)¹³ menggunakan acuan nilai sel $CD4^+$ dalam menentukan waktu untuk memulai terapi antiretroviral. Mereka juga lebih merekomendasikan penggunaan efavirenz pada

penggunaan bersama rifampisin, hal ini disebabkan interaksi kedua obat ini lebih sedikit dibandingkan dengan nevirapin. Rekomendasi waktu untuk memulai terapi antiretroviral dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1. Rekomendasi waktu memulai terapi ARV.¹⁸

Kadar CD4⁺ (sel/μL)	Rekomendasi
< 200	Mulai ARV segera setelah obat TB ditoleransi (2 minggu-2 bulan) Rekomendasi regimen: AZT+3TC+EFV
200 - 350	Mulai ARV setelah 2 bulan fase intensif terapi TB. Rekomendasi regimen: AZT+3TC+EFV
> 350	Obati TB sampai selesai. Monitor CD4 ⁺ . Tunda pemberian ARV.

Keterangan: AZT= zidovudin; 3TC = lamivudin; EFV= efavirenz

2.2. INTERAKSI OBAT

Interaksi obat timbul bila efek suatu obat diubah oleh keberadaan obat lainnya.²⁰ Interaksi obat dibedakan menjadi interaksi farmakodinamik dan farmakokinetik. Interaksi farmakokinetik terjadi bila salah satu obat dapat mengubah absorpsi, distribusi (transport), metabolisme, dan ekskresi obat lainnya sehingga akan mempengaruhi bioavailabilitas obat yang diberikan bersamaan. Interaksi farmakokinetik meliputi perubahan pH lambung dan absorpsi obat, perubahan metabolisme obat yang dimediasi oleh sitokrom (CYP) P-450, modulasi P-glikoprotein (protein transport seluler), dan perubahan eliminasi renal.²¹ Interaksi farmakodinamik adalah interaksi antara obat yang berkerja pada sistem reseptor, tempat kerja, atau sistem fisiologik yang sama. Respons yang ditimbulkan bisa aditif, sinergistik, atau antagonistik. Interaksi farmakodinamik tidak mengubah konsentrasi obat yang saling berinteraksi dalam plasma.

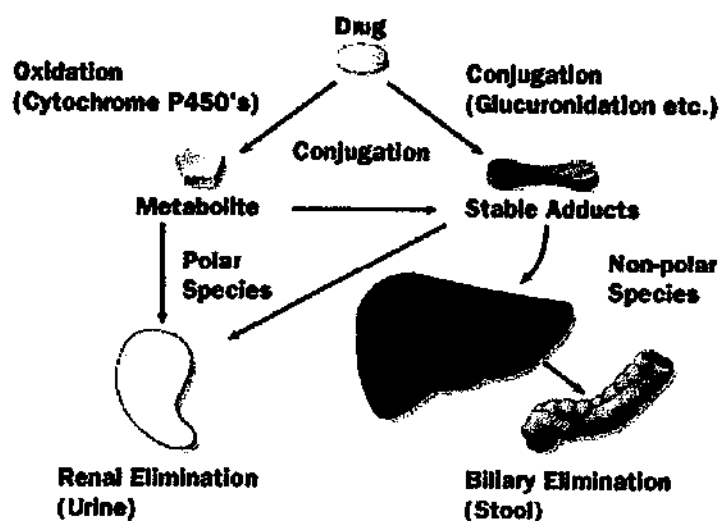
Interaksi farmakokinetik seringkali terjadi pada proses metabolisme yang berlokasi di hepar (dan intestin dalam jumlah yang lebih sedikit). Interaksi metabolisme ini terjadi bila dua obat berkompetisi untuk dimetabolisme oleh enzim yang sama. Salah satu interaksi metabolisme yang terpenting terjadi melalui CYP450.

Obat dapat mempengaruhi CYP450 dengan 2 cara yaitu induksi atau inhibisi. Inhibisi CYP450 menyebabkan obat yang merupakan substrat sistem enzim tersebut lebih lambat dimetabolisme sehingga terakumulasi dalam darah, dan potensial menimbulkan toksisitas. Induksi CYP450 menyebabkan meningkatnya metabolisme obat yang merupakan substrat enzim yang bersangkutan sehingga dapat menurunkan efikasi terapi. Berbeda dengan inhibisi CYP450 yang dapat langsung terjadi, proses induksi membutuhkan waktu beberapa hari (3 hari – 1 minggu) karena melibatkan proses sintesis enzim.

Interaksi obat menyebabkan terdapat variasi kadar obat dalam plasma hingga mencapai 400 kali lipat, sehingga dapat mempengaruhi keberhasilan terapi atau timbulnya toksisitas. Hal ini menjadi problem utama dalam menentukan optimalisasi dosis.²² Semua obat golongan *rifamycin* merupakan penginduksi CYP450, dengan potensi induksi bervariasi.²³

2.3. METABOLISME OBAT DAN SITOKROM P-450

Proses biotransformasi punya peranan penting dalam mengakhiri kerja obat. Hepar merupakan tempat utama biotransformasi. Proses biotransformasi terdiri dari beberapa fase. Fase I meliputi proses oksidasi, reduksi, dan hidrolisis pada umumnya dimediasi oleh CYP450. Fase II meliputi konjugasi dan dimediasi oleh enzim *uridine diphosphate-glucuronosyltransferase* (UGT), *sulfotransferase* (SULT), dan *glutathione-S-transferase* (GST). Umumnya proses ini menghasilkan metabolit yang lebih polar dari obat induk sehingga lebih mudah dieliminasi dari tubuh²⁴ (Gambar 1). Enzim-enzim ini punya peranan penting dalam detoksifikasi dan/atau kecepatan ekskresi xenobiotik (substansi kimia asing yang berasal dari luar tubuh).



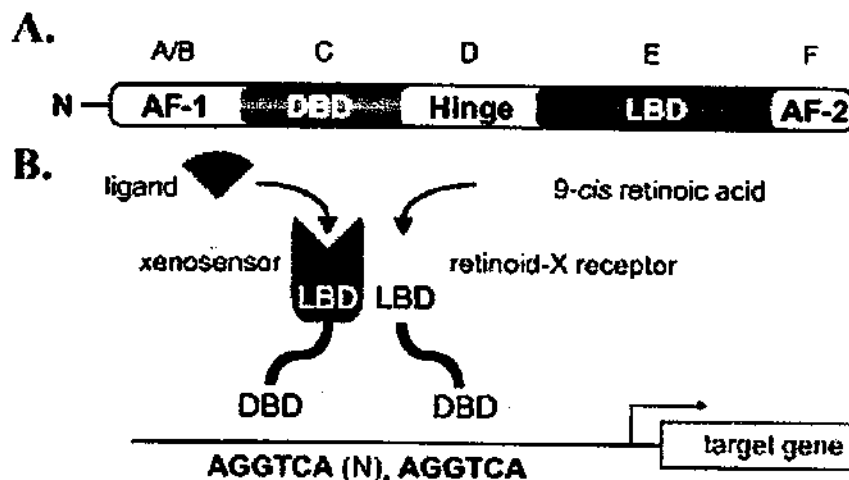
Gambar 2.1. Proses biotransformasi obat oleh hepar.²⁵

CYP450 ditemukan terutama pada membran retikulum endoplasma halus hepar dan sel epitel usus halus. CYP450 berperan pada 80% metabolisme oksidatif obat, dan hampir 50% eliminasi obat-obat pada umumnya.²⁴ Saat ini ada 57 gen CYP450 yang telah berhasil diidentifikasi pada manusia, tapi hanya sejumlah kecil yang mengkode protein (terutama famili CYP1, CYP2 dan CYP3), dan memberikan kontribusi bagi metabolisme obat. CYP450 diklasifikasikan berdasarkan persamaan asam amino yang ditunjukkan oleh famili (angka), diikuti oleh subfamili (huruf), dan enzim individual di dalam subfamili (angka), contohnya CYP3A4, 2D6, 2C19.²⁶

2.4. RESEPTOR NUKLEUS DAN INDUKSI ENZIM SITOKROM P-450

Xenobiotik dapat mempengaruhi kecepatan metabolisme obat dengan mengaktivasi proses transkripsi, dan menginduksi ekspresi dari gen-gen yang mengkode enzim yang memetabolisme obat. Induksi ekspresi gen yang mengkode enzim yang memetabolisme obat terjadi melalui interaksi anggota superfamili reseptor nukleus dengan ligannya.²⁴

Superfamili reseptor nukleus merupakan faktor transkripsi yang bekerja sebagai sensor terhadap xenobiotik lipofilik termasuk obat-obatan.²⁷ Aktivasi reseptor nukleus tertentu oleh xenobiotik yang merupakan ligan reseptor nukleus akan menginduksi transkripsi serangkaian target gen (di antaranya berupa CYP, dan transporter obat) yang berperan sebagai mekanisme pertahanan adaptif terhadap substansi toksik atau xenobiotik.¹⁶ Struktur dari reseptor nukleus dapat dilihat pada gambar 2.2.



Gambar 2.2. Struktur reseptor nukleus.²⁷

A. Struktur reseptor nukleus terdiri dari 4 domain yaitu regio N-terminal yang mengandung *activation function* (AF-1), *DNA binding domain* (DBD), *hinge domain*, dan *ligand binding domain* (LBD) yang mengandung *activation function* (AF-2).

B. *DNA binding domain* reseptor nukleus. PXR dan CAR anggota superfamili reseptor nukleus berfungsi sebagai sensor keberadaan xenobiotik lipofilik, termasuk obat. Saat reseptor nukleus merasakan keberadaan xenobiotik maka dia akan berikatan dengan RXR (heterodimer) pada elemen responsif dari gen target dan memicu transkripsi hexamer nukleotida.²⁷

Salah satu mekanisme induksi terpenting terjadi melalui reseptor nukleus tipe 2, yang merupakan superfamili yang sama dengan reseptor hormon steroid. Reseptor nukleus tipe 2 punya peranan terpenting dalam metabolisme dan terapi obat. Kelompok reseptor dan ligan yang masuk dalam reseptor nukleus tipe 2 antara lain *pregnane X receptor* (PXR) dengan ligan rifampisin, *constitutive androstane receptor* (CAR) dengan ligan

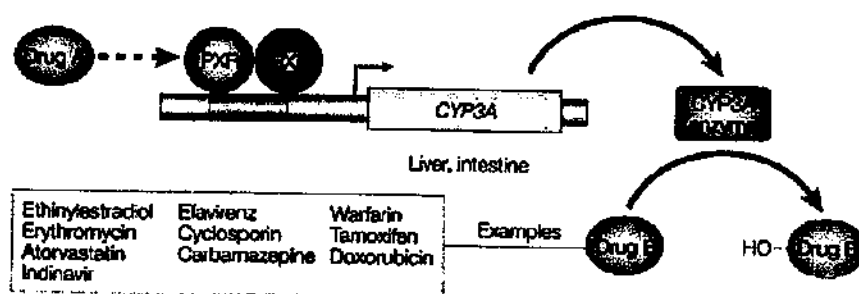
fenobarbital, dan *peroxisome proliferators activated receptor* (PPAR) dengan ligan fibrat.²⁴

Penamaan PXR dibuat berdasarkan sifatnya diaktivasi oleh steroid sintetik *pregnane 16 α -carbonitrile*. Selain itu PXR juga diaktivasi oleh sejumlah obat antara lain rifampisin, nifedipin, mevastatin, rosiglitazon, ritonavir, dan paclitaxel. PXR diekspresikan pada jaringan yang sama dengan tempat diekspresikannya CYP3A4.¹⁶ Aktivasi PXR akan menginduksi ekspresi CYP3A4, dan ekspresi gen-gen yang mengkode transporter obat (contoh: P-glikoprotein), dan enzim-enzim fase II termasuk enzim UGT, dan SULT.²⁴

Reseptor nukleus CAR ditemukan berdasarkan kemampuannya mengaktivasi transkripsi gen tanpa keberadaan ligan. Steroid (androstanol), klotrimazol, meclizine merupakan *inverse agonist* yang dapat menghambat aktivasi gen oleh CAR. Sebaliknya pestisida (*1,4-bis[2-(3,5-dichloropridyloxy)] benzene*), steroid *5 β -pregnane-3,20-dione* merupakan agonis yang akan mengaktivasi ekspresi gen bila berikatan dengan CAR. Gen yang diinduksi oleh CAR mencakup yang mengkode beberapa CYP (CYP2B6, CYP2C9, dan CYP3A4), beberapa enzim fase II GST, UGT, dan SLUT, dan transporter endobiotik. CYP3A4 diinduksi oleh PXR dan CAR, sehingga kadar enzim ini sangat dipengaruhi oleh banyak obat dan xenobiotik.²⁴

2.5. MEKANISME INDUKSI SITOKROM P-450 OLEH RIFAMPISIN

Mekanisme rifampisin dalam menginduksi enzim CYP3A4 dimediasi oleh aktivasi reseptor nukleus PXR (disebut juga dengan "steroid X receptor") dan CAR. Rifampisin berfungsi sebagai ligan yang akan mengaktivasi faktor transkripsi bila berikatan dengan PXR. Proses ini kemudian diikuti oleh pembentukan heterodimer dengan *retinoid X receptor* (RXR) yang kemudian berikatan dengan elemen responsif dari DNA di dalam regio regulator gen CYP3A. Sebagai hasilnya terjadi *upregulation* transkripsi DNA yang menghasilkan peningkatan sintesis enzim CYP3A4 dan meningkatnya metabolisme oksidatif substrat dari enzim tersebut.^{26,28} Interaksi obat pada tingkat molekular dapat dilihat pada gambar 2.3.

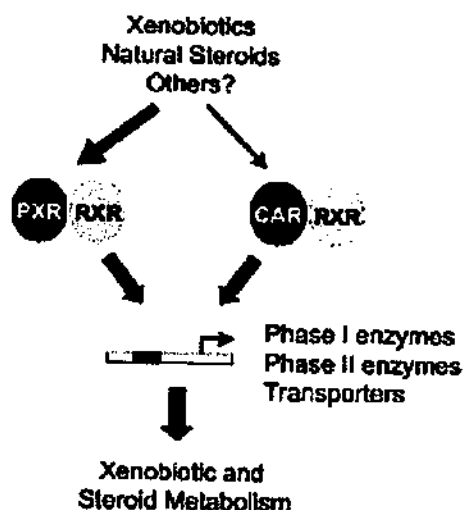


Nature Reviews | Drug Discovery

Gambar 2.3. Interaksi obat pada tingkat molekular

Reseptor nukleus PXR adalah faktor transkripsi yang mengatur ekspresi dari gen CYP3A (kuning) dalam hepar dan usus halus. Untuk dapat berfungsi reseptor nukleus PXR bergabung dengan reseptor nukleus RXR menghasilkan bentukan heterodimer. Terikatnya obat A pada PXR dan induksi enspresi enzim CYP3A (merah jambu) akan mempercepat metabolisme obat B, yang merupakan substrat dari CYP3A. CYP= sitokrom P450; OH= grup hidroksil; PXR= *pregnane X receptor*; RXR= *retinoid X receptor*.²⁹

Reseptor nukleus yang lain yaitu CAR juga terlibat dalam aktivasi faktor transkripsi CYP3A4. CAR memperlihatkan *cross-talk*³⁰ (interaksi fungsional antara 2 atau lebih *signaling pathway*) dengan PXR, dalam arti kedua reseptor nukleus tersebut berikatan pada element responsif yang sama di dalam regio promotor dari gen CYP3A4 maupun CYP2B6. (Gambar 2.4).



Gambar 2.4. *Cross-talk* antara PXR dan CAR *signaling pathway*.

Kedua reseptor nukleus PXR dan CAR dimodulasi oleh xenobiotik dan steroid. Untuk dapat aktif PXR dan CAR berikatan dengan RXR sebagai heterodimer pada elemen responsif regio regulator gen-gen yang terlibat dalam metabolisme xenobiotik dan steroid, termasuk yang mengkode enzim-enzim fase I dan II dan transporter.³¹

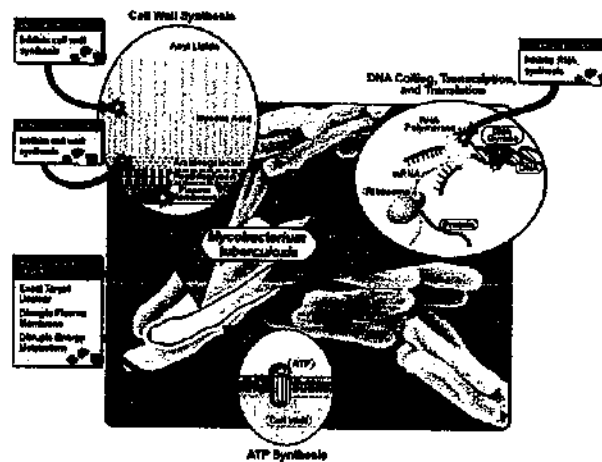
Cross-talk menyebabkan kedua reseptor nukleus tersebut mampu menginduksi aktivasi faktor transkripsi gen CYP3A4 maupun CYP2B6 akibat pemberian rifampisin. Selain itu keberadaan *cross-talk* ini menyebabkan CAR maupun PXR secara bersama-sama dapat mengkompensasi kehilangan atau malfungsi dari masing-masing reseptor nukleus.^{27,28} Efek rifampisin lebih kecil terhadap CAR daripada PXR.²⁸ Efavirenz dan nevirapin menginduksi gen CYP2B6 dan CYP3A4 terutama melalui aktivasi CAR.³²

2.6. RIFAMYCIN

Antibiotik kelas *rifamycin* merupakan produk fermentasi dari *Amiclatopsis* (*Streptomyces*) *mediterranei* sp.; ditemukan pertama kalinya pada tahun 1957 dalam bentuk *rifamycin B*.³³ Produk yang pertama kali di produksi ini ternyata tidak punya aktivitas antibakteri, namun *rifamycin B* dengan cepat mengalami degradasi menjadi derivat yang sangat aktif yaitu *rifamycin S* yang memiliki aktivitas antibakteri.³⁴

Saat ini ada 3 jenis *rifamycin* yang digunakan di klinik yaitu rifampisin (rifampin), rifapentin, dan rifabutin. Penggunaan rifapentin tidak direkomendasikan untuk terapi TB pada penderita HIV positif karena tingginya angka kegagalan mikrobiologik.³⁵ Rifabutin lebih direkomendasikan penggunaannya pada pasien HIV yang juga terinfeksi TB karena potensi interaksinya dengan ARV (*protease inhibitor* dan NNRTI) paling kecil dari *rifamycin* yang ada. Obat ini juga efektif untuk infeksi *Mycobacteria atypical*, dan pada keadaan terjadi resistensi terhadap rifampisin.³⁶

Rifamycin bekerja menghambat *deoxyribonucleic acid (DNA)-dependent ribonucleic acid (RNA) polymerase* mikobakteria dan mikroorganisme lain. (Gambar. 4) Hambatan *DNA-dependent RNA polymerase* menyebabkan terjadi supresi inisiasi pembentukan rantai (tapi tidak perpanjangan rantai) DNA yang dibutuhkan untuk proses replikasi mikrobakteria.³⁷ Tempat kerja dari obat yang termasuk dalam kelas *rifamycin* dapat dilihat pada gambar 2.5.



Gambar 2.5. Tempat kerja dari obat yang termasuk kelas *rifamycin*.³⁷

Absorpsi rifampisin baik pada pemberian per oral, konsentrasi puncak tercapai dalam 2-4 jam. Setelah proses absorpsi, rifampisin dengan cepat akan dieliminasi ke dalam empedu, dan mengalami sirkulasi enterohepatik. Selama proses ini berlangsung, obat secara progresif akan mengalami proses deasetilasi oleh enzim mikrosom hati, sehingga setelah 6 jam hampir semua rifampisin yang ada dalam empedu merupakan metabolit *25-deacetyl-rifampicin* yang masih mempunyai aktivitas antibakteri penuh. Waktu paruh rifampisin bervariasi mulai dari 1,5 jam sampai 5 jam, dan dapat diperpanjang dengan adanya disfungsi hepar. Waktu paruh rifampisin secara progresif mengalami pemendekan dalam 14 hari terapi, hal ini disebabkan kemampuan rifampisin menginduksi enzim mikrosom hati dan mempercepat proses deasetilasi yang berperan penting dalam proses eliminasi obat. Eliminasi rifampisin melalui urin hanya 30% dan melalui feses 60-65%; kurang dari setelahnya dalam bentuk utuh. Hal ini menyebabkan tidak diperlukan penyesuaian dosis pada gangguan fungsi ginjal.³⁸ Profil farmakokinetik rifampisin dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2. Profil farmakokinetik rifampisin.³⁹

	Rifampisin
Bioavailabilitas (%)	68
Efek makanan	↓AUC* 6%: ↓Cmax** 36%
Jalur metabolisme utama	Deasetilasi, hidrolisis menjadi derivat formil
Efek terhadap induksi CYP3A4	Menonjol
Autoinduksi	Ya
Waktu paruh	1,5 - 5
Ikatan protein (%)	85

* AUC = *area under the time-concentration curve* (luas area di bawah kurva kadar obat dalam plasma terhadap waktu).

** Cmax = konsentrasi obat maksimal

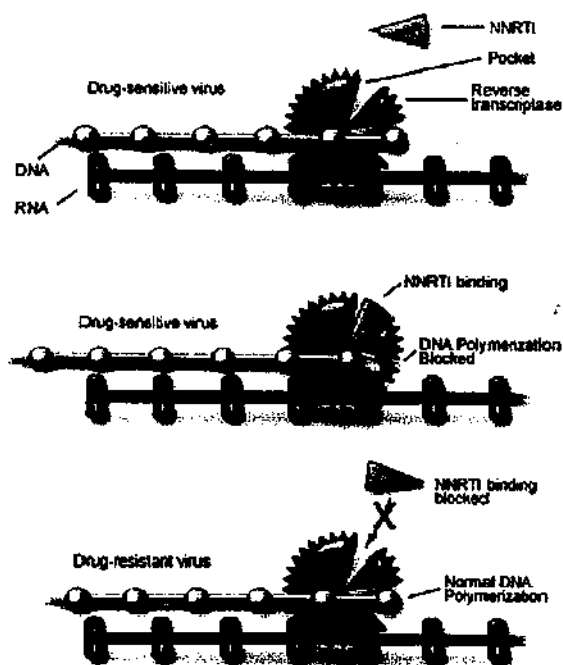
Rifampisin umumnya ditoleransi dengan baik. Kurang dari 4% penderita mengalami efek samping. Efek samping yang sering ditemukan pada penggunaan rifampisin untuk terapi TB berupa ruam kulit, demam, mual dan muntah. Efek samping yang jarang ditemukan berupa hepatitis, dan kegagalan hati.³⁸

Interaksi yang terpenting dari anggota kelas *rifamycin* terjadi terutama melalui isozim CYP3A4 dan CYP2C8/9. Selain kedua CYP tersebut, rifampisin juga menginduksi aktivitas isozim CYP2C19 dan CYP2B6 dalam jumlah yang lebih kecil.⁵ Ada perbedaan potensi induksi CYP di dalam kelas *rifamycin*. Berturut-turut mulai dari yang paling poten rifampisin > rifapentin > rifabutin, dengan besarnya perbedaan potensi induksi berkisar 3:2:1.³⁹ Rifampisin merupakan *inducer* paling poten, diikuti dengan rifapentin, dan rifabutin dengan potensi yang paling kecil. Selain merupakan *inducer* poten CYP450, rifampisin juga menginduksi upregulasi sintesis enzim sitosol yang terlibat dalam reaksi metabolisme obat fase II misalnya enzim *uridine diphosphate-glucuronosyltransferase*, dan *sulfotransferase*.²⁴

2.7. EFAVIRENZ

Efavirenz merupakan satu dari 4 obat golongan *nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors* (NNRTI) yang telah disetujui penggunaannya oleh *Food and Drug Administration* (FDA) untuk pengobatan HIV. Obat lainnya adalah nevirapin, delavirdin, dan etravirdin. Di antara obat yang ada, delavirdin jarang digunakan dalam praktik klinik karena potensinya yang relatif rendah dan frekuensi pemberiannya lebih sering bila dibandingkan dengan yang lainnya. Penggunaan etravirdin dicadangkan pada kasus resistensi terhadap NNRTI lainnya. Keempat obat ini secara struktural berbeda satu dengan lainnya, namun mempunyai mekanisme kerja yang sama.

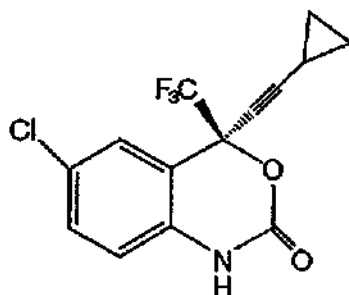
NNRTI bekerja sebagai *noncompetitive inhibitor* dari enzim *reverse transcriptase Human Immunodeficiency Virus type-1* yang berfungsi untuk mengubah RNA virus menjadi DNA. Terikatnya NNRTI pada kantong hidrofobik di dalam HIV-1 *reverse transcriptase* subunit p66 akan menginduksi perubahan konformasi dan mengganggu aktivitas katalitik dari enzim tersebut sehingga menyebabkan terhambatnya sintesis DNA virus.⁴⁰ (Gambar 2.6.)



Gambar 2.6. Tempat kerja NNRTI.⁴¹

NNRTI memiliki afinitas yang kuat pada kantong yang lokasinya di dekat *active site* dari enzim *reverse transcriptase*. Pada virus yang sensitif, terikatnya NNRTI pada kantong hidrofobik di dalam HIV-1 *reverse transcriptase* subunit p66 akan menyebabkan hambatan polimerisasi DNA oleh enzim *reverse transcriptase*. Pada virus yang resisten, mutasi menghambat terikatnya NNRTI, yang menyebabkan polimerisasi DNA terjadi secara normal.

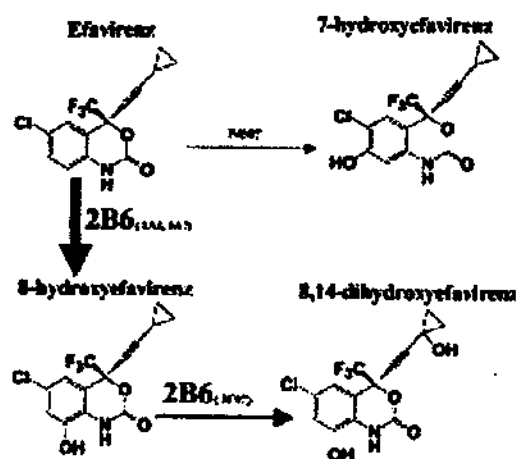
Efavirenz secara kimia dideskripsikan sebagai *(S)*-6-chloro-4-(cyclopropylethynyl)-1,4-dihydro-4-(trifluoromethyl)-2H-3,1-benzoxazin-2-one. Rumus molekulnya adalah $C_{14}H_9ClF_3NO_2$.⁴² Gambar struktur kimia efavirenz dapat dilihat pada Gambar 2.7.



Gambar 2.7. Struktur kimia efavirenz.⁴²

Efavirenz berbentuk tepung kristal berwarna putih hingga merah muda pucat dengan berat molekul 315,68. Obat ini praktis tidak larut dalam air ($< 10 \mu\text{g/mL}$).⁴² Konstanta disosiasi (Pka) efavirenz adalah 10,2; menunjukkan obat ini bersifat basa.⁴³

Absorpsi efavirenz pada pemberian per oral baik dari saluran cerna. Kadar puncak tercapai dalam waktu 3-5 jam.⁴² Bioavailabilitas oral tidak diketahui. Makanan tinggi lemak meningkat AUC 28 %, dan C_{max} 79 %.⁴² Efavirenz terikat kuat dengan protein plasma (99,50 – 99,75%).⁴⁴ Kadar dalam cairan serebrospinalis berkisar 0,26-1,19 % (rerata 0,69 %).⁴⁴ Efavirenz terutama dimetabolisme oleh CYP2B6, dan sebagian kecil metabolisme terjadi melalui CYP3A4/5, CYP1A2 menjadi metabolit hidroksil kemudian diikuti oleh glukuronidasi (metabolit inaktif).⁴⁰ Proses metabolisme efavirenz dapat dilihat pada Gambar 2.8.



Gambar 2.8. Metabolisme efavirenz.⁸

Metabolisme efavirenz terutama diperantarai oleh isozim CYP2B6 menghasilkan *8-hydroxyefavirenz*, kemudian diikuti dengan proses oksidasi menjadi *8,14-dihydroxyefavirenz*. Isozim lain (CYP1A2, 3A4, 3A5) hanya memberikan kontribusi kecil dalam metabolisme efavirenz.

Efavirenz merupakan penginduksi CYP3A4, sehingga efavirenz dapat menginduksi metabolismenya sendiri.⁴⁰ Sifat autoinduksi yang dimiliki oleh efavirenz menyebabkan terdapat perbedaan waktu paruh efavirenz pada pemberian dosis tunggal (52-76 jam) dengan pemberian dosis multipel (setelah mencapai taraf mantap) yaitu 40-55 jam.⁴² Waktu paruh obat yang panjang menyebabkan efavirenz cukup diberikan sekali sehari. Efavirenz juga mempunyai sifat menginhibisi CYP2C9 dan CYP2C19, sehingga obat ini dapat meningkatkan kadar substrat dari kedua isozim. Eliminasi obat induk melalui ginjal tidak bermakna ($<1\%$) sehingga tidak diperlukan penyesuaian dosis pada

gangguan fungsi ginjal. Pada penderita dengan penyakit hepar diperlukan monitoring efek samping dan fungsi hati mengingat metabolisme dan efek samping obat melibatkan hepar.⁴² Profil farmakokinetik efavirenz dapat dilihat pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3. Profil farmakokinetik Efavirenz^{40,42}

	Efavirenz
Bioavailabilitas (%)	Tidak diketahui
Waktu tercapainya C _{max} (jam)	3 -5
Efek makanan	Diminum perut kosong. Pemberian bersama makanan tinggi lemak meningkatkan AUC* $\pm$ 28% & C _{max} ** $\pm$ 79%.
Jalur metabolisme utama	CYP2B6, CYP3A4 (sedikit)
Efek terhadap CYP3A4	Induksi
Autoinduksi	Ya
	(tidak memerlukan penyesuaian dosis).
Waktu paruh (jam)	52-76 (dosis tunggal), 40-55 (taraf mantap)
Ikatan protein (%)	$\geq$ 99,5

* AUC = *area under the time-concentration curve* (luas area di bawah kurva kadar obat dalam plasma terhadap waktu).

** C_{max} = konsentrasi obat maksimal

Efek samping efavirenz yang sering ditemukan berupa ruam kulit, gangguan susunan saraf pusat (*dizziness*, gangguan konsentrasi, disforia, mimpi buruk, dan insomnia), termasuk episode psikosis (depresi, halusinasi, dan/atau mania). Efek samping yang mengenai susunan saraf pusat umumnya dapat ditoleransi dan akan hilang dalam 2-4 minggu pertama terapi. Untuk mengurangi efek samping pada susunan saraf pusat, obat diminum saat perut kosong waktu tidur malam.⁴² Efek samping lain efavirenz yang dilaporkan berupa peningkatan enzim transaminase hepar yang timbul akibat reaksi hipersensitivitas. Angka kejadian hepatotoksitas akibat efavirenz berkisar 1-8 %, angka ini lebih kecil bila dibandingkan nevirapin (4-18 %). Peningkatan enzim hati biasanya bersifat asimtomatik, dan umumnya akan pulih dengan dilanjutkannya terapi.⁴⁴ Selain itu efek samping yang juga dilaporkan berupa peningkatan kolesterol serum, dan terjadinya malformasi otak dan *spinal cord* pada pemberian efavirenz pada wanita hamil.⁴⁰

Semua obat NNRTI dimetabolisme oleh CYP450. Namun ada perbedaan isozim yang memetabolisme obat. Nevirapin merupakan substrat CYP3A4 sedangkan efavirenz terutama dimetabolisme oleh CYP2B6, sehingga kadarnya kurang terpengaruh oleh pemberian obat lain yang mempengaruhi aktivitas enzim CYP3A4 misalnya rifampisin, bila dibandingkan dengan anggota NNRTI yang lain.^{40, 43}

2.8. STUDI-STUDI INTERAKSI RIFAMPISIN DAN EFAVIRENZ

Dosis optimal efavirenz bila diberikan bersama dengan rifampisin masih menjadi perdebatan. Beberapa studi farmakokinetik yang telah dilakukan akan dibahas di sini. Studi farmakokinetik yang dilakukan oleh Lopez-Cortez *et al.*⁴⁵ di Spanyol pada 24 penderita HIV yang juga terinfeksi TB. Desain studi yang digunakan bersifat acak, terbuka untuk mendapatkan salah satu kelompok terapi. Kelompok A ($n = 16$) mendapatkan obat antituberkulosis tanpa rifampisin, ditambah dengan terapi antiretroviral yang mengandung efavirenz 600 mg/hari, pada hari ke 1–7. Penderita kemudian ditukar dengan regimen obat antituberkulosis yang mengandung rifampisin dengan regimen antiretroviral yang mengandung efavirenz 600 mg/hari (kelompok A1; $n=8$) atau efavirenz 800 mg/hari (kelompok A2; $n=8$). Kelompok perlakuan yang kedua, kelompok B ($n=8$), memperoleh terapi TB yang mengandung rifampisin pada hari pertama hingga ke-7, dan ditambahkan regimen antiretroviral yang mengandung efavirenz 800 mg/hari dalam regimen antiretroviralnya pada hari ke-8. Konsentrasi plasma efavirenz diperiksa pada hari ke-7 dan 14. Kadar AUC, C_{max} , dan C_{min} efavirenz berkurang masing-masing hingga 24%, 25%, dan 22%, setelah dilakukan penambahan rifampisin pada efavirenz 600 mg/hari (terapi A1 vs A). Pemaparan efavirenz pada kelompok A2 (efavirenz 800 mg/hari dengan rifampisin) dan kelompok A (efavirenz 600 mg/hari tanpa rifampisin) memberikan hasil serupa. Peneliti menyatakan terdapat hubungan positif antara berat badan, dosis efavirenz (dosis/kg), dan nilai parameter farmakokinetik efavirenz. Meskipun demikian, bila data dianalisis berdasarkan berat badan (<50 kg vs ≥ 50 kg), terlihat konsentrasi efavirenz pada dosis 800 mg/hari yang diberikan bersama dengan rifampisin sama kadarnya dengan yang terlihat pada pemberian efavirenz 600 mg/hari tanpa rifampisin, tanpa memandang berat badan. Karena masih tidak jelasnya konsentrasi minimum efavirenz dalam plasma yang dibutuhkan untuk supresi virologik, peneliti menyarankan peningkatan dosis efavirenz dari 600 mg/hari menjadi 800 mg/hari dosis tunggal, terlepas dari berat badan pada pasien yang juga memperoleh terapi bersama rifampisin.

Manosuthi *et al.*^{46, 47} melakukan uji klinik acak, terbuka yang dilakukan masing-masing selama 24 dan 48 minggu pada 84 penderita Thailand dengan koinfeksi HIV-TB. Penderita yang memperoleh rifampisin > 1 bulan, dirandomisasi menjadi 2 kelompok yang sama banyaknya untuk mendapatkan regimen terapi yang mengandung efavirenz 600 mg/hari ($n=42$), atau efavirenz 800 mg/hari ($n=42$). Pengukuran dilakukan pada

konsentrasi plasma efavirenz 12 jam setelah pemberian obat, dan pada hari ke-14. Nilai CD4⁺ dan HIV RNA juga diperiksa pada minggu ke-16, 24, dan 48. Hasil studi menunjukkan rerata berat badan kedua kelompok sama (50,6 kg vs 52,9). Kedua kelompok mempunyai konsentrasi efavirenz jam ke-12 (C12) yang sebanding (median 3,02 mg/L vs 3,39 mg/L); namun nilai teratas C12 lebih tinggi pada kelompok yang memperoleh efavirenz dosis 800 mg/hari (21,3 mg/L) dibandingkan kelompok 600 mg/hari (12,2 mg/L). Secara umum, AUC dan C_{min} merupakan parameter prediktor penting yang digunakan untuk melihat korelasi paparan antiretroviral dengan respon virologis.⁴⁵ Namun, data lain menunjukkan konsentrasi efavirenz pada jam ke-12 juga bermanfaat untuk memprediksikan kegagalan virologis, sama halnya dengan efek samping pada susunan saraf pusat yang timbul akibat pemberian efavirenz.⁴⁸ *Follow up* studi dilakukan hingga 48 minggu guna menilai respon virologis dan imunologis. Pada minggu ke-48, 31 dari 34 pasien (91,2%) pada kelompok 600 mg/hari, dan 27 dari 31 pasien (87,1%) dalam kelompok 800 mg/hari mencapai HIV RNA <50 copies/mL. Selain itu tidak ditemukan adanya perbedaan nilai CD4⁺ di antara kedua kelompok pada minggu ke-24 dan ke-48. Kesimpulan studi ini efavirenz dosis 600 mg/hari mencukupi untuk sebagian besar penderita Thailand (dengan berat badan sekitar 50 kg) yang terinfeksi HIV, dan memperoleh rifampisin secara bersamaan. Peneliti juga menyatakan rekomendasi dosis ini tidak bisa diterapkan pada etnik yang berbeda, atau populasi dengan berat badan yang lebih besar (> 50 kg).

Studi yang dilakukan oleh Brennan-Benson *et al.*⁴⁹ bertujuan ingin melihat efek berat badan yang lebih besar, dan etnik pada pemaparan efavirenz. Studi observasional ini melibatkan 9 penderita dengan berat badan lebih dari 50 kg (rerata 66,4 kg; rentang berat badan 52-107 kg). Penderita mendapatkan regimen antiretrovirus yang mengandung efavirenz 800 mg/hari, dan terapi antituberkulosis yang mengandung rifampisin. Selama periode waktu 2 tahun dilakukan monitoring toksisitas klinis dan konsentrasi efavirenz. Tujuh dari 9 penderita yang mengalami koinfeksi HIV/TB mengalami toksisitas klinis, dengan perincian toksisitas pada susunan saraf pusat terjadi pada 6 orang, dan hepatitis terjadi pada 1 orang. Toksisitas yang timbul menyebabkan diperlukannya pengurangan dosis, atau penghentian terapi. Semua penderita yang mengalami toksisitas mempunyai konsentrasi lembah efavirenz supratherapeutik (median 11,7 mg/L; rentang 5,37-19,6 mg/L). Target rentang terapeutik konsentrasi lembah efavirenz berkisar 1,2 - 4,0 mg/L. Di antara 7 penderita yang mengalami toksisitas 6 diantaranya mempunyai etnik kulit hitam Afrika, dan 1 penderita Caucasia. Peneliti berpendapat polimorfisme CYP2B6

mempunyai andil dalam tingginya angka toksisitas pada susunan saraf pusat. Sekitar 20% etnik kulit hitam Afrika mempunyai G516T *allele* homolog versus 3% Caucasia.⁵⁰ Polimorfisme CYP2B6 ini dihubungkan dengan pemaparan konsentrasi efavirenz yang lebih tinggi, dan lebih tingginya toksisitas pada susunan saraf pusat akibat *clearance* efavirenz yang lebih lama.⁵⁰

Friedland *et al.*⁹ melaporkan terdapat variabilitas yang luas konsentrasi efavirenz di antara 19 etnik kulit hitam Afrika yang mengalami koinfeksi HIV/TB (rerata berat badan 59,4 kg, rentang 45-97 kg) yang mendapatkan terapi efavirenz 600 mg/hari bersama dengan rifampisin. Peneliti memonitor konsentrasi minimal efavirenz dalam plasma (Cmin) secara intermiten selama 6 bulan terapi kombinasi regimen TB yang mengandung rifampisin bersama efavirenz 600 mg/hari, dan 15 bulan setelah penghentian terapi TB. Hasil studi menunjukkan variabilitas inter-subyek efavirenz secara substansial lebih besar bila diberikan bersama rifampisin (*coefficient of variation* [CV] 157%) dibandingkan setelah penghentian rifampisin, dengan variasi intra-subyek yang konsisten (CV 24%). Namun Cmin tidak berbeda bermakna selama terapi TB versus pascaterapi TB. Konsentrasi efavirenz tidak berkorelasi dengan berat badan, terlepas dari pemberian bersama dengan rifampisin. Dari 17 penderita yang menyelesaikan terapi HIV/TB, 16 penderita mempunyai HIV RNA <50 kopi/mL. Tujuh penderita (35%) dilaporkan menderita pusing dan gangguan konsentrasi selama beberapa minggu pertama terapi efavirenz; namun tidak ditemukan kaitan antara konsentarsi efavirenz dalam plasma dengan simptom neuropsikiatrik. Peneliti berpendapat dosis optimal efavirenz harus ditentukan terutama berdasarkan studi yang menilai *outcome* klinis, yang didukung oleh data farmakokinetik. Terlepas dari variabilitas konsentrasi efavirenz dalam plasma selama pemberian rifampisin, didapatkan *outcome* klinis yang baik. Peneliti studi mendukung penggunaan rutin dosis efavirenz 600 mg/hari pada pemberian bersama rifampisin untuk pasien Afrika yang mengalami koinfeksi HIV/TB. Ringkasan studi yang meneliti interaksi efavirenz dan rifampisin pada penderita HIV/TB dapat dilihat pada Tabel 2.4.

Penentuan dosis optimal pada umumnya didasari studi farmakokinetik. Namun penentuan dosis optimal efavirez bila digunakan bersama rifampisin tidak mudah dilakukan. Hal ini disebabkan oleh adanya variasi yang luas dalam beberapa hal seperti disain studi yang digunakan (acak⁴⁵⁻⁷ vs observasional^{9,49}); berbedanya lama *follow up* antar studi; ketidakseragaman waktu pemberian efavirenz, ada studi yang memberikan efavirenz bersama dengan makanan, dan sedangkan studi yang lain memberikannya

dalam keadaan puasa. Faktor makanan ikut mempersulit penentuan dosis optimal efavirenz, dan berkaitan dengan timbulnya efek samping. Pemberian efavirenz bersama makanan meningkatkan AUC dan C_{max} efavirenz masing-masing sebesar $\pm 28 \%$, dan $\pm 79 \%$.⁴² Studi tidak mencantumkan informasi penting yang berhubungan dengan pengumpulan data farmakokinetik, seperti waktu pengambilan sampling atau metoda yang digunakan untuk menentukan parameter farmakokinetik yang relevan. Kebanyakan studi mempunyai jumlah sampel farmakokinetik yang tidak mencukupi karena peneliti percaya bahwa pasien tidak akan menyetujui prosedur pengambilan sampel darah yang sering dan berlangsung dalam jangka waktu yang panjang. Pada studi yang ada parameter farmakokinetik, data farmakokinetik yang ada untuk menilai paparan efavirenz sangat bervariasi (C₁₂, C_{min}, AUC). Hubungan antara C₁₂ dan C_{min} masih tidak jelas. Selain itu penilaian efikasi dan keamanan efavirenz berdasarkan konsentrasi C₁₂ masih belum divalidasi.

Kebanyakan penderita pada studi mempunyai berat badan ≤ 50 kg, data menunjukkan efavirenz 600 mg/hari adekuat untuk mempertahankan kontrol virologi dan imunologi sampai minggu ke-48 pada pemberian bersama rifampisin. Namun, masih dibutuhkan banyak data pada penderita dengan berat badan >50 kg, karena ada studi yang memperlihatkan toksisitas efavirenz yang menyebabkan diperlukannya pengurangan dosis atau penghentian terapi pada pasien dengan berat badan lebih besar.^{45, 46, 49}

Etnik dan farmakogenetik turut memberikan kontribusi penting dan harus dipertimbangkan berkenaan dengan luasnya variabilitas interpasien terhadap paparan efavirenz. Kebanyakan pasien dalam studi ini adalah Asia atau etnik kulit hitam Afrika, sementara Caucasia kurang direpresentasikan. Etnik mempunyai peranan penting karena etnik kulit hitam Afrika lebih sering mempunyai genotip CYP2B6 516-T/T homolong dibandingkan dengan etnik lainnya.⁵⁰ Fakta ini didukung oleh studi yang dilakukan oleh Friedland *et al.*⁹ di mana hasil studinya menunjukkan penderita etnik kulit hitam Afrika lebih sering mengalami efek samping yang mengenai susunan saraf pusat walaupun mendapatkan dosis 600 mg bersama dengan rifampisin. Toksisitas efavirenz yang bermakna menyebabkan pengurangan dosis juga dilaporkan pada penderita predominan etnik kulit hitam Afrika yang mendapatkan 800 mg efavirenz bersama dengan rifampisin.⁴⁹

Studi yang dilakukan di Jepang pada penderita yang terinfeksi HIV bertujuan mengetahui kemungkinan dilakukannya pengurangan dosis efavirenz berdasarkan

genotip. Sebanyak 456 penderita yang diperiksa genotipnya, ditemukan 16 penderita dengan carier 516-T/T. Pada ke-16 penderita ini ditemukan konsentrasi efavirenz > 6000 ng/mL saat diberikan dosis standar 600 mg/hari. Pada 12 penderita dilakukan pengurangan dosis menjadi 400 mg/hari pada 11 subyek dan dosis diturunkan lebih lanjut menjadi 200 mg/hari pada 7 subyek. Pada 4 penderita yang mendapat dosis inisial 400 mg, 2 diantaranya mempunyai kadar efavirenz yang tetap tinggi, sehingga membutuhkan pengurangan dosis menjadi 200 mg/hari. Dosis yang ditentukan diteruskan selama > 6 bulan, di mana kadar HIV tetap tidak terdeteksi. Hasil studi ini menunjukkan berhasilnya dilakukan pengurangan dosis efavirenz menjadi 400 mg/hari atau 200 mg/hari pada penderita HIV Jepang (tidak terinfeksi TB) dengan carier 516-T/T. Pengurangan dosis berdasarkan genotip menghasilkan perbaikan dalam efek samping susunan saraf pusat dan dapat mempertahankan kontrol vitologik. Penemuan ini menunjukkan peningkatan dosis hingga 800 mg/hari pada pemberian bersama rifampisin mungkin tidak diperlukan pada penderita dengan variant allele 516T/T homolog.⁵¹ Studi lain menunjukkan variabilitas antar subyek dalam farmakokinetik efavirenz disebabkan oleh adanya polimorfisme CYP2B6 yang lain yaitu C1459T.⁵²

2.9. APLIKASI KLINIK

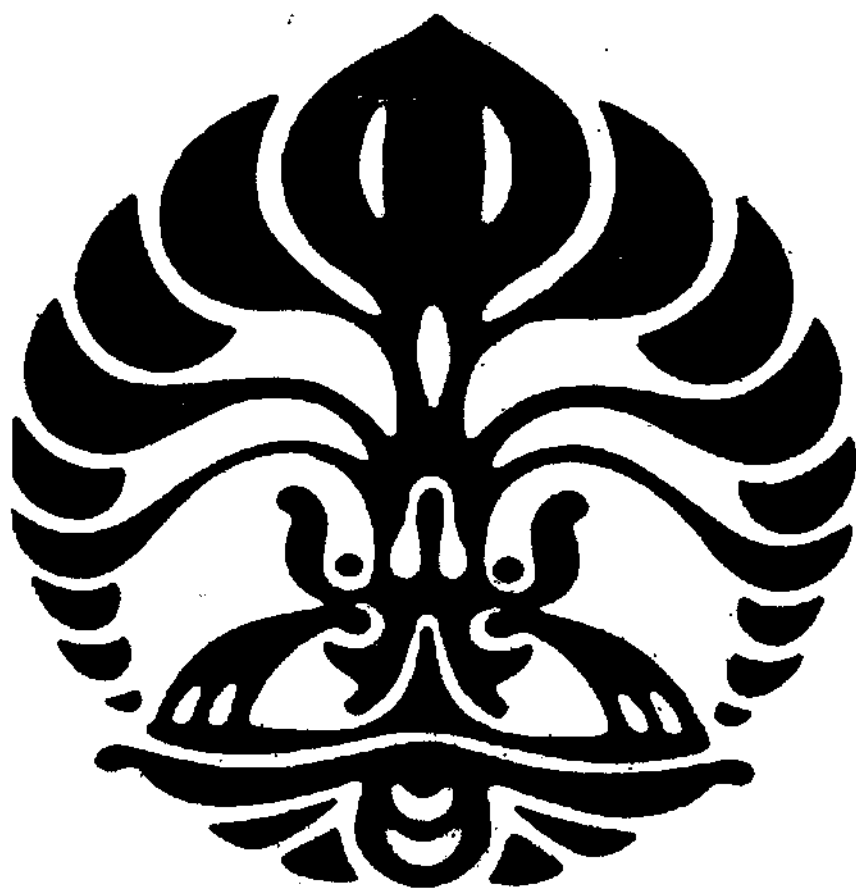
Beberapa *guideline* saat ini telah dibuat oleh klinisi mengenai penggunaan efavirenz bersama dengan rifampisin. Rekomendasi yang dikeluarkan oleh *the British HIV Association (BHIVA)*⁵³ pada tahun 2009, *Department of Health and Human Services (DHSS)*¹⁵ Amerika Serikat pada tahun 2008 dalam *guideline* terapi untuk infeksi HIV/TB merekomendasikan dosis standar efavirenz 600 mg/hari pada penderita dengan berat badan < 50 kg, dan mempertimbangkan peningkatan dosis 800 mg/hari pada penderita dengan berat badan > 50 kg⁵³ atau > 60 kg¹⁵. Pokdisus AIDS RS. Cipto Mangunkusumo mengacu pada *guideline* yang dikeluarkan oleh WHO⁷ yang menggunakan Efavirenz dosis 600 mg tanpa memandang adanya perbedaan berat badan penderita HIV/TB. *Food and Drug Administration (FDA)*⁵⁴ menyatakan data yang ada saat ini belum cukup untuk mendukung rekomendasi dosis efavirenz bila digunakan bersama dengan rifampisin.

Tabel 2.4. Ringkasan studi interaksi efavirenz dan rifampisin pada penderita koinfeksi HIV-TB

Disain studi [@]	Jumlah subyek	Berat badan (kg)	Dosis efavirenz (dosis tunggal)	Farmakokinetik & virologi	Efek samping
Lopez-Cortez <i>et al.</i> ⁴³ (Spain)	24	Median 54; rentang: 38-80	600 mg (n= 8) 800 mg (n= 16)	Penambahan RFP pada EFV 600 mg menyebabkan Cmin EFV ↓ 25%, AUC ↓ 22%. Pemaparan EFV 800 mg + RFP sama dengan EFV 600 mg saja, terlepas dari berat badan (<50 kg vs ≥ 50 kg)	600 mg: SSP (4), rash (1), ↑ fungsi hati (1). 800 mg: SSP (1), ↑ fungsi hati (2)
Manosuthi <i>et al.</i> ^{46,47} (Thailand)	84	Rerata 50,6 (kelompok 600 mg) Rerata 52,9 (kelompok 800 mg)	600 mg (n= 42) 800 mg (n= 42)	Median EFV C12 sama pada ke-2 kelompok, tetapi rentang atas C12 lebih tinggi pada kelompok 800 mg (21,3 mg/L) vs 600 mg (12,2 mg/L). <i>Quicome</i> virologi dan imunologi pada minggu ke-48 sama antara ke-2 kelompok.	600 mg: rash (1), sakit kepala (1) 800 mg: rash (1), hepatitis (1)
Brennan-Benson <i>et al.</i> ⁴⁸ (Inggris)	9	Rerata 66,4; rentang 52-107	800 mg	Median Cmin 11,7 mg/L (rentang 5,4-19,6 mg/L) pada 7 penderita (rentang terapeutik 1,2-4 mg/L)	Tujuh dari 9 penderita mengalami toksisitas efavirenz yang menyebabkan kebutuhannya pengurangan dosis atau penghentian terapi. SSP (6), hepatitis (1)
Friedland <i>et al.</i> ⁹ (Afrika Utara)	20	Rerata 59,4; rentang 45-97	600 mg	Rerata Cmin EFV sama dengan atau tanpa diberikan bersama dengan RFP, ↑↑ variabilitas intersubjek EFV pada pemberian bersama dengan RFP. Enam belas dari 17 penderita yang menyelesaikan terapi mempunyai HIV RNA <50 copies/mL pada bulan ke-21	SSP (7)

EFV = efavirenz, RFP = rifampisin, SSP = susunan saraf pusat

@. Senter tunggal, kecuali studi Manosuthi *et al.* (2 senter studi



BAB 3 METODOLOGI

3.1. DESAIN PENELITIAN

Studi ini menggunakan desain *before and after*.

3.2. TEMPAT DAN WAKTU

Penelitian dilakukan di Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran Trisakti selama bulan Agustus sampai dengan Desember 2009.

3.3. SELEKSI SUBYEK PENELITIAN

3.3.1. Pemilihan Subyek

Subyek penelitian merupakan sukarelawan sehat yang telah memenuhi kriteria seleksi. Keikutsertaan subyek dalam uji klinik didasarkan pada persetujuannya secara tertulis setelah mendapatkan penjelasan mengenai penelitian dan dipahami oleh subyek.

Kriteria Penerimaan:

- Pria, usia 18-55 tahun
- Indek massa tubuh (IMT) = 18-26
- Sehat berdasarkan anamnesis, pemeriksaan fisik, dan skrining darah dan urin.
- Bersedia menandatangani *informed consent*.

Kriteria Penolakan

- Riwayat atopi sebelumnya.
- Riwayat psikosis sebelumnya.
- Mengonsumsi obat-obatan (obat bebas atau obat tradisional) minimal 1 minggu sebelum studi dilaksanakan.
- Mempunyai riwayat ketergantungan pada alkohol atau penyalahgunaan obat.
- Ada kontraindikasi atau hipersensitif terhadap obat yang diuji.

3.3.2. Persetujuan Etik

Sebelum penelitian dilaksanakan, terlebih dahulu dimintakan persetujuan dari komisi Etik FKUI untuk protokol penelitian

3.3.3. Besar Sampel

- Untuk studi pendahuluan ini akan diambil 10 sukarelawan.
- Jumlah subyek yang dibutuhkan dihitung berdasarkan parameter bioavailabilitas yang utama, yakni AUC.
- Jumlah sampel yang dibutuhkan akan dihitung ulang dengan menggunakan rumus rerata dua kelompok berpasangan.

$$N = \left[\frac{(Z\alpha + Z\beta) \times SD_{diff}}{d} \right]^2$$

Keterangan:

N = besar sampel

d = penurunan minimal kadar AUC_{0-168} , yang bermakna secara klinik menurut *judgement* peneliti. Dalam penelitian ini ditetapkan 15% dari rerata AUC_{0-168} prainduksi dengan rifampisin.

SD_{diff} = simpangan baku dari penurunan rerata kadar AUC_{0-168} .

α = tingkat kemaknaan, ditetapkan 0.05 (dua arah) $\rightarrow Z\alpha = 1.96$.

β = 0.2 (1 arah) $\rightarrow Z\beta = 0.842$

3.4. BATASAN OPERASIONAL

- Tekanan darah normal < 140/90 mmHg.
- SGPT normal: serum transaminase < 2 kali nilai batas atas normal (40 mU/mL).
- Kreatinin normal: < 1,4 mg/dL
- Gula darah sewaktu normal: < 200 mg/dL

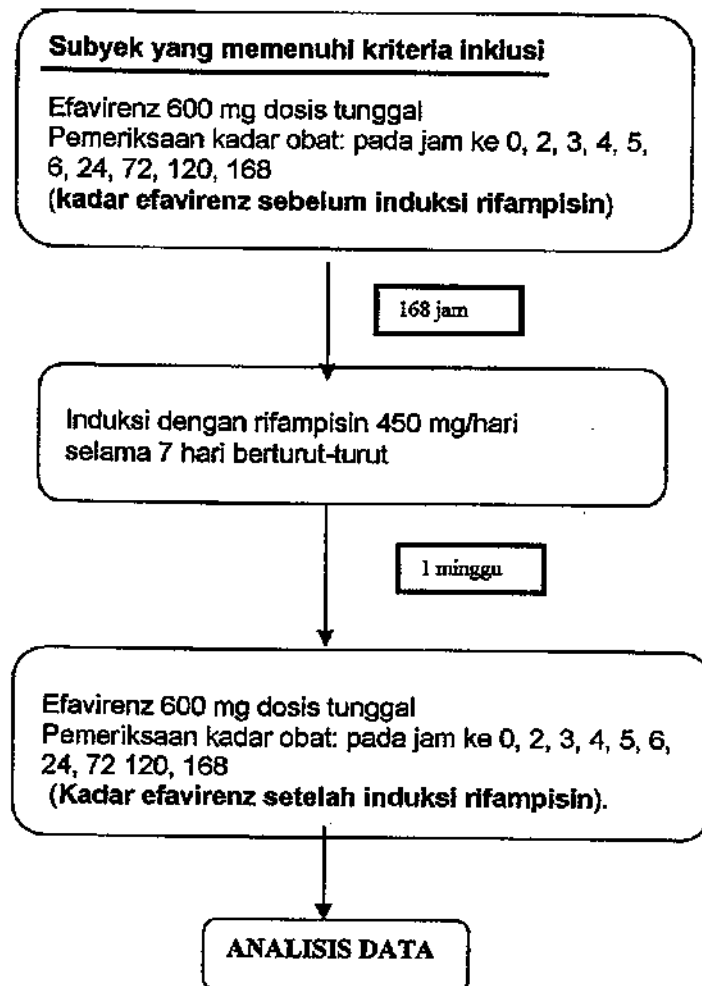
3.5. PARAMETER PENELITIAN

- $AUC_{0-168 \text{ jam}}$ (luas area di bawah kurva kadar obat dalam darah terhadap waktu, dari waktu 0 sampai waktu terakhir kadar obat diukur yaitu jam ke-168).
- C_{max} (kadar maksimal obat dalam plasma)
- T_{max} waktu sejak pemberian obat sampai dicapai C_{max}

3.6. CARA KERJA

1. Sebelum penelitian dilakukan dimintakan *ethical approval* dari Komisi Etik Penelitian untuk protokol penelitian ini.
2. Subyek yang bersedia berpartisipasi, diminta untuk menandatangani *informed consent*, dan dilakukan anamnesis, pemeriksaan fisik, dan diambil darahnya sebanyak $\pm 3 \text{ mL}$ (darah rutin, SGPT, dan kreatinin, gula darah sewaktu). Subyek juga diminta untuk menampung urin segar sebanyak $\pm 25 \text{ mL}$ (urin rutin).
3. Subyek yang memenuhi kriteria pemilihan subyek penelitian diinstruksikan puasa malam hari hingga pagi hari berikutnya ($\pm 10 \text{ jam}$).
4. Subyek diminta datang besok paginya (jam 06.30) untuk:
 - ambil sampel darah awal (jam ke-0)
 - minum 1 tablet efavirenz 600 mg dengan segelas air putih.
 - Selanjutnya darah diambil jam ke 2, 3, 4, 5, 6, 24, 72, 120, 168.(Banyaknya darah yang diambil untuk pemeriksaan kadar obat $\pm 5 \text{ mL}$)
5. Setelah pengambilan darah jam ke 168 (hari ke-7), subyek diberi 1 tablet rifampisin 450 mg/hari yang diminum 1 jam sebelum makan. Subyek diminta untuk minum obat pada pukul 7 pagi tiap hari selama 7 hari berturut-turut.
6. Setelah hari ke-7 pemberian rifampisin, subyek diminta untuk kembali keesokan harinya dalam keadaan puasa $\pm 10 \text{ jam}$ pada jam 06.30 guna dilakukan prosedur yang sama seperti pada awal penelitian.

3.7. ALUR STUDI



3.8. PEMERIKSAAN KLINIK DAN LABORATORIUM

Selama penelitian berlangsung pada tiap subyek dilakukan pemeriksaan klinik dan laboratorium darah dan urin (skrining). Pemeriksaan klinik dilakukan sebelum dilakukannya pengambilan sampel darah untuk pemeriksaan kadar obat. Pemeriksaan klinik dan pengambilan darah dilakukan di Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran Trisakti. Pemeriksaan kadar efavirenz dilakukan di Laboratorium Pharma Metric.

3.8.1. Pemeriksaan Klinik

Dilakukan anamnesis dan pemeriksaan fisik guna mengumpulkan data demografis dan data klinis.

Data demografis

- i. Identitas Pasien
- ii. Usia (tahun, bulan)
- iii. Tanggal lahir (hari/tanggal/tahun)
- iv. Berat badan (kg)
- v. Tinggi Badan (sentimeter)
- vi. Indeks massa tubuh ($\text{berat badan} / \text{tinggi badan}^2$).

Data klinis

- i. Tekanan darah (mmHg)
- ii. Frekuensi napas (kali/menit)
- iii. Frekuensi jantung (kali/menit)
- iv. Suhu badan ($^{\circ}\text{C}$)
- v. Kepala dan leher
- vi. Thorax
- vii. Abdomen
- viii. Ekstremitas

3.8.2. Pemeriksaan Laboratorium

Untuk keperluan skrining:

- Darah diambil melalui vena pada daerah lipat lengan (*fossa cubiti*) menggunakan semprit berukuran 3 mL. Darah kemudian di masukkan ke dalam tabung berukuran 3 mL berisikan EDTA (*ethylenediamine-tetraacetic acid*) untuk dilakukan pemeriksaan darah rutin, SGPT, dan kreatinin, dan gula darah sewaktu.
- Urin segar $\pm$ 25 mL ditampung ke dalam pot untuk dilakukan pemeriksaan urin rutin.

Untuk pemeriksaan kadar obat:

- Pengambilan darah subyek penelitian dilakukan sebanyak 10 kali, pada jam 0 (sesaat sebelum minum obat), 2, 3, 4, 5, 6, 24, 72, 120, dan 168 jam.
- Darah di ambil melalui vena pada daerah lipat lengan menggunakan semprit 5 mL dan darah kemudian dimasukkan ke dalam tabung berisikan EDTA.
- Darah disentrifus dengan kecepatan 3000 (*revolution per minute*) RPM, selama 10 menit.
- Plasma yang terbentuk dipisahkan dengan menggunakan pipet tip kemudian dimasukkan ke dalam *microtube* untuk kemudian disimpan pada suhu -20°C sampai dilakukan analisis.

Kadar efavirenz

Prinsip pemeriksaan.

Metode pemeriksaan yang digunakan untuk menentukan kadar efavirenz dalam plasma merupakan modifikasi metode Mogatle *et al.*⁵⁶ dan Ramachandran *et al.*⁵⁷ yang dikembangkan oleh PT. Pharma Metric Lab.

Obat dipisahkan dari komponen endogen menggunakan *isocratic reversed-phase high-performance liquid chromatography* (HPLC) dengan λ ultraviolet 240 nm.

Alat

HPLC

- *Separation module* : Waters Alliance 2695
- *Detector* : UV-Vis 2487
- *Column* : Waters Sunfire C18 (5 μ m) 4.6 mm x 150 mm
- *Guard column* : Waters Sunfire C18 (5 μ m) 3.9 mm x 20 mm
- *Software* : Empower

Peralatan lainnya

- *Analytical balance* : Denver TB-215D
- *Multipipette* : Soccorex
- *pHmeter* : Orion 410A
- *Centrifuge* : Thermo IEC multiventilated centrifuge
- *Vortex mixer* : Maxi Mix
- *Evaporator* : Zymark TurboVap LV 50 dwell

Bahan dan reagen (supplier)

- Efavirenz (*working standard*)

Nama kimia : (S)-6-chloro-4-(cyclopropylethynyl)-1,4-dihydro-4-(trifluoromethyl)-2H-3,1-benzoxazin-2-one

Lot No. : Efv/0701008

Supplier : Matrix Lab Limited

- Spironolakton (*internal standard*)

Nama kimia : (7 α ,17 α)-7(Acetylthio)-17-hydroxy-3-oxopregn-4-ene-21-carboxylic acid γ -lactone

Lot No. : S0917

Supplier : Tianjin

- Asetonitril : Merck, HPLC grade
- Metanol : Merck, HPLC grade
- Dietil Eter : Merck, HPLC grade
- *Purified water* : Pharma Metric Lab
- NaOH : Merck, HPLC grade
- *Blank, drug-free plasma.* : Palang Merah Indonesia

Sistem Kromatografi

- Pemisahan secara kromatografi dilakukan pada kolom analitik Sunfire C18, dengan fase gerak terdiri dari metanol: asetonitril: akuades = 60:15:25
- Suhu kolom : 35°C
- Adsorbansinya di ukur pada λ : 240 nm.
- Laju alir : 1 mL/menit.
- Volume injeksi : 20 μ L
- Waktu retensi : 5.96 menit

Prosedur penetapan kadar efavirenz

- Pembuatan larutan efavirenz
 - Larutan efavirenz baku primer dalam metanol (kadar 100 μ g/mL).
 - Larutan efavirenz baku kerja dalam metanol
 - Larutan efavirenz baku kerja dalam plasma untuk kurva kalibrasi (kadar 0 (*blank* dan *zero*) ; 0.1; 0.2; 0.5; 1; 2; 5 μ g/mL).
 - Larutan efavirenz dalam plasma untuk *quality control* (QC) sampel (kadar 0.3; 1.5; 4 μ g/mL)
- Pembuatan larutan *internal standard*:
spironolakton dalam metanol (kadar 100 μ L)
- Preparasi sampel
 - Dengan menggunakan pipet Soccorex, dipipetkan sebanyak 0.5 mL plasma yang mengandung efavirenz
 - Ditambahkan 50 μ L larutan spironolakton dalam metanol (30 μ g/mL).
 - Ditambahkan 100 μ L NaOH 0,1 M
 - Sampel dihomogenisasi dengan menggunakan vorteks selama 30 detik
 - Ditambahkan 3 mL dietil eter
 - Vorteks selama 1 menit
 - Kemudian tabung disentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 3000 RPM
 - Lapisan dietil eter dipipet ke dalam tabung lain
 - Kemudian dilakukan evaporasi dengan gas N₂ dalam *waterbath* pada suhu $\pm$ 45°C
 - Residu yang tersisa ditambahkan 200 μ L metanol 70%

- Vorteks selama 30 detik
- Sebanyak 20 μL supernatan jernih dipipet, kemudian dipindahkan ke dalam vial auto-sampler untuk kemudian diinjeksikan ke dalam HPLC
- Kurva kalibrasi
 - Efavirenz dilarutkan dalam metanol untuk membuat larutan efavirenz baku primer dalam metanol (kadar 100 $\mu\text{g/mL}$).
 - Sejumlah larutan efavirenz baku primer dilarutkan dalam plasma pada konsentrasi tertentu untuk membuat larutan efavirenz baku kerja dalam plasma untuk kurva kalibrasi (kadar 0 (*blank* dan *zero*); 0.1; 0.2; 0.5; 1; 2; 5 $\mu\text{g/mL}$).
 - Kurva kalibrasi dipersiapkan dengan menggunakan persamaan regresi linier ($y = a + bx$), di mana x adalah konsentrasi efavirenz dan y adalah rasio puncak area efavirenz dan spironolakton (standar internal)
 - Linearitas dari kurva kalibrasi dievaluasi dengan menghitung *linear correlation coefficient* dari kurva.
- *Recovery*, *intraassay* dan *interassay* presisi dan akurasi
 - *Recovery* dari efavirenz diperkirakan dengan membandingkan tinggi analit dari komponen yang diekstraksi dari plasma terhadap tinggi analit dari komponen yang diekstraksi dari pelarut dengan konsentrasi yang sama.
 - *Intraassay* dan *interassay* presisi dan akurasi ditentukan dengan menganalisis spiked plasma pada tiga konsentrasi 0.3 $\mu\text{g/mL}$, 1.5 $\mu\text{g/mL}$, dan 4 $\mu\text{g/mL}$.
- Pengukuran kadar efavirenz
 - Hasilnya berupa kromatogram efavirenz dan spironolakton yang terekam sebagai puncak-puncak yang terhitung luasnya.
 - Buat kurva kalibrasi yang berupa hubungan antara kadar efavirenz terhadap perbandingan (ratio) luas kromatogram (AUC) efavirenz terhadap Spironolakton
 - Kadar efavirenz dalam sampel dihitung dengan menggunakan kurva kalibrasi yang diperoleh.
 - Dilakukan *quality control* per *batch* selama proses analisis.

3.9. DATA

3.9.1. Pencatatan Data

Data subyek baik demografik, klinis, laboratorium, serta data lain yang relevan dicatat dalam *case record form* untuk masing-masing subyek.

3.9.2. Pengolahan dan Analisis Data

Untuk menentukan apakah ada perbedaan rerata AUC, C_{max}, T_{max}, dan T_{1/2} kadar efavirenz dalam plasma digunakan uji hipotesis komparatif variabel numerik dua kelompok berpasangan. Uji yang digunakan adalah uji t berpasangan. Jika distribusi data tidak normal maka dilakukan transformasi data ke nilai logaritmiknya. Bila distribusi data masih juga tidak normal, digunakan uji *Wilcoxon's match paired test*. Perbedaan dianggap bermakna bila $p < 0.05$. Uji hipotesis dilakukan dengan menggunakan program SPSS (*Statistical Package for the Sosial Sciences*) edisi 17.



BAB 4

HASIL PENELITIAN

4.1. DEMOGRAFI

Selama periode Agustus – Oktober 2009 dapat direkut 10 subyek sukarelawan sehat yang lolos skrining fisik dan laboratorium. Subyek diikuti sertakan dalam uji klinik setelah memberikan *informed consent*. Semua subyek ikut berpartisipasi dalam studi sampai selesai namun, pemeriksaan kadar efavirenz dalam plasma dilakukan terhadap sampel plasma yang berasal dari delapan subyek saja karena keterbatasan dana studi. Delapan subyek yang ikut dalam analisis akhir semuanya pria, dengan rentang umur 23 - 49 tahun, tinggi badan 1.60 – 1.70 m, berat badan 55 – 73 kg, dan indeks massa tubuh berkisar 18.6 – 25.6 kg/m². Data demografik para peserta studi dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1. Data demografi subyek studi

No. subyek	Jenis kelamin	Umur (tahun)	Tinggi (m)	Berat (kg)	IMT* (kg/m ²)
1	pria	33	1.72	55	18.6
2	pria	46	1.65	60	22.0
3	pria	29	1.69	73	25.6
4	pria	40	1.72	61	20.6
5	pria	49	1.60	65	25.4
6	pria	23	1.67	57	20.4
7	pria	38	1.67	65	23.3
8	pria	36	1.70	59	20.4
Rerata ± SD		37 ± 8.55	1.68 ± 0.04	61.9 ± 5.3	22 ± 2.4

Keterangan:

Data yang dicetak tebal adalah nilai tertinggi dan terendah.

* Indeks massa tubuh

4.2. DATA SKRINING

Pada Tabel 4.2. dicantumkan data laboratorium ketika dilakukan skrining dari 8 subyek studi yang ikut di dalam studi.

Tabel 4.2. Data skrining laboratorium

No. subyek	Kadar gula darah sewaktu (mg/dL)	Kadar SGPT (U/L)	Kadar serum kreatinin (mg/dL)
1	98	24	0.9
2	113	30	0.9
3	96	27	1
4	106	25	1
5	110	20	0.9
6	92	8	1.2
7	97	26	0.9
8	114	27	0.8
Rerata ± SD	103.25 ± 8.53	23.38 ± 6.84	0.95 ± 0.12

4.3. PARAMETER PENELITIAN

Pada Tabel 4.3.1 dicantumkan data AUC_{0-72} kadar efavirenz dalam plasma prainduksi dan pasca induksi dengan rifampisin. Pada tabel ini dapat dilihat besarnya penurunan (rerata $\pm$ SD) AUC_{0-72} kadar efavirenz dalam plasma pasca induksi dengan rifampisin.

AUC_{0-72} kadar efavirenz dalam plasma prainduksi dengan rifampisin rata-rata 46.80 ± 9.27 dengan kadar terkecil sebesar 33.48 mcg/mL.h, dan kadar terbesar sebesar 62.35 mcg/mL.h. Dengan uji Shapiro-Wilk diperoleh nilai $p = 0.922$, sehingga disimpulkan bahwa sebaran data adalah normal.

AUC_{0-72} kadar efavirenz dalam plasma pasca induksi dengan rifampisin rata-rata 37.28 ± 15.96 dengan kadar terkecil sebesar 19.10 mcg/mL.h, dan kadar terbesar sebesar 66.53 mcg/mL.h. Dengan uji Shapiro-Wilk diperoleh nilai $p = 0.591$, sehingga disimpulkan bahwa sebaran data adalah normal. Penurunan AUC_{0-72} kadar efavirenz dalam plasma pasca induksi dengan rifampisin rata-rata 9.53 ± 11.26 mcg/mL.h.

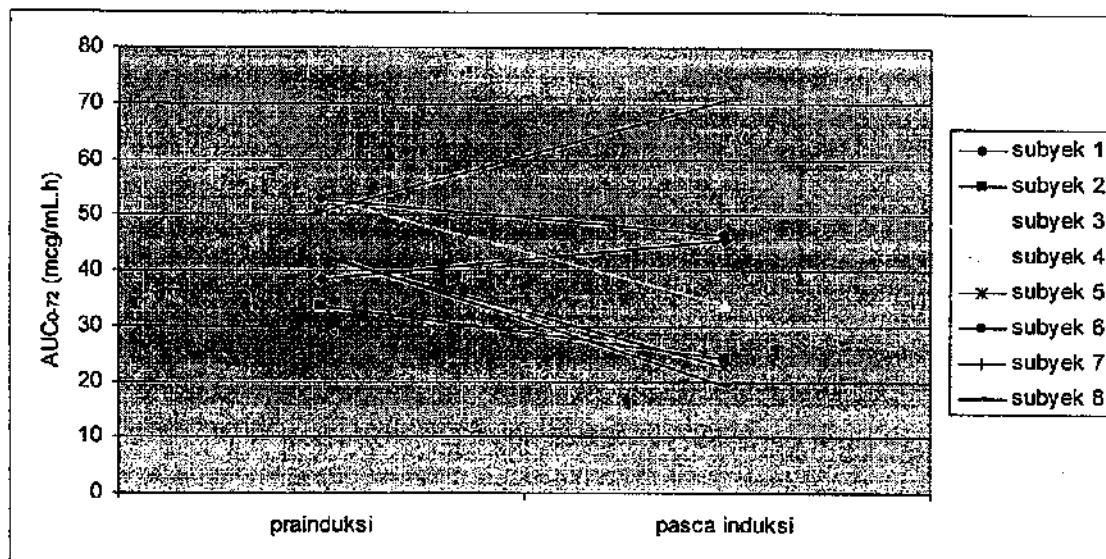
Tabel 4.3.1 AUC_{0-72} kadar efavirenz dalam plasma prainduksi dan pasca induksi rifampisin

No. subyek	AUC_{0-72} kadar efavirenz dalam plasma (mcg/mL.h)		Penurunan AUC_{0-72} kadar efavirenz dalam plasma pasca induksi rifampisin (mcg/mL.h)
	Prainduksi rifampisin	Pasca induksi rifampisin	
1	38.52	45.38	-6.83
2	33.48	24.02	9.46
3	52.76	33.56	19.21
4	49.58	38.57	11.01
5	42.04	22.63	19.41
6	52.61	48.43	4.18
7	62.35	66.53	-4.18
8	43.09	19.10	23.99
Rerata $\pm$ SD	46.80 $\pm$ 9.27	37.28 $\pm$ 15.96	9.53 $\pm$ 11.26

Keterangan

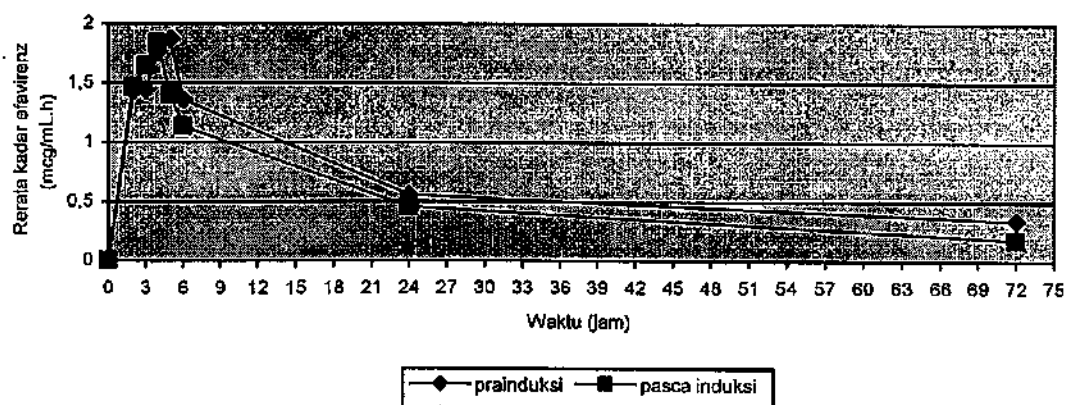
AUC_{0-72} = luas area di bawah kurva kadar obat dalam plasma terhadap waktu, dari waktu 0 sampai waktu terakhir kadar obat diukur yaitu jam ke-72.

Pada Gambar 4.3.1. dapat dilihat AUC_{0-72} kadar efavirenz dalam plasma tiap subyek prainduksi dan pasca induksi dengan rifampisin.



Gambar 4.3.1. AUC_{0-72} kadar efavirenz dalam plasma tiap subyek prainduksi dan pasca induksi dengan rifampisin

Pada Gambar 4.3.2. dapat dilihat rerata kadar efavirenz dalam plasma prainduksi dan pasca induksi dengan rifampisin (450 mg) peroral pada jam ke-0, 2, 3, 4, 6, 24, dan 72.



Gambar 4.3.2. Rerata kadar efavirenz dalam plasma prainduksi dan pasca induksi dengan rifampisin.

Pada Tabel 4.3.2. dicantumkan data Cmax kadar efavirenz dalam plasma prainduksi dan pasca induksi dengan rifampisin. Pada tabel ini dapat dilihat besarnya penurunan (rerata $\pm$ SD) Cmax kadar efavirenz dalam plasma pasca induksi dengan rifampisin.

Cmax kadar efavirenz dalam plasma prainduksi dengan rifampisin rata-rata 2.19 ± 0.68 mcg/mL.h, dengan kadar terkecil sebesar 1.14 mcg/mL.h dan kadar terbesar sebesar 3.03 mcg/mL.h. Dengan uji Shapiro-Wilk diperoleh nilai $p = 0.707$, sehingga disimpulkan bahwa sebaran data adalah normal.

Cmax kadar efavirenz dalam plasma pasca induksi dengan rifampisin rata-rata 2.11 ± 0.88 mcg/mL.h, dengan kadar terkecil sebesar 0.98 mcg/mL.h dan kadar terbesar sebesar 3.70 mcg/mL.h. Dengan uji Shapiro-Wilk diperoleh nilai $p = 0.649$, sehingga disimpulkan bahwa sebaran data adalah normal. Penurunan Cmax kadar efavirenz dalam plasma pasca induksi rifampisin rata-rata 0.08 ± 0.85 mcg/mL.h.

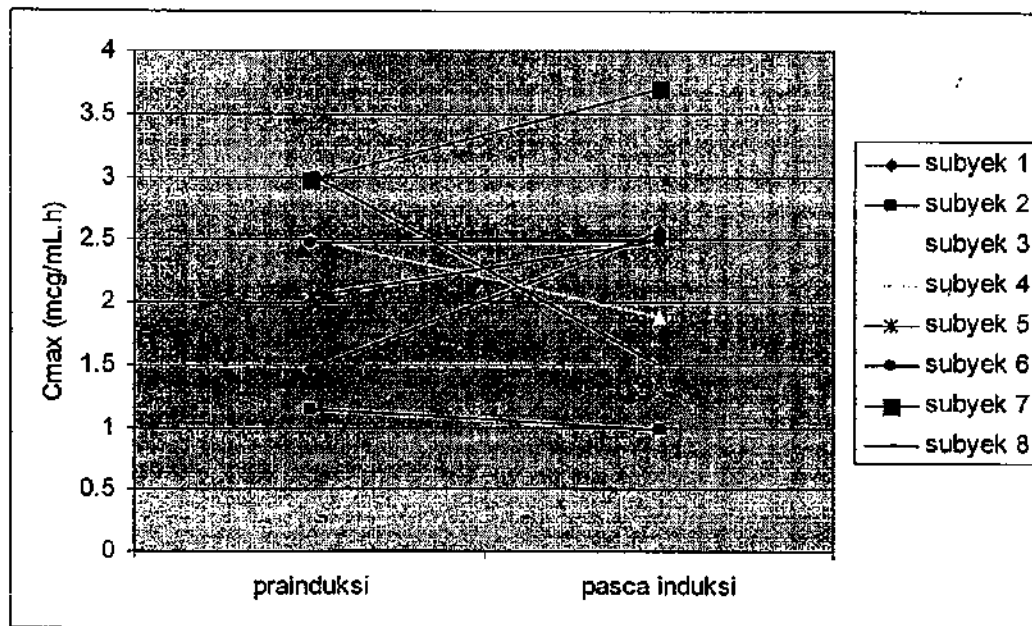
Tabel 4.3.2. Cmax kadar efavirenz dalam plasma prainduksi dan pasca induksi rifampisin

No. subyek	Cmax kadar efavirenz dalam plasma (mcg/mL.h)		Penurunan Cmax kadar efavirenz dalam plasma pasca induksi rifampisin (mcg/mL.h)
	Sebelum induksi rifampisin	Setelah induksi rifampisin	
1	1.47	2.57	-1.10
2	1.14	0.98	0.16
3	2.50	1.88	0.62
4	1.89	1.28	0.61
5	2.04	2.49	-0.45
6	2.47	2.49	-0.02
7	2.97	3.70	-0.73
8	3.03	1.50	1.53
Rerata $\pm$ SD	2.19 ± 0.68	2.11 ± 0.88	0.08 ± 0.85

Keterangan

Cmax = kadar maksimal obat dalam plasma.

Pada Gambar 4.3.3. dapat dilihat Cmax kadar efavirenz dalam plasma tiap subyek prainduksi dan pasca induksi dengan rifampisin.



Gambar 4.3.3. Cmax kadar efavirenz dalam plasma tiap subyek prainduksi dan pasca induksi dengan rifampisin.

Pada Tabel 4.3.3. dicantumkan data Tmax kadar efavirenz dalam plasma prainduksi dan pasca induksi dengan rifampisin. Pada tabel ini dapat dilihat besarnya penurunan waktu (rerata $\pm$ SD) Tmax kadar efavirenz dalam plasma pasca induksi dengan rifampisin.

Tmax kadar efavirenz dalam plasma prainduksi dengan rifampisin rata-rata 4.50 ± 0.93 jam, dengan Tmax terkecil sebesar 3 jam dan Tmax terbesar sebesar 6 jam. Dengan uji Shapiro-Wilk diperoleh nilai $p = 0.522$, sehingga disimpulkan bahwa sebaran data adalah normal.

Tmax kadar efavirenz dalam plasma pasca induksi dengan rifampisin rata-rata 3.38 ± 1.30 jam, dengan waktu Tmax terkecil sebesar 2 jam dan waktu Tmax terbesar sebesar 6 jam. Dengan uji Shapiro-Wilk diperoleh nilai $p = 0.178$, sehingga disimpulkan bahwa sebaran data adalah normal. Penurunan Tmax kadar efavirenz dalam plasma pasca induksi rifampisin rata-rata 1.13 ± 0.99 jam.

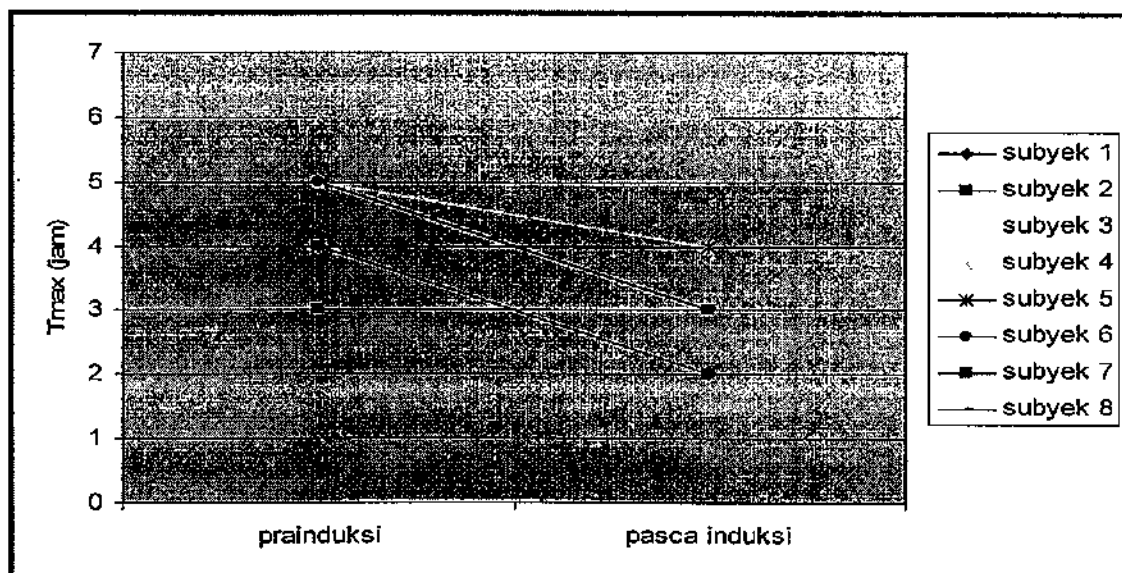
Tabel 4.3.3 Tmax kadar efavirenz dalam plasma prainduksi dan pasca induksi rifampisin

No. subyek	Tmax kadar efavirenz dalam plasma (jam)		Penurunan Tmax kadar efavirenz dalam plasma pasca induksi rifampisin (jam)
	Prainduksi rifampisin	Pasca induksi rifampisin	
1	4	2	2
2	3	3	0
3	5	4	1
4	6	6	0
5	4	4	0
6	5	3	2
7	4	2	2
8	5	3	2
Rerata ± SD	4.50 ± 0.93	3.38 ± 1.30	1.13 ± 0.99

Keterangan

Tmax = waktu sejak pemberian obat sampai dicapai Cmax.

Pada Gambar 4.3.4 dapat dilihat Tmax kadar efavirenz dalam plasma tiap subyek prainduksi dan pasca induksi dengan rifampisin.



Gambar 4.3.4. Tmax kadar efavirenz dalam plasma tiap subyek prainduksi dan pasca induksi dengan rifampisin.

Pada Tabel 4.3.4. dicantumkan data AUC_{0-inf} kadar efavirenz dalam plasma prainduksi dan pasca induksi dengan rifampisin. Pada tabel ini dapat dilihat besarnya penurunan kadar (rerata $\pm$ SD) AUC_{0-inf} kadar efavirenz dalam plasma pasca induksi dengan rifampisin.

AUC_{0-inf} kadar efavirenz dalam plasma prainduksi dengan rifampisin rata-rata 96.38 ± 38.10 dengan kadar terkecil sebesar 63.48 mcg/mL.h, dan kadar terbesar sebesar 161.35 mcg/mL.h. Dengan uji Shapiro-Wilk diperoleh nilai $p = 0.023$, sehingga disimpulkan bahwa sebaran data adalah tidak normal.

AUC_{0-inf} kadar efavirenz dalam plasma pasca induksi dengan rifampisin rata-rata 59.14 ± 22.32 dengan kadar terkecil sebesar 30.21 mcg/mL.h, dan kadar terbesar sebesar 92.63 mcg/mL.h. Dengan uji Shapiro-Wilk diperoleh nilai $p = 0.487$, sehingga disimpulkan bahwa sebaran data adalah tidak normal. Penurunan AUC_{0-inf} kadar efavirenz dalam plasma pasca induksi rifampisin rata-rata 37.24 ± 42.43 mcg/mL.h.

Sebaran data yang tidak normal diusahakan menjadi normal dengan melakukan transformasi ke nilai logaritmik. Didapatkan nilai $p = 0.099$ untuk AUC_{0-inf} kadar efavirenz dalam plasma prainduksi, dan $p = 0.792$ untuk AUC_{0-inf} kadar efavirenz dalam plasma pasca induksi yang menunjukkan distribusi kedua kelompok data adalah normal.

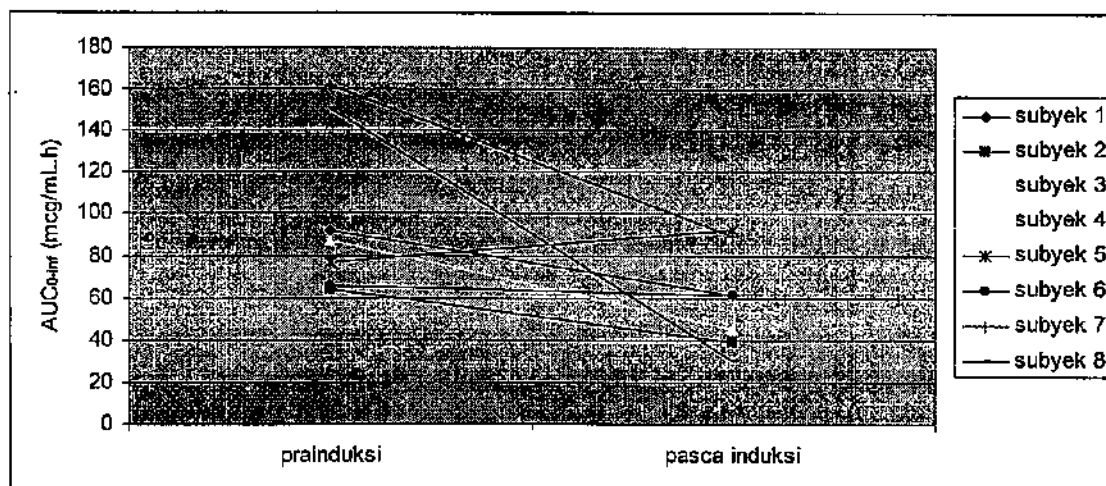
Tabel 4.3.4. AUC_{0-inf} kadar efavirenz dalam plasma prainduksi dan pasca induksi rifampisin

No. subyek	AUC_{0-inf} kadar efavirenz dalam plasma (mcg/mL.h)		Penurunan AUC_{0-inf} kadar efavirenz dalam plasma pasca induksi rifampisin (mcg/mL.h)
	Prainduksi rifampisin	Pasca induksi rifampisin	
1	91.85	61.21	30.64
2	63.48	39.02	24.46
3	86.76	45.10	41.66
4	75.03	54.40	20.63
5	76.48	92.63	-16.15
6	65.47	61.49	3.98
7	161.35	89.03	72.32
8	150.59	30.21	120.38
Rerata $\pm$ SD	96.38 $\pm$ 38.10	59.14 $\pm$ 22.32	37.24 $\pm$ 42.43

Keterangan:

AUC_{0-inf} = luas area di bawah kurva kadar obat dalam plasma terhadap waktu, dari waktu 0 hingga waktu tak terhingga.

Pada Gambar 4.3.5. dapat dilihat AUC_{0-inf} kadar efavirenz dalam plasma tiap subyek prainduksi dan pasca induksi dengan rifampisin.



Gambar 4.3.5. AUC_{0-inf} kadar efavirenz dalam plasma tiap subyek prainduksi dan pasca induksi dengan rifampisin.

Pada Tabel 4.3.5. dicantumkan data $T_{1/2}$ kadar efavirenz dalam plasma prainduksi dan pasca induksi dengan rifampisin. Pada tabel ini dapat dilihat besarnya penurunan (rerata $\pm$ SD) $T_{1/2}$ kadar efavirenz dalam plasma pasca induksi dengan rifampisin.

$T_{1/2}$ kadar efavirenz dalam plasma prainduksi dengan rifampisin rata-rata 96.60 ± 42.38 dengan kadar terkecil sebesar 49.50 jam, dan kadar terbesar sebesar 173.25 jam. Dengan uji Shapiro-Wilk diperoleh nilai $p = 0.412$, sehingga disimpulkan bahwa sebaran data normal.

$T_{1/2}$ kadar efavirenz dalam plasma pasca induksi dengan rifampisin rata-rata 81.67 ± 60.98 dengan kadar terkecil sebesar 49.50 jam, dan kadar terbesar sebesar 231.00 jam. Dengan uji Shapiro-Wilk diperoleh nilai $p = 0.000$, sehingga disimpulkan bahwa sebaran data tidak normal. Penurunan $T_{1/2}$ kadar efavirenz dalam plasma pasca induksi rifampisin rata-rata 14.93 ± 77.14 jam

Sebaran data yang tidak normal diusahakan menjadi normal dengan melakukan transformasi ke nilai logaritmik. Didapatkan nilai $p = 0.896$ untuk $T_{1/2}$ prainduksi, dan $p = 0.001$ untuk $T_{1/2}$ pasca induksi. Sebaran data yang masih tidak normal menyebabkan digunakannya *Wilcoxon Signed Rank Test* untuk uji hipotesisnya.

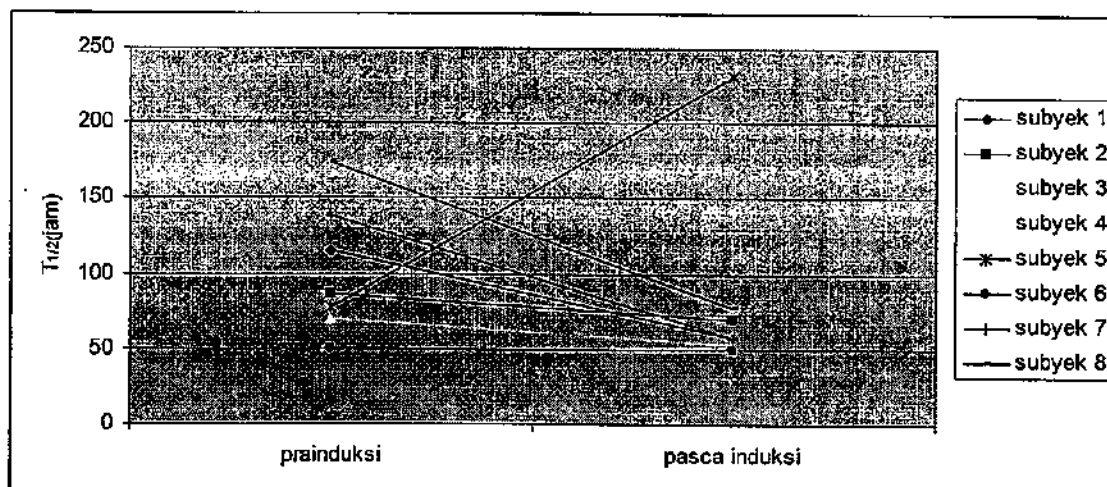
Tabel 4.3.5. $T_{1/2}$ kadar efavirenz dalam plasma prainduksi dan pasca induksi rifampisin

No. subyek	$T_{1/2}$ kadar efavirenz dalam plasma (jam)		Penurunan $T_{1/2}$ kadar efavirenz dalam plasma pasca induksi rifampisin (jam)
	Prainduksi rifampisin	Pasca induksi rifampisin	
1	115.50	57.75	57.75
2	86.62	69.30	17.32
3	69.30	53.31	15.99
4	63.00	57.75	5.25
5	77.00	231.00	-154.00
6	49.50	49.50	0
7	138.60	57.75	80.85
8	173.25	77.00	96.25
Rerata $\pm$ SD	96.60 $\pm$ 42.38	81.67 $\pm$ 60.98	14.93 $\pm$ 77.14

Keterangan:

$T_{1/2}$ = waktu yang dibutuhkan konsentrasi obat dalam plasma turun menjadi setengahnya pada fase eliminasi

Pada Gambar 4.3.6. dapat dilihat $T_{1/2}$ tiap subyek prainduksi dan pasca induksi dengan rifampisin.



Gambar 4.3.6. $T_{1/2}$ kadar efavirenz dalam plasma tiap subyek prainduksi dan pasca induksi dengan rifampisin

4.4. UJI HIPOTESIS

Uji hipotesis yang dipergunakan untuk parameter penelitian adalah uji t berpasangan, dan *Wilcoxon's match-paired tes* hasilnya adalah sebagai berikut:

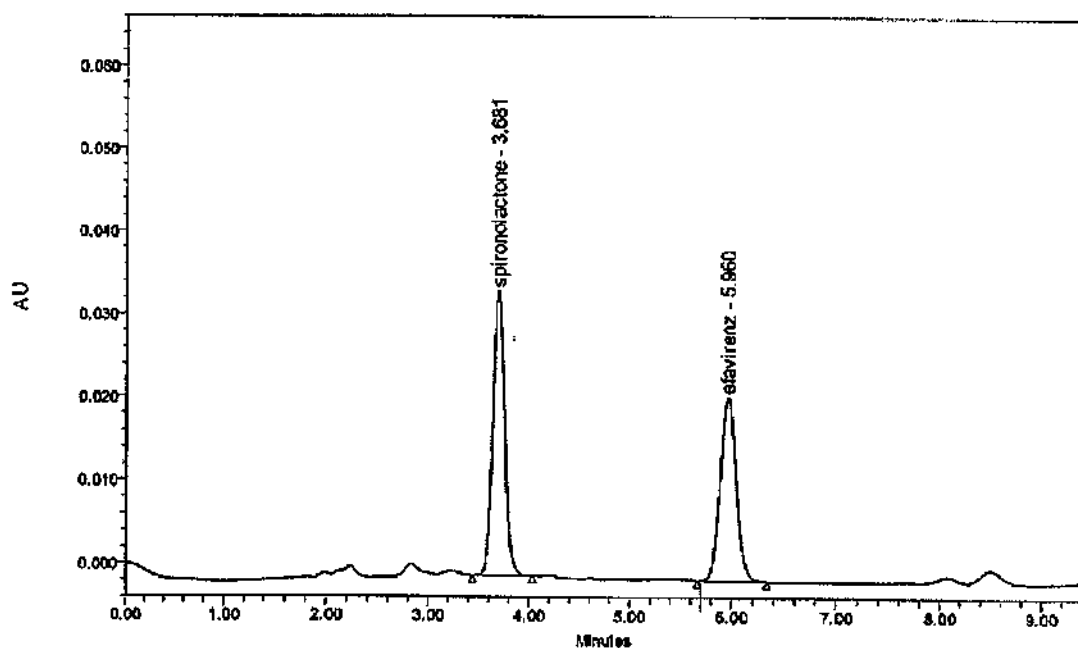
- AUC_{0-72}
 - Nilai p (2-tailed) = 0.048 ($p < 0.05$).
 - Nilai IK_{95} (nilai kepercayaan 95%) adalah 0.112 – 18.940
 - Artinya: terdapat perbedaan rerata penurunan kadar AUC yang bermakna sebelum dan pasca induksi dengan rifampisin.
- C_{max} .
 - Nilai p (2-tailed) = 0.803 ($p > 0.05$).
 - Nilai IK_{95} adalah - 0.630 – 0.785
 - Artinya: tidak terdapat perbedaan rerata penurunan kadar C_{max} yang bermakna sebelum dan pasca induksi dengan rifampisin.
- T_{max} .
 - Nilai p (2-tailed) = 0.015 ($p < 0.05$)
 - Nilai IK_{95} adalah 0.296 – 1.953
 - Artinya: terdapat perbedaan rerata penurunan T_{max} yang bermakna prainduksi dan pasca induksi dengan rifampisin.
- AUC_{0-inf}
 - Nilai p (2-tailed) = 0.034 ($p < 0.05$)
 - Nilai IK_{95} adalah 0.021 – 0.406
 - Artinya: terdapat perbedaan rerata penurunan $AUC_{infinity}$ yang bermakna prainduksi dan pasca induksi dengan rifampisin.
- $T_{1/2}$.
 - Nilai p (2-tailed) = 0.237 ($p > 0.05$)
 - Artinya: tidak terdapat perbedaan rerata penurunan $T_{1/2}$ yang bermakna prainduksi dan pasca induksi dengan rifampisin.

4.5. KELUHAN SUBYEK

Pada studi ini semua peserta studi juga diminta mencatat keluhan pada lembar catatan harian. Keluhan subyek umumnya mulai dirasakan satu – dua jam pasca minum efavirenz. Semua subyek melaporkan keluhanannya. Keluhan yang dilaporkan berupa pusing (3 orang), mengantuk (2 orang), melayang (3 orang). Untuk mengatasi keluhan yang timbul subyek hanya diistirahatkan. Sampai studi selesai semua subyek sembuh sempurna.

4.6. UJI VALIDASI

Kromatogram plasma yang diperoleh dari sukarelawan sehat dapat dilihat pada Gambar. 4.5. Waktu retensi untuk efavirenz adalah 5.96 menit.



Gambar 4.6. Kromatogram plasma sukarelawan (AU = *adsorbance unit*)

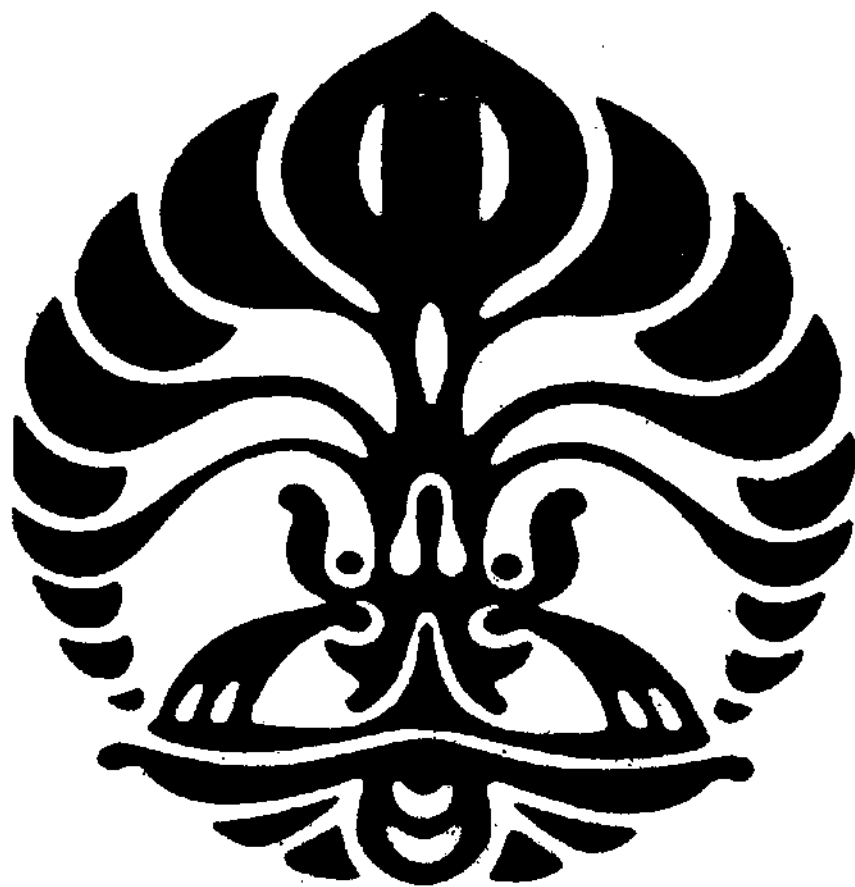
Recovery efavirenz dari plasma dari tiga konsentrasi 0.3 mcg/mL, 1.5 mcg/mL, dan 4 mcg/mL masing-masing sebesar 101.05%, 96.95%, 102.84%. Grafik kurva kalibrasi linier sepanjang rentang konsentrasi yang diperiksa menunjukkan rentang koefisien korelasi pada kurva kalibrasi 0.9995 – 0.9999.

Data presisi (*coefficient of variation*) dan akurasi (*deviation*) pengukuran ini dapat dilihat pada Tabel 4.8.

Tabel 4.8. Uji ketepatan dan ketelitian pengukuran kadar efavirenz dalam plasma

Sampel konsentrasi	Konsentrasi yang ditambahkan (µg/mL)	Plasma			
		Intraassay		Interassay	
		Coefficient of variation (%)	Deviation (%)	Coefficient of variation (%)	Deviation (%)
Rendah (<i>low</i>)	0.3	2.21	3.33 - 10	4.61	2.22
Sedang (<i>medium</i>)	1.5	5.25	1.33 - 11.33	4.95	6.37
Tinggi (<i>high</i>)	4	2.76	0.25 - 7.25	3.27	4.81

Lower limit of quatitation (LOQ) didefinisikan sebagai konsentrasi terendah efavirenz yang dapat dibedakan dari *backgrarund noise* sebesar 0.1 mcg/mL.



BAB 5 PEMBAHASAN

Melalui *before-and-after trial* ini ingin diketahui besarnya pengaruh pemberian rifampisin terhadap bioavailabilitas efavirenz peroral pada sukarelawan sehat. Sebagai penginduksi sistem enzim sitokrom P450 yang memetabolisme efavirenz, pemberian rifampisin potensial meningkatkan klirens efavirenz sehingga mengurangi bioavailabilitas efavirenz dalam plasma.

Hasil studi ini menunjukkan terdapat penurunan AUC_{0-72} (20.36 %) dan AUC_{0-inf} (38.63 %) pasca induksi dengan rifampisin 450 mg/hari per oral selama 1 minggu. Rerata $\pm$ SD penurunan kadar AUC_{0-72} sebesar 9.53 ± 11.26 mcg/mL.h ($p = 0.048$; $IK_{95} = 0.112 - 18.940$), dan AUC_{0-inf} sebesar 37.24 ± 42.43 mcg/mL.h ($p = 0.034$; $IK_{95} = 0.021 - 0.406$).

Hasil studi ini berbeda dengan studi yang dilakukan oleh Lopez-Cortez *et al.*⁴⁵ dan Benedek *et al.*⁵⁷ Pada semua studi ini kadar efavirenz dievaluasi dengan dan tanpa regimen TB yang mengandung rifampisin pada waktu berbeda, namun pada penderita yang sama. Studi Lopez-Cortez *et al.* (2002)⁴⁵ bertujuan mengevaluasi interaksi farmakokinetik antara efavirenz dan rifampisin pada 24 penderita HIV/TB. Dosis rifampisin diberikan dengan penyesuaian berat badan dalam sediaan kombinasi dosis tetap, yang diberikan selama 7 hari. Hasil studi menunjukkan terdapat penurunan rerata AUC efavirenz sebesar 24% pasca pemberian rifampisin ($p > 0.05$). Studi yang dilakukan oleh Benedek *et al.* (1998)⁵⁷ pada 12 orang sukarelawan sehat, bertujuan mengevaluasi interaksi farmakokinetik efavirenz dan rifampisin. Dosis rifampisin yang digunakan 600 mg/hari yang diberikan selama 7 hari. Hasil studi ini menunjukkan terjadi penurunan AUC efavirenz sebesar 20%. Studi ini juga tidak menunjukkan kemaknaan statistik.

Perbedaan hasil studi ini dapat disebabkan oleh adanya perbedaan jalur metabolisme efavirenz. Ada perbedaan pendapat dalam hal isozim utama yang memetabolisme efavirenz. Studi *in vitro* yang dilakukan Ward *et al.*⁸ menggunakan mikrosom hati manusia untuk mengidentifikasi jalur metabolisme efavirenz menunjukkan

CYP2B6 merupakan jalur metabolisme primer dan sekunder dari efavirenz. Literatur lainnya mengatakan jalur metabolisme utama efavirenz adalah CYP3A4.⁴³ Rifampisin merupakan penginduksi poten CYP3A4, tetapi hanya sedikit menginduksi isozim CYP2B6.⁶ Berdasarkan hasil studi ini tampaknya metabolisme utama efavirenz terutama melalui isozim CYP3A4, karena terjadi penurunan rerata AUC_{0-72} dan AUC_{0-inf} pada pemberian bersama rifampisin, yang bermakna secara statistik.

Adanya perbedaan hasil antara orang Indonesia dengan studi lainnya yang berasal dari subyek Kaukasia bisa disebabkan perbedaan aktivitas enzim yang memetabolisme obat akibat perbedaan etnik. Pendapat ini didukung laporan dari studi-studi beberapa obat yang dimetabolisme oleh isozim CYP3A4^{58,59} dan CYP2B6.^{50,51} Studi yang dilakukan oleh Ahsan *et al.*⁵⁸ memperlihatkan adanya perbedaan etnik dalam farmakokinetik nifedipin oral antara etnik Asia vs Kaukasia. Pada etnik Asia, dilaporkan AUC nifedipin 3 kali lipat lebih tinggi (989 ± 166 ng/mL.h) daripada etnik Kaukasia (323 ± 116 ng/mL.h). Selain itu waktu paruh eliminasi nifedipin pada etnik Asia (10.2 ± 3.0 jam) secara signifikan lebih panjang daripada Kaukasia (3.4 ± 1.7 jam); menunjukkan klirens yang lebih kecil pada etnik Asia. Hasil yang berbeda ditunjukkan oleh studi yang dilakukan oleh Kinirons *et al.*⁵⁹ Studi ini menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna antara etnik Asia dan Kaukasia dalam AUC maupun klirens triazolam, obat yang eliminasinya diperantarai juga oleh CYP3A4. Studi ini menunjukkan adanya perbedaan antara etnik dalam klirens nifedipin tidak bisa digeneralisasi pada semua substrat CYP3A4.

Perbedaan antara etnik dalam metabolisme obat juga ditunjukkan dengan adanya polimorfisme genetik terhadap CYP2B6. Genotip TT pada kodon 516 dari gen CYP2B6 dihubungkan dengan lebih lambatnya klirens efavirenz. Klirens yang lebih lambat dikaitkan dengan lebih tingginya pemaparan efavirenz, sehingga lebih sering mengalami efek samping pada susunan saraf pusat. Prevalensi genotip ini bervariasi antara etnik, yaitu Kaukasia 3%, Hispanik 7%, Afrika-Amerika 20%,⁵⁰ dan Jepang 17.9%.⁵¹ Perbedaan aktivitas CYP3A4 dan polimorfisme CYP2B6 516 T/T yang frekuensinya berbeda antar etnik berkaitan dengan perubahan aktivitas CYP3A4 dan CYP2B6.

Hasil studi ini menunjukkan terdapat variasi kadar efavirenz yang luas antar subyek pasca induksi dengan rifampisin. Dari total delapan subyek, pada 2 subyek kadar AUC_{0-72} dan AUC_{0-inf} efavirenz pasca induksi dengan rifampisin lebih tinggi daripada kadar prainduksi. Peningkatan kadar AUC_{0-72} dan AUC_{0-inf} pasca induksi pada kedua subyek menyebabkan luasnya variasi antar subyek. Hal ini dapat dilihat dari lebarnya nilai standar deviasi penurunan AUC_{0-72} pasca induksi rifampisin (9.53 ± 11.26 mcg/mL.h) dan AUC_{0-inf} (37.24 ± 42.43 mcg/mL.h).

Adanya variasi yang luas antar subyek juga ditunjukkan oleh beberapa studi sebelumnya. Benedek *et al.*⁵⁷ melaporkan tidak semua subyek dapat diinduksi oleh rifampisin. Dari total 12 subyek, pada 2 subyek kadar efavirenz pasca induksi lebih tinggi daripada prainduksi. Lopez-Cortez *et al.*⁴⁵ melaporkan ditemukan variasi AUC efavirenz yang besar antar subyek (menurun hingga 65% - meningkat hingga 37%) akibat pemberian rifampisin. Studi Friedland *et al.*⁹ melaporkan variasi antar subyek dengan rifampisin lebih besar (koefisien variasi 157% versus 58% tanpa rifampisin).

Untuk mencari penjelasan penyebab luasnya variasi antar subyek yang timbul peneliti mencoba melihat dari sudut dosis rifampisin yang digunakan. Pada studi ini digunakan rifampisin dosis standar dengan acuan Pedoman Diagnosis dan Penatalaksanaan Tuberkulosis yang dikeluarkan oleh Perhimpunan Dokter Paru Indonesia (PDPI).⁶⁰ Dalam Pedoman Diagnosis dan Penatalaksanaan Tuberkulosis rifampisin 450 mg/hari merupakan dosis yang dipakai untuk penderita dengan berat badan 40-60 kg. Bila ditinjau dari segi berat badan pada satu subyek berat badannya masih dalam rentang dosis terapeutik (55 kg) sedangkan pada subyek yang lain mempunyai berat badan diluar rentang dosis terapeutik (65 kg). Tampaknya dosis rifampisin yang kurang bukan merupakan faktor penyebab variasi antar subyek yang luas. Perlu diingat, respon individu terhadap obat yang diberikan tidak hanya tergantung dosis per kilogram berat badan yang diberikan, selain itu ada banyak variabel independen lain yang ikut memberikan kontribusi seperti adanya variasi biologik antar individu.

Review yang dilakukan oleh Tang *et al.*⁶¹ menyatakan ada beberapa faktor yang ikut memberikan kontribusi dalam variabilitas antar individu dalam induksi sitokrom P450: 1). variasi genetik sitokrom P450; 2). konsentrasi obat penginduksi dalam jaringan dan di dalam sel, yang dimodulasi antara lain oleh P-glikoprotein; 3). variasi genetik dari reseptor nukleus dan protein regulator untuk transkripsi gen sitokrom P450; 4). faktor lingkungan, makanan, usia, jenis kelamin.

Beberapa studi telah dilakukan untuk mencari jawaban atas luasnya variasi antara individu dalam kemampuannya menginduksi sitokrom P450. Selain variasi genetik dari aktivitas CYP3A4 yang berbeda antara etnik, polimorfisme genetik terhadap CYP2B6 dan P-glikoprotein, variasi genetik dalam ekspresi reseptor nukleus CAR antara etnik dan jenis kelamin ikut memberikan kontribusi bagi luasnya variabilitas kadar efavirenz dalam plasma.

Studi polimorfisme genetik berkaitan dengan efavirenz umumnya dilakukan tanpa rifampisin. Studi yang dilakukan oleh Kwara *et al.*⁶² pada 26 penderita HIV/TB yang memperoleh rifampisin dan efavirenz mengkonfirmasi CYP2B6 c.516TT berperan di dalam luasnya variasi antar subyek. Hasil studi tersebut menunjukkan rerata AUC efavirenz lebih tinggi pada penderita dengan CYP2B6 c.516TT daripada GT (107 vs 27.6 mcg/mL.h, $p < 0.0001$), atau genotip GG (107 vs 23 mcg/mL.h, $p < 0.0001$). Selain itu genotip 938T > C⁶³ dan 1459C > T¹⁰ juga diidentifikasi berkaitan dengan variabilitas kadar efavirenz antar subyek.

Polimorfisme genetik ABCB1 gen (C3435T), gen yang mengkode P-glikoprotein juga diidentifikasi sebagai penyebab variabilitas individual dalam kadar efavirenz. Penderita dengan genotip TT dikaitkan dengan lebih rendahnya kadar efavirenz dalam plasma. Distribusi genotip TT berbeda antara etnik. Prevalensi genotip TT pada populasi India 44%, Caucasia 21-32, Afrika 1-7%, Cina 22%, Jepang 22%, dan Filipina 17%.⁶⁴

Lamba *et al.*⁶⁵ menyatakan ada perbedaan ekspresi CYP2B6 yang berbeda signifikan antara etnik dan jenis kelamin. Dibandingkan dengan pria, wanita mempunyai jumlah mRNA CYP2B6 yang lebih banyak (3.9 kali lipat, $P < 0.001$), protein (1.7 kali

lipat, $P < 0.009$), dan aktivitas (1.6 kali lipat, $P < 0.005$). Aktivitas CYP2B6 3.6 - 5.0 kali lebih tinggi pada wanita Hispanik dibandingkan wanita Kaukasia ($P < 0.0022$) atau Afrika-Amerika ($p < 0.038$). Selain faktor genetik, faktor lingkungan dan makanan juga memberikan kontribusi bagi perbedaan farmakokinetik ini.

Pengaruh makanan juga diperhitungkan dalam studi ini. Pemberian efavirenz bersama makanan tinggi lemak meningkatkan $AUC \pm 28\%$ dan $C_{max} \pm 79\%$.⁴² Efek makanan terhadap kadar efavirenz sudah diantisipasi pada studi ini dengan cara menginstruksikan subyek untuk puasa semalaman, dan pemberian makanan yang seragam jenisnya setelah waktu absorpsi efavirenz dilewati.

Efavirenz merupakan obat dengan waktu paruh eliminasi ($T_{1/2}$) yang panjang. $T_{1/2}$ efavirenz dosis tunggal adalah 52 -76 jam, waktu paruh yang panjang menyebabkan obat ini dapat diberikan sekali sehari.⁴² Pada gambar 4.2. dapat kita lihat rerata kadar efavirenz pada jam ke-24 sudah di bawah kadar minimal dari rentang konsentrasi terapi (1 mcg/mL).⁴⁸ Rerata konsentrasi efavirenz jam ke-24 pra induksi adalah 0.56 ± 0.17 dan pasca induksi 0.46 ± 0.23 . Konsentrasi subterapeutik yang sudah terjadi pada jam ke-24 bisa diterangkan bila kita meninjau dari sisi sifat fisikokimia dan farmakokinetik dari efavirenz.

Efavirenz mempunyai $pK_a:10.2$,⁴³ sangat lipofilik, ikatan protein $> 99.50 - 99.75\%$.⁴⁴ Sifat lipofilik yang dimiliki oleh efavirenz menyebabkan obat ini dapat berdifusi melintasi membran sel dan masuk ke dalam sel. Adanya perbedaan antara pH di dalam sel ($pH = 7$) dan diluar sel ($pH = 7.4$), menyebabkan obat yang bersifat basa (efavirenz) lebih banyak terakumulasi di dalam sel. Proses ini disebut dengan "*ion trapping*".

Distribusi obat dalam darah selain dipengaruhi oleh ikatan protein, juga dipengaruhi oleh volume distribusi yaitu volume di mana obat terdistribusi dalam plasma. Kadar plasma yang kecil menunjukkan obat tersebar luas dalam tubuh atau terakumulasi di dalam jaringan akibat volume distribusinya yang besar.

Data populasi farmakokinetik menunjukkan volume distribusi efavirenz 256 L (median berat badan 66 kg; rentang 41-114).⁶⁶ Literatur lain menyatakan volume distribusi efavirenz 2.4 L/kg.⁶⁷ Luasnya volume distribusi menyebabkan obat tersebar luas dalam tubuh dan terakumulasi di dalam sel.

Ada dua studi yang dilakukan bertujuan mengetahui kadar efavirenz di dalam sel mononukleus darah perifer. Studi yang dilakukan Almond *et al.*⁶⁸ menyatakan ada hubungan langsung antara % fraksi terikat efavirenz dalam plasma dengan akumulasi efavirenz di dalam sel. Ratio AUC₀₋₂₄ efavirenz di dalam sel dengan AUC₀₋₂₄ fraksi terikat efavirenz adalah 213. Data ini menunjukkan lebih dari 200 kali lipat efavirenz berada di dalam kompartemen intraselular bila dibandingkan dengan fraksi bebasnya dalam plasma.

Berbeda dengan studi Almond *et al.*⁶⁸ yang menyatakan kadar efavirenz di dalam sel secara signifikan berkorelasi dengan kadar plasma total, studi Tanaka *et al.*⁶⁹ menunjukkan ada korelasi kuat antara fraksi bebas dalam plasma dengan kadar efavirenz di dalam sel ($p = 0.0082$), dengan rerata rasio akumulasi 1.190 dibandingkan dengan kadar plasma total. Terlepas dari adanya perbedaan hasil dari studi, berdasarkan kedua studi ini efavirenz memiliki kesamaan sifat dengan kloroquin dan azitromisin di mana kadar di dalam sel lebih tinggi daripada kadar dalam plasma.

Rerata C_{max} efavirenz pra-induksi 2.19 ± 0.68 mcg/mL.h dan pasca induksi 2.11 ± 0.88 mcg/mL.h ($p = 0.803$). Hasil yang berbeda ditunjukkan oleh Lopez-Cortez *et al.*⁴⁵ yang menunjukkan konsentrasi C_{max} efavirenz pra-induksi 3.05 ± 1.16 mcg/mL.h dan pasca-induksi 2.32 ± 0.68 mcg/mL.h ($p > 0.05$). Studi Lopez-Cortez *et al.*⁴⁵ dilakukan pada penderita koinfeksi HIV-TB dengan median berat badan 54 kg (rentang 38 – 80 kg) yang diberikan efavirenz 600 mg/hari selama 7 hari bersama regimen TB tanpa rifampisin, dan kemudian ditambahkan rifampisin selama 1 minggu. Pada studi ini median berat badan subyek studi 60.5 kg (rentang 55 - 73 kg). Terlepas dari perbedaan berat badan peserta tubuh, komposisi lemak tubuh berperan penting karena sifat lipofilik efavirenz yang tinggi. Perlu ditekankan di sini, nilai C_{max} pada studi ini merupakan nilai C_{max} pada pemberian efavirenz dosis tunggal. Nilai C_{max} ini dapat mengalami peningkatan pada penggunaan dosis berulang, dan dapat mengalami penurunan setelah

taraf mantaf tercapai disebabkan kemampuan obat ini menginduksi metabolismenya sendiri (autoinduksi)

Hasil studi ini menunjukkan rerata T_{max} efavirenz prainduksi 4.50 ± 0.93 jam dan pasca induksi 3.38 ± 1.30 jam, dengan penurunan T_{max} 1.13 ± 0.99 jam ($p = 0.015$). Hasil yang berbeda ditunjukkan oleh studi Lopez-Cortez *et al.*⁴⁵ menunjukkan T_{max} prainduksi 4.2 ± 1.6 jam dan T_{max} pasca induksi 3.1 ± 1.3 jam ($p > 0.05$). Secara keseluruhan T_{max} studi ini sesuai dengan literatur yang menyatakan T_{max} efavirenz adalah 3-5 jam.⁴²

Rentang konsentrasi terapeutik efavirenz adalah 1 - 4 mcg/mL. Konsentrasi di bawah 1 mcg/mL dikaitkan dengan tingginya angka kegagalan virologik (50%), sementara pada konsentrasi > 4 mcg/mL mempunyai risiko tiga kali lebih sering mengalami efek samping pada susunan saraf pusat.⁴⁸ Hasil studi ini menunjukkan rerata C_{max} efavirenz sebelum dan pasca induksi dengan rifampisin masih di dalam rentang terapeutik yaitu 2.19 ± 0.68 mcg/mL.h vs 2.11 ± 0.88 mcg/mL.h.

Untuk melihat kejadian *adverse event*, tiap subyek dalam studi ini diberikan lembar catatan harian pada setiap kunjungan. Catatan harian ini dikembalikan kepada peneliti pada setiap kunjungan berikutnya. Semua subyek (100%) pada studi ini melaporkan keluhan yang mengenai susunan saraf pusat (SSP). Keluhan yang dilaporkan antara lain pusing (3 orang), mengantuk (2 orang), melayang (3 orang). Dari anamnesis diduga bahwa keluhan yang timbul pada subyek terjadi akibat obat uji, karena keluhan tersebut terjadi pada semua subyek 1-2 jam pasca obat uji dikonsumsi, yaitu setelah fase absorpsi terlewati. Laporan kejadian *adverse event* dari studi ini lebih tinggi (100%) daripada laporan efek samping pada susunan saraf pusat atau gangguan neuropsikiatri yang berkisar 25-70% pada penderita yang memperoleh efavirenz.⁷⁰

Sampai saat ini belum diketahui pasti mekanisme efavirenz dalam menimbulkan efek samping pada SSP. Salah satu penjelasan penyebab timbulnya efek samping bisa dilihat dari sifat efavirenz yang sangat lipofilik sehingga mudah menembus sawar darah otak. Studi lain menunjukkan kadar efavirenz dalam cairan serebrospinal berkisar 0.26 –

1.19% (rerata 0.69%) dari konsentrasi plasma. Kadar ini sekitar 3 kali lebih tinggi dari fraksi bebas efavirenz dalam plasma.⁷¹ Lebih tingginya kadar efavirenz dalam cairan serebrospinalis daripada plasma dapat merupakan salah satu penjelasan penyebab tingginya kejadian efek samping efavirenz pada SSP. Tingginya kadar efavirenz dalam SSP dibandingkan dalam plasma dalam penyebab tingginya kejadian efek samping pada SSP tidak dapat menjelaskan mengapa nevirapin yang konsentrasinya dalam SSP lebih tinggi (40%) dibanding efavirenz mempunyai efek samping lebih dominan pada hepar.⁷¹

Hasil studi ini menunjukkan rerata $T_{1/2}$ efavirenz prainduksi dan pasca induksi sebesar 96.60 ± 42.38 jam vs 81.67 ± 60.98 jam, dengan penurunan $T_{1/2}$ pasca induksi 14.93 ± 77.14 jam ($p = 0.237$). $T_{1/2}$ subyek studi lebih panjang dari literatur yang menyatakan $T_{1/2}$ efavirenz dosis tunggal adalah 52 -76 jam.⁴² $T_{1/2}$ yang lebih panjang pada subyek studi menggambarkan *clearance* subyek studi yang lebih kecil, atau volume distribusi yang lebih kecil. Penjelasan dari perbedaan $T_{1/2}$ antara subyek studi dan data literatur bisa disebabkan oleh etnik. Data $T_{1/2}$ literatur berasal dari etnik Kaukasia. Ada perbedaan aktivitas enzim metabolisme antara etnik yang berasal dari genetik, faktor makanan dapat ikut memberikan kontribusi.

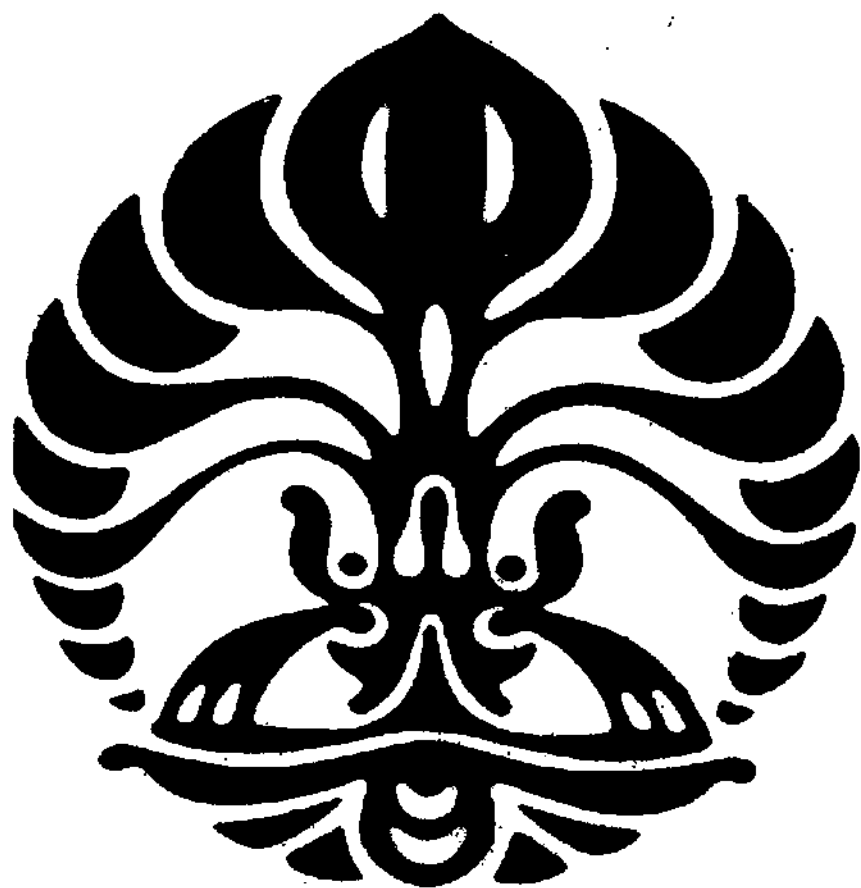
Menurut *Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research*⁷² tidak ada desain studi yang paling benar untuk studi interaksi obat karena tiap studi spesifik dalam mempertimbangkan jumlah pertanyaan dan objektif klinik yang ingin dicapai. Umumnya desain studi yang digunakan dalam studi interaksi obat pada sukarelawan sehat adalah *cross-over* atau *pararel*, karena kedua desain itu termasuk dalam desain *true experimental* dengan validitas yang tinggi.

Dari 2 desain *experimental* yang umumnya digunakan dalam studi interaksi obat, desain *cross-over* sering digunakan dengan keuntungan utamanya dalam mengurangi jumlah subyek yang diperlukan (separuh dari desain *pararel*), karena tiap subyek menjadi kontrol bagi dirinya sendiri.

Studi ini menggunakan desain *before-and-after* bukan desain *cross-over* dengan alasan adalah (1). desain *cross over* membutuhkan waktu lebih lama dengan kemungkinan *drop out* yang lebih besar; (2). kemungkinan adanya efek *carry over* yaitu

efek obat pertama belum hilang pada saat dimulainya obat kedua dapat mempengaruhi profil farmakokinetik obat kedua.

Alasan dipilihnya desain *before-and-after* disebabkan oleh 1). keterbatasan biaya dan waktu; 2). waktu paruh efavirenz yang panjang sehingga kita tidak tahu pasti periode *washout*-nya berapa lama; dan 3). Terdapat kesulitan dalam perekrutan subyek disebabkan waktu pelaksanaan studi berbarengan dengan jatuhnya bulan puasa.



BAB 6

RINGKASAN, KESIMPULAN, DAN SARAN

6.1. RINGKASAN

Tuberkulosis merupakan infeksi oportunistik yang sering ditemukan pada penderita HIV. Regimen terapi tuberkulosis dengan rifampisin mutlak diperlukan bagi keberhasilan terapi penderita HIV yang terinfeksi tuberkulosis. Penggunaan rifampisin bersama efavirenz pada manusia telah dilaporkan menginduksi metabolisme efavirenz, sehingga dapat mempengaruhi kadar efavirenz dalam plasma. Data mengenai interaksi antara rifampisin dan efavirenz pada sukarelawan sehat belum diketahui di Indonesia. Perbedaan etnik dalam metabolisme obat merupakan problem penting di klinik, dan masih membutuhkan konfirmasi.

Studi ini dilakukan dengan tujuan mengetahui besarnya pengaruh rifampisin terhadap bioavailabilitas efavirenz. Desain *before and after trial* digunakan dalam studi yang berlangsung selama 3 minggu, dengan melibatkan 8 sukarelawan sehat. Sukarelawan dipuasakan semalaman, dan diinstruksi untuk balik pada keesokan paginya. Sukarelawan kemudian diinstruksikan untuk minum 1 tablet efavirenz 600 mg bersama 1 gelas air putih. Contoh darah diambil pada jam ke 0 (kontrol), 2, 3, 4, 5, 6, 24, dan 72 jam setelah pemberian efavirenz. Setelah pengambilan contoh darah terakhir, sukarelawan diinduksi dengan memberikan 1 tablet rifampisin 450 mg/hari setiap hari selama 1 minggu. Setelah proses induksi dengan rifampisin selesai dilakukan, sukarelawan diinstruksikan untuk balik keesokan harinya dalam keadaan puasa semalaman untuk dilakukan prosedur yang sama seperti yang telah dilakukan sebelumnya. Kadar efavirenz dalam plasma ditentukan dengan kromatografi cair kinerja tinggi dengan detektor ultraviolet. Parameter bioavailabilitas yang dinilai adalah penurunan rerata $\pm$ SD AUC_{0-72} , AUC_{0-inf} , C_{max} , dan T_{max} pasca induksi rifampisin. Selain itu juga dinilai penurunan rerata $T_{1/2}$ pasca induksi rifampisin. Untuk menentukan apakah ada perbedaan rerata penurunan kadar AUC_{0-72} , AUC_{0-inf} , C_{max} , T_{max} , dan $T_{1/2}$ digunakan uji t berpasangan, dan *Wilcoxon's match paired test*. Perbedaan dianggap bermakna secara statistik bila $p < 0.05$.

Selama periode Agustus – Oktober 2009 dapat direkut 10 subyek sukarelawan sehat yang lolos skrining fisik dan laboratorium. Subyek diikuti sertakan dalam uji klinik

setelah memberikan *informed consent*. Semua subyek ikut berpartisipasi dalam studi sampai selesai namun, pemeriksaan kadar efavirenz dalam plasma dilakukan terhadap sampel plasma yang berasal dari delapan subyek saja karena keterbatasan dana studi. Delapan subyek yang ikut dalam analisis akhir semuanya pria, dengan rentang umur 23 - 49 tahun, tinggi badan 1.60 – 1.70 m, berat badan 55 – 73 kg, dan indeks massa tubuh berkisar 18.6 – 25.6 kg/m².

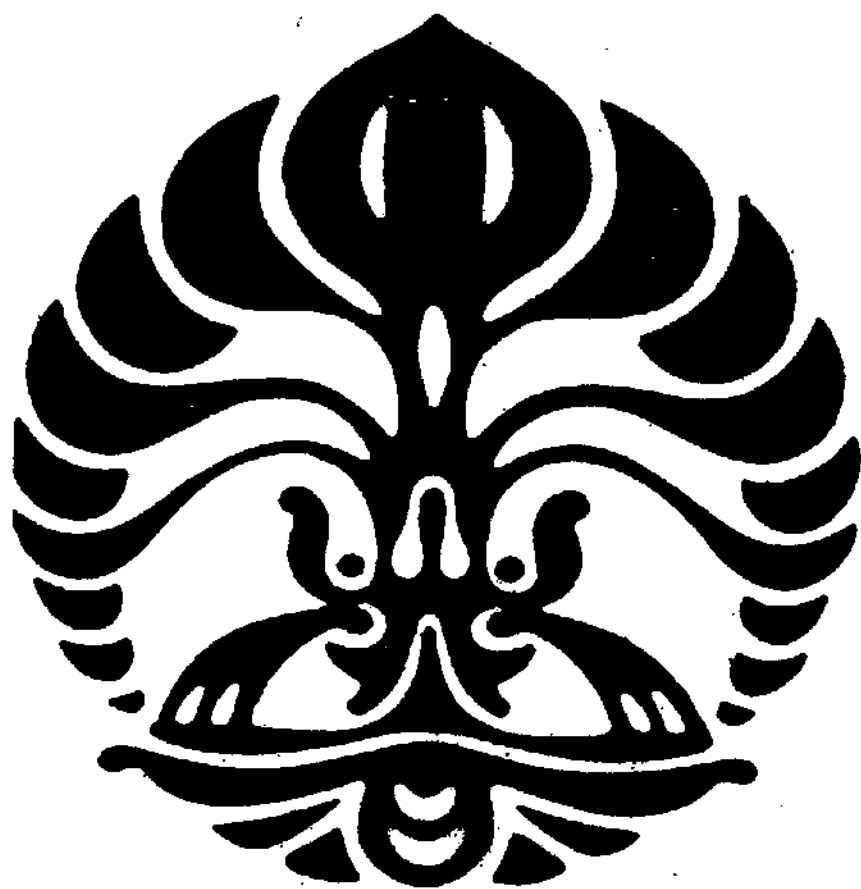
Sebelum dilakukan induksi dengan rifampisin didapatkan rerata AUC_{0-72} sebesar 46.80 ± 9.27 mcg/mL.h, AUC_{0-inf} sebesar 96.38 ± 38.10 mcg/mL.h, C_{max} sebesar 2.19 ± 0.68 mcg/mL.h, T_{max} sebesar 4.50 ± 0.93 jam, dan $T_{1/2}$ sebesar 96.60 ± 42.38 jam. Pasca induksi dengan 1 tablet rifampisin 450 mg/hari setiap hari selama 1 minggu, terdapat penurunan signifikan konsentrasi rerata AUC_{0-72} 9.53 ± 11.26 mcg/mL.h ($p = 0.048$; $CI_{95\%} = 0.112 - 18.940$), AUC_{0-inf} 37.24 ± 42.43 ($p = 0.034$; $CI_{95\%} = 0.021 - 0.406$) mcg/mL.h, and T_{max} 1.13 ± 0.99 jam ($p = 0.015$; $CI_{95\%} = 0.296 - 1.953$). Tidak terdapat penurunan signifikan konsentrasi rerata C_{max} ($p = 0.803$; $CI_{95\%} = -0.630 - 0.785$), and $T_{1/2}$ ($p = 0.237$) pasca induksi dengan rifampisin. Semua subyek dari studi ini melaporkan efek samping. Efek samping yang dilaporkan berupa pusing, mengantuk, dan melayang.

6.2. KESIMPULAN

Pemberian efavirenz dosis tunggal 600 mg/hari bersama rifampisin 450 mg/hari setiap hari selama 1 minggu dapat menurunkan bioavailabilitas efavirenz pada sukarelawan sehat.

6.3. SARAN

Hasil studi ini dapat dijadikan patokan untuk menentukan besarnya penurunan rerata parameter bioavailabilitas efavirenz bila diberikan bersama dengan rifampisin. Dengan menggunakan nilai parameter bioavailabilitas utama AUC_{0-72} , diketahui nilai $SD_{diff} = 11.26$, $d = 9.53$, $\alpha = 0.05$ dan $power = 80\%$, maka dibutuhkan jumlah sampel 11 orang apabila hendak diadakan studi sejenis dikemudian hari. Studi farmakokinetik ini sebaiknya dilengkapi dengan desain *cross over*.



DAFTAR PUSTAKA

1. Manuhutu EJ. Peran riset dalam bidang tuberkulosis paru untuk menunjang pembangunan nasional. Pidato Pengukuhan Guru Besar FK UI, April 2006.
2. Corbett EL, Marston B, Churchyard GJ, De Cock KM. Tuberculosis in sub-Saharan Africa: opportunities, challenges, and change in the era of antiretroviral treatment. *Lancet* 2006;367:926-37.
3. Clain KP, Anekthananon T, Burapat C, Akkslip S, Mankhatitham W, Srinak C, et al. Causes of death in HIV-infected persons who have tuberculosis. *Thailand Emerg Infect Dis* 2009;15: 258-64.
4. Jindani A, Nunn AJ, Enarson DA. Two 8-month regimens of chemotherapy for treatment of newly diagnosed pulmonary tuberculosis: international multicenter randomized trial. *Lancet* 2004;364:1244-51.
5. Burman WJ. Issue in the management of HIV-related tuberculosis. *Clin Chest Med* 2005;26:283-94.
6. Center for Disease Control and Prevention. Managing drug interactions in the treatment of HIV-related tuberculosis [online]. 2007. [Cited 2009 February 18]. Available from http://www.cdc.gov/tb/TB_HIV_Drugs/default.htm
7. World Health Organization. Antiretroviral therapy for HIV infection in adults and adolescents: recommendations for a public health approach. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2006 revision. [cited 2009 May 19]. Available from: <http://www.who.int/hiv/pub/guidelines/artadultguidelines.pdf>.
8. Ward BA, Gorski JC, Jones DR, Hall SD, Flockhart DA, Desta Z. The cytochrome P450 2B6 (CYP2B6) is the main catalyst of efavirenz primary and secondary metabolism: implication for HIV/AIDS therapy and utility of Efavirenz as a substrate marker of CYP2B6 catalytic activity. *Pharmacol Exp Ther* 2003;306:287-300.
9. Friedland G, Khoo S, Jack C, Lallo U. Administration of efavirenz (600 mg/hari) with rifampicin results in highly variable level but excellent clinical outcomes in patients treated for tuberculosis and HIV. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;58:1299-1302.
10. Burger D, van der Heiden I, la Porte C, van der Ende M, Groeneveld P, Richter C, et al. Interpatient variability in the pharmacokinetics of the HIV non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor efavirenz: the effect of gender, race, and CYP2B6. *Br J Clin Pharmacol* 2005;61:148-54.
11. Idemyor V. HIV and tuberculosis coinfection: inextricably linked liaison. *J Natl Med Assoc* 2007;99:1414-9.
12. Burzynski JN, Schluger NW, Garay SM. Tuberculosis and the human immunodeficiency virus infection. In: Rom WN, Garay SM, editors. *Tuberculosis*. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkin, 2004; p.663-8.
13. Kaplan JE, Benson C, Holmes KK, Brooks JT, Pau A, Mansur H. Guideline for Prevention and Treatment of Opportunistic Infections in HIV Infected Adults and Adolescent. Recommendation from CDC, the National Institute of Health, and HIV Medicine Association of the Infectious Disease Society of America. *MMWR* 2009;58;1-198. [cited 2009 May 19]. Available

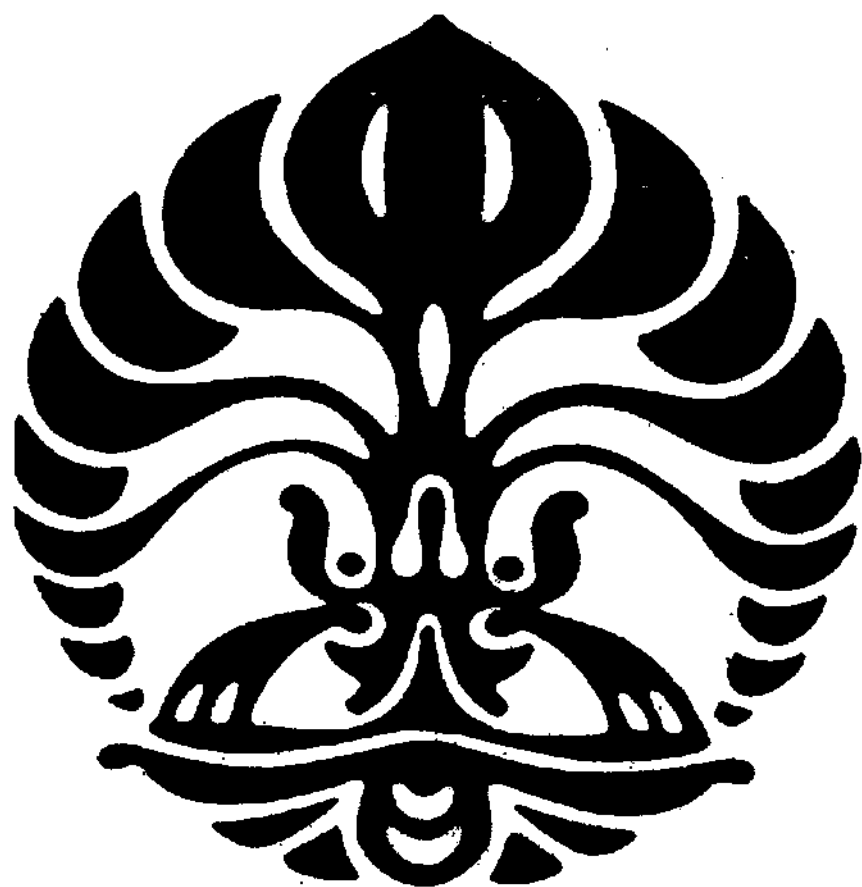
from:http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr58e324a1.htm?s_cid=rr58e324a1_e.

14. Kelompok Kerja TB-HIV tingkat pusat. Prosedur tetap pencegahan dan pengobatan tuberculosis orang dengan HIV/AIDS. Jakarta: Departemen Kesehatan RI; 2003.
15. DHHS Panel of Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescent. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1 infected adults and adolescents. Department of Health and Human Services. [2008 November 3; cited 2009 June 25]. Available from:
<http://www.aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultsandAdolescentGL.pdf>.
16. Burman WJ, Jones EJ. Treatment of HIV-related tuberculosis in the era of effective antiretroviral therapy. *Am j Respir Crit Care Med* 2001; 164: 7-12.
17. American Thoracic Society/Center for Disease Control and Prevention/ Infectious Disease Society of America. Treatment of Tuberculosis. *Am j Respir Crit Care Med* 2003; 167: 603-62.
18. Tuberculosis. In: Yuniastuti E, Djauri S, Djoeban Z, editors. Infeksi oportunistik pada AIDS. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 2005; hal. 7-12.
19. World Health Organization. Regional Strategic Plan on HIV/TB. WHO Project: ICP HIV 001, ICP TUB 001. World Health Organization Regional Office for South-East Asia, 2003; pp. 30-1.
20. Drug interaction. In: Grahame-Smith DG, Aronson JK, editors. Oxford textbook of clinical Pharmacology and drug therapy. 3rd ed. New York: Oxford University Press, 2002; p. 104-117.
21. Piscitelli SC, Gallicano KD. Interaction among drugs for HIV and opportunistic infections. *N Engl J Med* 2001; 344:984-96.
22. Wilkinson GR. Drug metabolism and variability among patients in drug response. *N Engl J Med* 2005;352:2211-21.
23. Burman WJ. Pharmacokinetic considerations and drug-drug interactions in tuberculosis treatment. In: Rom WN, Garay SM, editors. Tuberculosis. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkin, 2004; p. 809-21.
24. Gonzalez FJ, Tukey RH. Drug metabolism. In: Brunton LL, Lazo JS, Parker KL, editors. Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics 11th ed. New York: McGraw-Hill; 2006.p.71-91.
25. Flexner C, Piscitelli SC. Managing drug-drug interaction in HIV disease. cme.medscape.com/viewarticle/421137.
26. Wilkinson GR. Drug metabolism and variability among patients in drug response. *N Engl J Med* 2005;352:2211-21.
27. Handschin C, Meyer UA. Induction of drug metabolism: the role of nuclear receptors. *Pharmacol Rev* 2003;55: 649-73.
28. Chen J, Raymond K. Roles of rifampicin in drug-drug interactions: underlying molecular mechanisms involving the nuclear pregnane X receptor. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2006;5: 1-11.
29. Wilson TM, Kliever SA. Pxr, car, and drug metabolism. *Nat Rev Drug Discov* 2002;1:259-66.

30. Hepatic Physiopathology. *Cross-talk: cross-talk between xenobiotic detoxication and other signaling pathways:clinical and toxicology consequences*. [homepage on the internet]. No date. [cited 2009 May 29]. Available from: <http://www.montp.inserm.fr/u632/pages/Cross-talk.html>.
31. Kliewer SA, Goodwin B, Willson TM. The nuclear receptor pregnane X receptor: a key regulator of xenobiotic metabolism. *Endocr Rev* 2002;23:687-702.
32. Faucette SR, Zhang TC, Moore R, Sueyoshi T, Omiecinski CJ, LeCluyse EL, et al. Relative activation of human pregnane X receptor defines distinct classes of CYP2B6 and CYP3A4 inducers. *JPET* 2007;320: 72-80.
33. Sensi P, Greco AM, Ballotta R. Rifamycins.I. Isolation and properties of rifomycin B and rifomycin complex. *Antibiot Annu* 1960;1959-60:262-70.
34. Wehrli W, Staehelin M. Action of the Rifamycins. *Bacteriol Rev* 1971;35: 290-309.
35. McIlleron H, Meintjes G, Burman WJ, et al. Complications of antiretroviral therapy in patients with tuberculosis: drug interactions, toxicity, and immune reconstitution inflammatory syndrome. *J Infect Dis* 2007;196:S63-S75.
36. Senol G, Erbaycu A, Ozsoz A. Incidence of cross resistance between rifampicin dan rifabutin in Mycobacterium tuberculosis strains in Izmir, Turkey. *J Chemother* 2005;17:380-4.
37. Waster PM. Chemistry of antituberculosis agents. Principles of pharmacotherapy 3: infectious diseases & diseases of the respiratory tract. [cited 2009 May 3]. Available from: <http://wiz2.pharm.wayne.edu/module/tb/html>.
38. Petri WA. Chemotherapy of tuberculosis, Mycobacterium avium complex disase, and Leprosy. In: Brunton LL, Lazo JS, Parker KL, editors. Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics 11th ed. New York: McGraw-Hill; 2006.p.1207-10.
39. Vernon AA. Rifamycin antibiotics, with a focus on newer agents. In: Rom WN, Garay SM, editors. Tuberculosis. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkin, 2004; p. 760-70.
40. Flexner C. Antiretroviral agents and treatment of HIV infection. In: Brunton LL, Lazo JS, Parker KL, editors. Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 11th ed. United State of America: McGraw-Hill;2006. p.1292-6.
41. Clavel F, Hance AJ. HIV drug resistance. *N Engl J Med* 2004;350: 1023-35.
42. Sustiva (efavirenz). Bristol-Myers Squibb: products. Revised November 2009. [cited 2009 November 23]. Available from: <http://www.bms.com>.
43. Bartlett JG, Gallant JE. Medical Management of HIV Infection 2007 Edition. United States of America: John Hopkins Medicine Health Publishing Bussines Group; 2007. p.185, 193-200, 272-8.
44. Rivero A, Mira JA, Peneda JA. Liver toxicity induced by non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *J Antimicrob Chemother* 2007;59: 342-6.
45. Lopez-Cortez LF, Ruiz-Valderas R, Viciana P, Alarcon-Gonzalez A, Gomez-Mateos J, Leon-Jimenez E, et al. Pharmacokinetic interactions between efavirenz and rifampicin in HIV-infected patients with tuberculosis. *Clin Pharmacokinet* 2002;41: 681-90.
46. Manosuthi W, Sungkanuparph S, Thakkestian A, Vibhagool A, Kiertiburanakul S, Rattanasiri S, et al. Efavirenz levels and 24-weeks efficacy in HIV-infected

- patients with tuberculosis receiving highly active antiretroviral therapy and rifampicin. *AIDS* 2005;19:1481-6.
47. Manosuthi W, Kiertiburanakul S, Sungkanuparph S, Ruxrungtham K, Vibhagool A, Rattanasiri S, et al. Efavirenz 600 mg/day versus efavirenz 800 mg/day in HIV-infected patients with tuberculosis receiving rifampicin: 48 weeks results. *AIDS* 2006;20: 131-2.
 48. Marzolini C, Talenti A, Decostered LA, Greub G, Biollaz J, Buclin T.. Efavirenz plasma level can predict treatment failure and central nervous system side effect in HIV-1 infected patients. *AIDS* 2001;15:71-5.
 49. Brennan-Bonson P, Lyus R, Harrison T, Pakianathan M, Macallan D. Pharmacokinetic interactions between efavirenz and rifampicin in the treatment of HIV and tuberculosis: one size does not fit all. *AIDS* 2005;19: 1541-3.
 50. Haas DW, Ribaud HJ, Kim RB, et al. Pharmacogenetics of efavirenz and central nervous system side effects: an Adults AIDS Clinical Trial Group Study. *AIDS* 2004;18: 2391-2400.
 51. Gatanaga H, Hayashida T, Tsuchiya K. Successful efavirenz dose reduction in HIV type-1-infected individuals with cytochrome P450 2B6*6 and *26. *Clin Infect Dis* 2007;45: 1230-7.
 52. Burger D, van der Heiden I, la Porte C, van der Ende M, Groeneveld P, Richter PK, Kroon F, et al. Interpatient variability in the pharmacokinetics of the HIV non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor efavirenz: the effect of gender, race, and CYP2B6 polymorphism. *Br J Clin Pharmacol* 2005;61: 148-54.
 53. Pazniak AL, Collins S, Coyne KM, Freedman AR, Johnson MA, Lipman MCI et al. British HIV Association guidelines for the treatment of TB/HIV co-infection 2009. [cited 2009 September 11]. Available from: <http://www.bhiva.org/cms1223707.asp>.
 54. DiGiacinto JL, Chan-Tack KM, Robertson SM, Reynolds KS, Struble KA. Are literature references sufficient for dose recommendations? An FDA case study of efavirenz and rifampin. *J Clin Pharmacol* 2008;48:519-23.
 55. Mogatle S, Kanfer I. Rapid method for quantitative determination of efavirenz in human plasma. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2009;49: 1308-12.
 56. Ramachandran G, Kumar AKH, Swaminathan S, Venkatesan P, Kumaraswami V, Greeblatt DJ. Simple and rapid liquid chromatography method for determination of efavirenz in plasma. *Journal of Chromatography B* 2006; 835: 131-5.
 57. Benedek I, Joshi A, Fiske WD, White SJ, Stevenson D, Bawerjee G, et al. Pharmacokinetic interaction between efavirenz (EFV) dan rifampicin (RIF) in healthy volunteers. XII International Conference on AIDS. Geneva 1998. [abstract 42280].
 58. Ahsan CH, Renwick AG, Macklin B, Challenor VF, Waller DG, George CF. Ethnic differences in the pharmacokinetics of oral nifedipine. *Br J Clin Pharmacol* 1991;31: 399-403.
 59. Kinirons MT, Lang CC, He HB, Ghebreselasie K, Shay S, Robin DW, Wood AJJ. Triazolom pharmacokinetics and pharmacodynamic in Caucasian and Southern Asia: ethnicity and CYP3A activity. *Br J Clin Pharmacol* 1996;41: 69-72.

60. Perhimpunan Dokter Paru Indonesia (PDPI). Tuberkulosis Pedoman Diagnosis dan Penatalaksanaan di Indonesia. Jakarta: Indah Offset Citra Grafika; 2006; hal 27.
61. Tang C, Lin JH, Lu AYH. Metabolism-base drug-drug interactions: what determines individual variability in cytochrome P450 induction? *Drug Metab Dispos* 2005;33:603-613.
62. Kwara A, Lartey M, Sagoe KW, Xexemeku F, Kenu E, Oliver-Commey J, et al. Pharmacokinetics of efavirenz when co-administred with rifampin in TB/HIV co-infected patients: pharmacogenetic effect of CYP2B6 variation. *J Clin Pharmacol* 2008;48:1032-40.
63. Wyen C, Hendra H, Vogel M, Hoffmann C, Knechten H, Brockmeyer NH, et al. Impact of CYP2B6 983T> C polymorphism on non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor plasma concentration in HIV-infected patients. *Antimicrob Chemother* 2008;61: 914-8.
64. Bakshi S, Ramachandran G, Ramesh K, Hemanthkumar AK, Anitha S, Padmapriyadarsini C, et al. Study of ABCB1 polymorphism (C3435T) in HIV-1-infected individuals from South India. *Br J Clin Pharmacol* 2008;65: 791-2.
65. Lamba V, Lamba J, Yasuda K, Strom S, Davila J, Hancock ML, et al. Hepatic CYP2B6 expression: gender and ethnic differences and relationship to CYP2B6 genotip and CAR (constitutive androstane receptor) expression. *JPET* 2003;307:906-22.
66. Csajka C, Marzolini C, Fattinger K, Decosterd LA, Fellay J, Telenti A, et al. Population pharmacokinetics and effects of efavirenz in patients with human immunodeficiency viurs infection. *Clin Pharmacol Ther* 2003;73:20-30.
67. Smith PF, DiCenzo R, Morse GD. Clinical pharmacokinetics of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Clin Pharmacokinet* 2001;40:893-905.
68. Almond LM, Hoggard PG, Edirisinghe D, Khoo SH, Back DJ. Intracellular and plasma pharmacokinetics of efavirenz in HIV-infected individuals. *Antimicrob Chemother* 2005;56:738-44.
69. Tanaka R, Hanabusa H, Kinai E, Hasegawa N, Negishi M, Kato S. Intracellular efavirenz levels in peripheral blood mononuclear cells from human immunodeficiency virus-infected individuals. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2008;52:782-5.
70. Maggiolo F. Efavirenz: a decade of clinical experience in the treatment of HIV. *Antimicrob Chemother* 2009;64: 910-28.
71. Thomas SA. Anti-HIV drug distribution to the central nervous system. *Current Pharmaceutical Design* 2004;10:1313-24.
72. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation (CDER). Guidance for Industry: In vivo drug metabolism/drug interaction studies –study design, data analysis, and recommendations for dosing and labeling. 1999. [cited 2009 October 28]. Available from: <http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>.



RIWAYAT HIDUP

Nama : Yenny
Tempat & Tanggal lahir : Pekanbaru, 17 Desember 1974
Agama : Katholik
Jabatan : Dosen Tetap Departemen Farmakologi
Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti

A. PENDIDIKAN

a. Pendidikan Formal (Tahun Lulus)

- 2007 – 2009 : Program Pendidikan Dokter Spesialis
Farmakologi Klinik, FKUI
- 1993 - 2000 : Program Profesi Dokter, FK USAKTI

KARYA ILMIAH

a. Makalah yang dipublikasikan.

1. Efek schizandrine C terhadap kerusakan hati akibat pemberian parasetamol pada tikus. UNIVERSA MEDICINA 2005;24:161-166.
2. Aflaktosin dan aflatoksikosis pada manusia. UNIVERSA MEDICINA 2006;25:41-52.
3. Prevalensi penyakit kronis dan kualitas hidup pada lanjut usia di Jakarta Selatan. UNIVERSA MEDICINA 2006;25:164-171.
4. Resistensi dari bakteri enterik : aspek global terhadap antimikroba. UNIVERSA MEDICINA 2007;26:46-56.
5. The role of polyphenols in causing cardiovascular disease UNIVERSA MEDICINA 2008;27:29-38.
6. Prevalence of extended spectrum beta-lactamase in *Klebsiella pneumoniae*. UNIVERSA MEDICINA 2008;27:98-105.

7. The benefits and risks of Echinacea in treatment of common cold and influenza. UNIVERSA MEDICINA 2008;27:132-142.
8. Thiazolidinedione and cardiovascular risk in type 2 diabetes mellitus. UNIVERSA MEDICINA 2008;27:183-93.
9. Reaksi hipersensitivitas terhadap obat sulfonamide dan antiinflamasi nonsteroid. Majalah Farmakologi dan Terapi Indonesia 2008;15:29-36.
10. Pleiotrophic effect statin in stroke prevention.

b. Makalah yang dipresentasikan

1. Gambaran penyakit kronis dan kualitas hidup pada lansia di Jakarta Selatan (free paper presentation). Dies Natalis Universitas Trisakti ke-41. Healthy Aging: practice & research. 16 Desember 2006.
2. Effect of Schizandra C on liver damaged by paracetamol in rats (free paper presentation). 2nd Malaysia Indonesia Medical Science Conference 2006. Borobudur Hotel, 3-4 Agustust 2006.

Lampiran 1. Lembar informasi untuk subyek studi (*informed consent*)

INFORMASI UNTUK CALON SUBYEK

Tim peneliti dari Departemen Farmakologi dan Terapeutik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, akan melakukan penelitian untuk mengetahui kemanjuran obat antivirus HIV bila diberikan bersama dengan obat antituberkulosis. Tuberkulosis merupakan penyebab kematian tersering pada penderita HIV di dunia. Kombinasi obat antivirus HIV dan obat antituberkulosis mutlak diperlukan pada pasien yang terinfeksi HIV dan tuberkulosis. Namun penggunaan kedua obat ini secara bersamaan dapat mempengaruhi kadar obat HIV dalam darah sehingga dapat mempengaruhi hasil pengobatan. Oleh karena itu kami tertarik untuk meneliti interaksi kadar obat tersebut. Sebelum melakukannya pada penderita HIV yang juga terinfeksi TB, interaksinya pada orang sehat perlu diketahui terlebih dahulu. Untuk itulah kami mengundang partisipasi Anda dalam penelitian ini. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi masukan untuk membuat panduan dalam optimalisasi dosis obat antivirus HIV yang diteliti pada pasien HIV yang juga memperoleh obat antituberkulosis di Indonesia.

Bila Anda bersedia ikut dalam penelitian ini, Anda diminta menandatangani surat persetujuan dan selanjutnya mengikuti prosedur penelitian ini. Anda diminta puasa malam sebelum penelitian dilakukan, yaitu sejak pukul 20.00 dan hadir keesokan harinya pada pukul 06.30 di tempat pertemuan. Anda tidak diperkenankan datang terlambat dengan alasan apapun. Anda diminta untuk tidak sarapan dulu. Sarapan akan kami sediakan di tempat penelitian, dan akan diberikan 3 jam setelah Anda makan obat. Pada saat kunjungan Anda akan diminta untuk minum satu butir obat antivirus HIV (efavirenz 600 mg) dan dilakukan pengambilan contoh darah dari pembuluh darah di lengan Anda dengan menggunakan jarum suntik. Total pengambilan darah sebanyak 10 kali dengan perincian 7 kali (hari pertama) yaitu pada jam 0, 2, 3, 4, 5, 6, dan jam ke-24. Anda diminta untuk kembali ke tempat pertemuan pada jam 06.30 pada hari ke-3, 5, 7 untuk diambil contoh darahnya masing-masing satu kali. Setelah pengambilan darah terakhir selesai, Anda akan diminta untuk mengonsumsi obat antituberkulosis (rifampisin 450 mg) sekali sehari selama 1 minggu (7 hari) berturut-turut. Anda diminta untuk kembali guna pengambilan contoh darah ulang pagi hari jam 06.30 pada keesokan harinya. Dalam

keadaan puasa $\pm$ 10 jam Anda akan diberi tablet efavirenz, kemudian diambil contoh darahnya seperti minggu sebelumnya (jam 0, 2, 3, 4, 5, 6, dan jam ke-24) dan anda diminta untuk kembali pada jam 06.30 pada hari ke-3, 5. 7. Banyaknya darah yang diambil untuk setiap kali pemeriksaan kadar obat adalah sebanyak satu sendok makan, sedangkan untuk pemeriksaan fungsi hati dan ginjal sebesar setengah sendok makan. Total seluruh pengambilan jumlah darah selama 3 minggu ialah sekitar 1 gelas akua. Jumlah ini tidak berbahaya untuk seseorang yang sehat seperti Anda. Pengambilan darah biasaya menimbulkan rasa nyeri yang ringan, dan terkadang bisa terjadi infeksi. Namun, untuk mencegah terjadinya infeksi sebelum dan sesudah pengambilan darah akan selalu dilakukan pembersihan dengan alkohol 70%.

Bila terjadi infeksi dokter akan memberikan antibiotik yang diperlukan secara cuma-cuma. Kadang-kadang di sekitar tempat tusukan jarum akan timbul memar atau warna biru, hal ini tidak berbahaya dan biasaya sembuh sendiri dalam 4-7 hari.

Satu minggu sebelum dan selama penelitian berlangsung Anda diminta untuk tidak mengkonsumsi obat-obatan apapun maupun jamu. Apabila Anda hendak mengkonsumsi obat-obatan lainnya Anda harus berkonsultasi terlebih dahulu dengan dokter tim peneliti.

Anda akan mendapatkan obat, pemeriksaan laboratorium, dan layanan pengawasan dokter secara cuma-cuma. Selain itu Anda akan mendapat penggantian uang transport sebesar Rp 25.000 pada setiap kunjungan, makan siang diberikan jika pengambilan darah berlangsung sampai siang. Selain itu pada akhir penelitian Anda akan mendapatkan honor sukarelawan sebesar Rp 400.000.

Bila timbul efek samping akibat penelitian ini, Anda akan diberikan pertolongan secara cuma-cuma.

Semua data kesehatan sebelum dan sesudah penelitian yang Anda berikan atau didapatkan melalui pemeriksaan, akan dijaga kerahasiaannya. Selain dari tim peneliti dan Komite Etik Penelitian FKUI, tidak ada pihak lain yang dapat mengetahui identitas Anda.

Anda bebas menolak ikut dalam penelitian ini atau bebas mengundurkan diri pada saat penelitian sedang berjalan. Anda juga bebas menanyakan semua hal yang belum jelas sehubungan dengan penelitian ini.

Bila Anda tidak mentaati instruksi yang diberikan oleh tim peneliti, Anda dapat dikeluarkan dari penelitian ini setiap saat.

Penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Independen Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Bila sewaktu-waktu Anda memerlukan penjelasan, Anda dapat menghubungi dokter Yenny di nomor telpon 021-6660592 atau 08159661333.

Lampiran 2. Lembar persetujuan setelah penjelasan

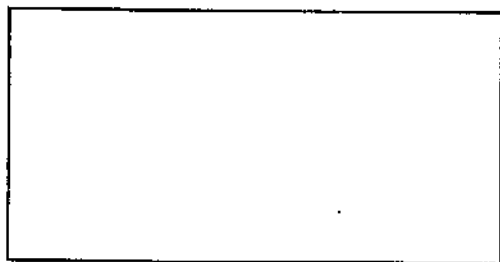
PERSETUJUAN SETELAH PENJELASAN

Saya telah mendapat penjelasan mengenai penelitian tersebut di atas dan semua pertanyaan saya telah dijawab oleh dokter tim peneliti. Saya juga telah diberi cukup waktu untuk mempertimbangkan keikutsertaan saya dalam penelitian ini dan saya mengerti bahwa bila masih memerlukan penjelasan, saya akan mendapat jawaban dari Dr. Yenny.

Dengan menandatangani formulir ini, saya menyatakan setuju untuk ikut serta dalam penelitian ini.

Tanda tangan subyek penelitian:

Tanggal:



(Nama jelas:)

CATATAN HARIAN

Pasien ini sedang berpartisipasi dalam penelitian. Nama dokter yang bertanggung jawab terhadap pasien ini tertera pada halaman ini dan dapat dihubungi nomor telpon yang telah disediakan.

Bila Anda menemukan catatan ini, harap dikembalikan kepada dokter tersebut di bawah ini.

Nomor Skrining :

Inisial Pasien :

Dokter Peneliti :

Dr. Yenny 08159661333

Prof. DR. dr. Rianto Setiabudy, Sp.FK. 0811865749

Dr. Nafrialdi, Sp.PD., PhD. 081315873649

Alamat:

Departemen Farmakologi dan Terapeutik

Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

Jl. Salemba 6 – Jakarta Pusat

(021)31920381

KUNJUNGAN KE-

PENTING: Harap diingat untuk:

- Mengisi catatan harian ini selengkap mungkin.
- Membawa serta catatan harian ini pada kunjungan berikutnya
- Mengembalikan seluruh sisa obat pada kunjungan berikutnya

**CATATAN KEJADIAN EFEK SAMPING OBAT & PENGGUNAAN
OBAT TAMBAHAN**

Tanggal kejadian:

Jam kejadian :() pagi () siang () sore () malam

Apakah Anda mengalami gejala-gejala (seperti gatal, ruam kulit, pusing, sulit konsentrasi, mimpi buruk, sulit tidur, mual, muntah, nyeri perut, nyeri otot)

() Ya () Tidak

Bila Anda mengalami salah satu gejala di atas, harap garis bawahi gejala yang Anda rasakan.

Selain gejala-gejala yang telah disebutkan di atas, adakah gejala-gejala lain yang Anda rasakan? () Ada () Tidak

Bila ada, harap tuliskan gejala tersebut:

Pada saat gejala-gejala tersebut terjadi, tindakan apa yang Anda lakukan ? (Bila Anda meminum obat, maka tuliskan nama, jumlah, dan berapa lama/hari Anda menggunakannya)

Lampiran 4: Jadwal pengambilan sampel darah

[illegible]

[illegible]

[illegible][illegible][illegible]

[illegible]

Tanggal: _____

[illegible]





UNIVERSITAS INDONESIA

FAKULTAS KEDOKTERAN

Jalan Salemba Raya No. 6 Jakarta Pusat

Pos Box 1358 Jakarta 10430

Kampus Salemba Telp. 31930371, 31930373, 3922977, 3927360, 3912477, 3153236, Fax. : 31930372, 3157288, e-mail : office@fk.ui.ac.id

NOMOR : 296 /PT02.FK/ETIK/2009

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK

ETHICAL — CLEARANCE

Panitia Tetap Penilai Etik Penelitian, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian

kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul:

The Committee of The Medical research Ethics of the Faculty of Medicine, University of Indonesia, with regards of the Protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled:

"Interaksi Farmakokinetik Efavirenz dan Rifampisin Pada Sukarelawan Sehat".

Pen eliti Utama : dr.Yenny

Name of the principal investigator

Nama Institusi : Farmakologi FKUI

dan telah menyetujui protocol tersebut di atas.
and approved the above mentioned proposal.

Jakarta, 24 Agustus 2009



Prof. Dr. dr. Agus Firmansyah, SpA(K)

-Peneliti wajib menjaga kerahasiaan identitas subyek penelitian.

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Number 043/CA/STD/ PML/VIII/2009

SAMPLE IDENTITY

Name : Efavirenz
Batch No. : Efv/0701008
Manufacture by : Matrix Laboratories Limited, India

METHOD

Method of Analysis : HPLC - UV
Number : MA-026
Validation Number : 024/VAL/ANDEV/VIII/09

STANDARD IDENTITY

Name : Efavirenz
Formula : $C_{14}H_9ClF_3NO_2$
Chemical name : (S)-6-Chloro-4-(cyclopropylethynyl)-1,4-dihydro-4-(trifluoromethyl)-2H-3,1-benzoxazin-2-one
Lot : FOG376
Traceability : USP (United state Pharmacopeia)
Percent : 99.8%

ANALYSIS CONDITION

Location : PT. Pharma Metric Labs
Date of Analysis : August 20th, 2009
Retest Date : August 20th, 2010
Temperature : 24,0 - 24,5 °C
Relative Humidity : 41 - 42 %

RESULT OF ANALYSIS

Enclosed

Issued Date : August 27th, 2009

PharmaMetric Labs

Merry Christianie, Pharm. MS.
Technical Manager

Number 043/CA/STD/ PML/VIII/2009

Name : Efavirenz
Batch No. : Efw/0701008
Analysis Date : August 20th, 2009

RESULT OF ANALYSIS

Result	CoA
98,24%	98,0 - 102,0 %

EVALUATION

This result of analysis is comply to CoA

Approved by :


PharmaMetric Labs

Merry Christianie, Pharm. MS.
Technical Manager

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Number 043/CA/STD/ PML/VIII/2009

Name : Efavirenz
Batch No. : Efv/0701008
Manufacture by : Matrix Laboratories Limited, India

No.	TESTS	SPECIFICATION	RESULT
1	Description	White to off white powder	off white powder
2	Infrared absorption	Conforms with USP reference standard	conforms
3	Water content (KF)	NMT 1% (CoA)	0,5795%
4	Assay (HPLC Method)	98,0 - 102,0 % (CoA)	98,24%

Storage Preserve in well-closed containers and store at controlled room temperature

CONCLUSION

Efavirenz working standard meet specifications

Approved by : August 27th 2009


PharmaMetric Labs

Merry Christianie, Pharm. MS.
Technical Manager

Lampiran 7

Kadar efavirenz prainduksi rifampisin

0	2(t1)	3(t2)	4(t3)	5(t4)	6(t5)	24(t6)	72(t7)
0,00	1,23	1,10	1,47	1,04	0,90	0,51	0,32
0,00	1,10	1,14	1,00	0,95	0,89	0,44	0,24
0,00	1,42	1,53	2,19	2,50	1,94	0,54	0,34
0,00	1,22	1,28	1,38	0,94	1,89	0,59	0,28
0,00	1,37	1,86	2,04	1,89	1,67	0,33	0,31
0,00	0,64	0,78	1,91	2,47	1,66	0,80	0,18
0,00	2,23	2,66	2,97	2,17	1,07	0,80	0,61
0,00	2,19	1,19	1,11	3,03	0,84	0,49	0,43
Rerata	1,43	1,44	1,76	1,87	1,36	0,56	0,34
SD	0,54	0,59	0,65	0,81	0,48	0,17	0,13

Kadar efavirenz pasca induksi rifampisin

0	2	3	4	5	6	24	72(t7)
0,00	2,57	2,15	1,98	1,67	1,37	0,55	0,19
0,00	0,49	0,98	0,91	0,86	0,74	0,30	0,15
0,00	0,22	0,80	1,88	1,43	1,47	0,35	0,15
0,00	0,48	0,66	1,06	1,26	1,28	0,55	0,19
0,00	1,09	1,07	2,49	1,15	0,35	0,24	0,21
0,00	1,94	2,49	2,47	1,88	1,88	0,50	0,18
0,00	3,70	3,53	2,74	2,38	1,63	0,92	0,27
0,00	1,27	1,50	1,16	0,55	0,42	0,23	0,10
Rerata	1,47	1,65	1,84	1,40	1,14	0,46	0,18
SD	1,20	1,00	0,72	0,58	0,57	0,23	0,05

Lampiran 8: Uji normalitas

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
AUC_pra	.156	8	.200 [*]	.973	8	.922
AUC_pasca	.172	8	.200 [*]	.938	8	.591
Cmax_pra	.161	8	.200 [*]	.950	8	.707
Cmax_pasca	.176	8	.200 [*]	.944	8	.649
Tmax_pra	.205	8	.200 [*]	.931	8	.522
Tmax_pasca	.238	8	.200 [*]	.877	8	.178

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Paired Samples Statistics

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 AUC_pra	46.8037	8	9.26754	3.27657
AUC_pasca	37.2775	8	15.95512	5.64099
Pair 2 Cmax_pra	2.1888	8	.67843	.23986
Cmax_pasca	2.1113	8	.87988	.31108
Pair 3 Tmax_pra	4.5000	8	.92582	.32733
Tmax_pasca	3.3750	8	1.30247	.46049

Paired Samples Test

		Paired Differences						t	df	Sig. (2-tailed)
		95% Confidence Interval of the Difference								
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	Lower	Upper				
Pair 1	AUC_pra - AUC_pasca	9.52625	11.25073	3.98127	.11204	18.94046	2.393	7	.048	
Pair 2	Cmax_pra - Cmax_pasca	.07750	.84691	.29943	-.63053	.78553	.259	7	.803	
Pair 3	Tmax_pra - Tmax_pasca	1.12500	.99103	.35038	.29648	1.95352	3.211	7	.015	

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
AUCinf_pra	.297	8	.036	.791	8	.023
AUCinf_pasca	.208	8	.200 [*]	.927	8	.487

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
logAUCinf_pra	.237	8	.200 [*]	.852	8	.099
logAUCinf_pasca	.145	8	.200 [*]	.958	8	.782

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Paired Samples Statistics

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 logAUCinf_pra	1.9581	8	.15482	.05474
logAUCinf_pasca	1.7441	8	.16767	.05928

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 logAUCinf_pra - logAUCinf_pasca	.21391	.23021	.08139	.02146	.40637	2.628	7	.034

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
tparuh_pra	.218	8	.200*	.918	8	.412
tparuh_pasca	.406	8	.000	.547	8	.000

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
log_tparuh_pra	.152	8	.200*	.970	8	.896
log_tparuh_pasca	.307	8	.025	.671	8	.001

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Wilcoxon's match paired test

Test Statistics^b

	tparuh_pasca - tparuh_pra
Z	-1.183 ^a
Asymp. Sig. (2-tailed)	.237

a. Based on positive ranks.

b. Wilcoxon Signed Ranks Test