

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tuberkulosis atau yang dikenal dengan sebutan TB adalah penyakit yang disebabkan oleh basil *Mycobacterium tuberculosis* yang mana basil ini mampu hidup selama beberapa jam di udara bebas dan mampu bertahan hidup selama bertahun-tahun dalam bentuk tidak aktifnya. Basil *M. tuberculosis* pertama kali ditemukan oleh Robert Koch pada tahun 1882. Organisme ini menyerang organ paru-paru meskipun kadang-kadang juga menyerang organ tubuh manusia yang lain. TB termasuk penyakit yang sudah lama ada di muka bumi, umurnya sama tuanya dengan sejarah manusia. Diduga penyakit TB sudah ada sejak tahun 5000 SM. Di Indonesia sendiri, penyakit TB sudah ada sejak zaman dahulu karena diperkirakan kasus TB tergambar di relief candi Borobudur (Syaifudin *et al.*, 2010).

TB merupakan penyakit yang paling mematikan di dunia setelah penyakit jantung. Pada bulan Maret 1993 WHO (*World Health Organization*) menetapkan bahwa TB menjadi penyakit yang statusnya sangat darurat. Hal itu disebabkan karena sepertiga penduduk dunia terserang oleh penyakit ini yang menyebabkan 3 juta kasus kematian. Menurut data WHO 98% kasus TB terjadi di negara-negara berkembang. Indonesia menempati urutan ke 3 banyaknya kasus TB dengan jumlah total penderita TB sebanyak 10% dari seluruh penderita TB di dunia (Zumla *et al.*, 2013).

Penularan TB dari penderita satu ke penderita yang lain terjadi melalui udara ketika penderita batuk, berteriak, dan bersin. Setelah seseorang terinfeksi oleh bakteri tuberkulosis, maka sistem imunnya akan dikendalikan oleh bakteri ini meskipun infeksi bersifat tersembunyi dan tidak tampak. Ketika penderita TB batuk, udara yang dikeluarkan mengandung banyak kuman tuberkulosis yang bisa masuk ke dalam alveoli individu lain. Selain melalui udara, penyakit TB bisa ditularkan ketika seseorang meminum susu dari sapi yang terinfeksi kuman ini. Karena selain menyerang manusia, *M. tuberculosis* juga menyerang sapi, burung, dan tikus (Girsang, 2009).

Beberapa obat yang telah diperkenalkan untuk mengobati TB antara lain isoniazid (INH), pirazinamid (PZA), dan rifampisin (RIF) (Depkes, 2007). Isoniazid diserap secara difusi pasif oleh bakteri *M. tuberculosis* sebagai *pro-drug* yang kemudian diubah menjadi bentuk aktifnya yaitu radikal asil isonikotinat yang mempunyai aktifitas antimikobakteri. Pengubahan isoniazid menjadi bentuk aktifnya melalui reaksi oksidasi dilakukan oleh enzim katalase-peroksidase. Selanjutnya isoniazid yang telah menjadi bentuk aktifnya dapat menghambat enzim enoil reduktase (InhA) dan β -ketoasil sintase (KasA). Kedua enzim tersebut berperan aktif dalam biosintesis asam mikolat, yaitu komponen utama dinding sel *M. tuberculosis* (Pretorius, *et al.*, 1995; Yu, *et al.*, 2002; Atalay, *et al.*, 2004).

Isoniazid (*pro-drug*) hanya dapat diaktifasi menjadi bentuk aktifnya, radikal asil isonikotinat (*drug*), oleh enzim katalase-peroksidase. Beberapa penelitian melaporkan bahwa *M. tuberculosis* yang gen *katG*nya mengalami defisiensi, apabila gen *katG* yang defisiensi ini dikomplementasikan dengan

katG yang fungsional akan memunculkan kembali sifat sensitifnya terhadap isoniazid (Zhang, *et al.*, 1996; Manca, *et al.*, 1999; Pym, *et al.*, 2002).

Protein katalase-peroksidase yang disandi oleh gen *katG* merupakan obyek yang sangat penting dalam penelitian untuk mengungkap resistensi *M. tuberculosis* terhadap isoniazid dan berperan penting dalam disain obat anti TB yang baru. Sebuah penelitian telah dilakukan untuk menganalisis secara molekular terhadap gen-gen yang terdapat dalam isolat klinis *M. tuberculosis*. Dari penelitian tersebut ditemukan adanya mutas-mutasi baru yang terjadi pada gen *katG* (Purkan, *et al.*, 2009). Ekspresi gen *katG* menjadi enzim katalase-peroksidase dilakukan di dalam sel *E. coli* dengan menggunakan plasmid pColdII-*katG wild type* (Purkan, 2011).

Ekspresi gen merupakan tahapan reaksi biosintesis protein yang diawali oleh transkripsi rantai DNA menjadi RNA, selanjutnya RNA akan diterjemahkan menjadi asam amino-asam amino sebagai penyusun protein. Pada tahapan translasi atau penerjemahan RNA menjadi asam amino, terjadi pembentukan rantai polipeptida yang hasilnya disebut sebagai protein. Selagi proses translasi berlangsung, pada saat itu juga berlangsung proses pelipatan protein membentuk struktur tiga dimensinya. Fungsi protein bergantung pada strukturnya, jika terjadi kesalahan pada struktur protein maka fungsi protein akan menurun atau bahkan hilang sama sekali.

Proses ekspresi gen yang berlebih seringkali diikuti oleh adanya kesalahan pelipatan protein membentuk struktur tiga dimensinya. Kesalahan pelipatan ini dapat diperbaiki oleh molekul yang disebut *chaperone* yang memiliki fungsi

mencegah terjadinya salah pelipatan dan agregasi di dalam lingkungan yang padat di dalam sel akibat ekspresi gen yang tinggi. *Nascent polypeptide* (polipeptida yang baru ditranslasi) berikatan dengan *chaperone*, termasuk faktor pemicu, yang menstabilkan perpanjangan rantai polipeptida di ribosom (Hartl and Hartl., 2002).

Peran *chaperone* sangat penting untuk meningkatkan fungsi protein yang akan diekspresi. Sebuah riset telah melaporkan tentang koekspresi *chaperone* pET-lipase dengan enzim lipase dan dilaporkan terjadi peningkatan aktivitas lipase yang dihasilkan (Ksenia, *et al.*, 2013). Pada Penelitian ini akan digunakan plasmid rekombinan pG-KJE8 sebagai sumber *chaperone* yang akan di koekspresi dengan *katG* pada pColdII-*katG wild type* di dalam sel inang *E. coli* BL21. *E. coli* BL21 adalah strain yang biasa digunakan untuk memproduksi protein rekombinan. Strain ini tumbuh dan mudah dikendalikan, berbeda dengan faktor lingkungan seperti konsentrasi glukosa dan oksigen. Perbedaan ini dihubungkan terhadap ekspresi gen individu yang terdapat dalam jalur metabolisme tertentu yang merupakan bagian dari pusat metabolisme karbon.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah sel *E. coli* BL21 (*DE3*) dapat ditransformasi dengan plasmid pG-KJE8 dan plasmid pColdII-*katG wild type*?
2. Bagaimana pengaruh koekspresi *chaperone* terhadap tingkat ekspresi gen *katG* melalui profil SDS-PAGE?
3. Bagaimana pengaruh *chaperone* terhadap aktivitas katalase-peroksidase?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Melakukan transformasi bakteri *E. coli* BL21 (*DE3*) dengan plasmid pG-KJE8 dan plasmid pColdII-*katG* wild type.
2. Menentukan pengaruh koekspresi *chaperone* terhadap tingkat ekspresi gen *katG* melalui profil SDS-PAGE.
3. Menentukan pengaruh *chaperone* terhadap aktivitas katalase-peroksidase.

1.4 Manfaat Penelitian

Berdasarkan uraian latar belakang maka di atas diharapkan penelitian ini dapat menyumbangkan konsep ilmu berkaitan dengan pengembangan pengobatan penyakit TB.

