

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Tuberkulosis (TB) merupakan salah satu penyakit yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*. Pada tahun 2008, diperkirakan sebanyak 2 ribu orang meninggal terinfeksi oleh *M. tuberculosis* (WHO, 2010). Indonesia termasuk peringkat kelima setelah India, China, Afrika Selatan dan Nigeria dalam menyumbang TB di dunia (WHO, 2010). Masalah tuberkulosis diperparah dengan adanya kekebalan ganda bakteri *Multidrug Resistance* (MDR) TB terhadap obat anti tuberkulosis (Lina, 2007). Isozianid, rifampisin, pirazinamid, etambutol merupakan obat anti tuberkulosis (OAT).

Isoniazid atau hidrazid asam 4-piridinkarboksilat (INH) digunakan sebagai obat andalan dalam terapi TB, disebabkan oleh harganya yang murah dan efek bakterisidalnya yang tinggi. INH dapat membunuh *M. tuberculosis* pada konsentrasi hambatan minimum (*minimum inhibitory concentration*, MIC) yang cukup rendah, yaitu sebesar 0,02 – 0,06 µg/mL. Mekanisme kerja INH dan perkembangan resistensi *M. tuberculosis* terhadap obat ini adalah sangat kompleks dan belum terdefinisi dengan jelas.

KatG memediasi sifat sensitif dan resisten *M. tuberculosis* terhadap INH. Salah satu penelitian menunjukkan bahwa *M. tuberculosis* yang defisiensi *katG*, sehingga resisten terhadap INH, ketika dikomplementasi dengan *katG* yang fungsional dapat memunculkan kembali sifat sensitif terhadap INH (Zhang, 1996; Pym, 2002; Vincent, 2004). Sementara itu, delesi total gen *katG* pada *M.*

*tuberculosis* menimbulkan sifat resisten terhadap INH (Zhang, 1996; Rouse, 1996). Walaupun demikian, hilangnya katalase-peroksidase pada *M. tuberculosis* tidak dapat menjelaskan mekanisme resistensi INH yang universal, sebab delesi total *katG* jarang ditemukan pada isolat klinis *M. tuberculosis* yang resisten INH (Pretorius, 1995; Atalay, 2004).

Katalase-peroksidase *M. tuberculosis* merupakan satu-satunya enzim yang mengaktivasi isoniazid (*prodrug*) menjadi radikal asil isonikotinat dan berperan sebagai obat aktif anti mikobakteri. Varian protein KatG menjadi obyek penelitian yang sangat penting dalam mengungkap mekanisme resistensi INH dan riset disain obat anti TB. Gen-gen *katG* mutan dari enam isolat klinis *M. tuberculosis* resisten isoniazid dan sebuah gen *katG wild type* telah diklon dalam sel inang *Escherichia coli* dengan menggunakan vektor ekspresi pCold II-DNA. Analisis molekuler yang telah dilakukan terhadap gen-gen *katG* isolat klinis ini, berhasil menemukan sejumlah mutasi baru gen *katG* yang belum terpublikasi (Purkan, 2009). Ekspresi protein KatG rekombinan telah dilakukan menggunakan vektor pCold II-DNA dan menghasilkan protein fusi dengan tambahan enam residu histidin di bagian ujung N (Purkan, 2011). Ekspresi menggunakan vektor pCold II-DNA berlangsung tinggi dan memerlukan induksi pada temperatur dingin (Kazuyo, 1998).

Efek dari terjadi ekspresi tinggi pada protein sering disertai terjadinya *misfolding* yaitu kesalahan pelipatan rantai polipeptida selama proses biosintesis protein (Zhong, 2011). Adanya *misfolding* ini dapat menimbulkan gangguan fungsi protein atau terbentuknya *inclusion bodies* yaitu protein tak larut yang

tidak memiliki fungsi. Pengaturan pelipatan protein yang mengarah pada pembentukan struktur protein yang tepat menjadi bagian penting dalam ekspresi protein tersebut. Di dalam sel kerja ini umumnya dikerjakan oleh molekul chaperone.

Chaperone merupakan molekul protein yang kerjanya di dalam sel membantu proses pelipatan protein *nascent* sehingga dapat membentuk struktur yang fungsional. Molekul chaperone disebut juga protein heat shock (Hsp). Peran dari chaperon sebagai pusat integrasi dari protein di dalam sel dan membantu membentuk lipatan molekul kompleks protein. Molekul chaperone akan menstabilkan protein yang melipat sebagian, perakitan, translokasi melintasi membran dan degradasi. Molekul chaperone ditampikan untuk berikatan dengan rantai polipeptida yang baru ditranslasi (*nascent polypeptides*) atau melipat sebagian (*intermediate folding*) dalam rangka mencegah agregasi dan salah melipat. Lipatan dari protein yang baru ditranslasi di dalam sel diperankan oleh lebih dari satu macam chaperon. Beberapa chaperone yang berimplikasi pada pelipatan protein adalah famili *Hsp40 (DnaJ)*, *Hsp60(GroEL)*, dan *Hsp70 (DnaK)*.

Peran chaperone sangat penting untuk meningkatkan fungsi dari protein yang akan diekspresi. Beberapa riset telah melaporkan tentang koekspresi chaperone pET-lifPcd dengan enzim lipase dan dilaporkan terjadi peningkatan aktivitas lipase yang dihasilkan (Ksenia, 2013). Pada penelitian ini akan digunakan plasmid rekombinan pG-KJE8 sebagai sumber chaperone yang akan dikoekspresi dengan *katG* pada pCold II-DNA.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang permasalahan yang telah diuraikan, dapat dirumuskan permasalahan antara lain :

1. Apakah bakteri *E. coli* BL21 (*DE3*) dapat ditransformasi dengan plasmid pGKJE8 dan plasmid rekombinan pCold II-*katG* L8?
2. Bagaimana pengaruh chaperone terhadap ekspresi enzim katalase peroksidase pada *E.coli* BL21 (*DE3*) pCold II-*katG* L8 dilihat dari hasil SDS-PAGE?
3. Apakah terjadi peningkatan aktivitas katalase dan peroksidase dari protein KatG sebelum dan setelah diekspresi dengan chaperone pGKJE8?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengidentifikasi bakteri *E.coli* BL21 (*DE3*) yang mengandung plasmid pG-KJE8 dan pCold II-*katG* L8.
2. Mengetahui pengaruh chaperone terhadap ekspresi enzim katalase peroksidase pada *E.coli* BL21 (*DE3*) pCold II-*katG* L8 dari SDS-PAGE.
3. Mengetahui peningkatan aktivitas katalase dan peroksidase dari varian protein KatG sebelum dan sesudah diekspresi dengan chaperone pGKJE8.

#### 1.4 Manfaat Penelitian

Dari uraian latar belakang di atas maka dapat diambil dari beberapa manfaat pada penelitian ini antara lain :

1. Penelitian tentang pengaruh chaperone terhadap ekspresi protein KatG pada *Escherichia coli* BL21 (DE3) dapat dijadikan sebagai acuan dasar pengembangan diagnosis dan obat anti tuberkulosis.
2. Memberikan konsep ilmu dalam menerangkan mekanisme chaperone terhadap ekspresi protein KatG.

