

# C29 Turnitin L. R. Telly Savalas

*by* Lalu Rudyat Telly Savalas C29

---

**Submission date:** 21-Feb-2022 12:17PM (UTC+0700)

**Submission ID:** 1767304237

**File name:** C29 STUDI PENDAHULUAN INFEKSI LATEN.pdf (2.11M)

**Word count:** 1041

**Character count:** 6632

## STUDI PENDAHULUAN INFEKSI LATEN *Mycobacterium tuberculosis* DENGAN MENARGETKAN PROTEIN TIROSIN FOSFATASE

Lalu Rudyat Telly Savalas<sup>1,2)</sup>, Prapti Sedijani<sup>1,2)</sup>, Jannatin 'Ardhuha<sup>1)</sup> Asih Chomsa Lestari<sup>3)</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Pendidikan MIPA, FKIP Universitas Mataram  
Jl. Majapahit No. 62 Mataram, NTB 83125

Telepon (0370) 623873

e-Mail : telly@unram.ac.id

<sup>2</sup>Kelompok Penelitian Biosains dan Bioteknologi Universitas Mataram  
Jl. Majapahit No. 62 Mataram, NTB 83125

<sup>3</sup>Program Studi Kimia FMIPA Universitas Mataram

Bandung, 3 - 4 Desember 2015

### ABSTRAK

Masalah yang ditimbulkan *Mycobacterium tuberculosis* telah dihadapi dengan usaha di beberapa lini. Pencegahan kasus TB telah diupayakan dengan penerapan vaksin dan penelitian untuk mengembangkan vaksin generasi baru. Sementara itu, usaha kuratif terhadap pasien penderita telah dilakukan dengan penggunaan antibiotika. Sejalan dengan munculnya strain MDR dan XDR *M. tuberculosis*, antibiotika baru juga banyak diteliti. Dalam makalah ini akan dipaparkan aspek lain dari *M. tuberculosis*, yaitu infeksi latennya. Infeksi laten *Mtb* dikaitkan dengan sekresi beberapa protein oleh *Mtb* yang membantunya melawan sistem degradasi dalam sel makrofaga. Akibatnya, sel *Mtb* dapat selamat dan terus hidup dalam fasa dorman. Protein tirosin fosfatase A dan B (PtpA dan PtpB) adalah dua protein dari *Mycobacterium tuberculosis* yang dikaitkan dengan infeksi laten *Mtb*. Makalah difokuskan pada ekspresi dan karakterisasi awal kinetika protein rekombinan PtpA dari *Mtb* yang diharapkan menjadi landasan untuk penelitian lebih lanjut mengenai kemungkinan mencegah infeksi laten *Mtb*.

Kata Kunci : *Mycobacterium tuberculosis*, infeksi laten, Protein tirosin fosfatase A

### I. PENDAHULUAN

Penyakit tuberkulosis atau TB disebabkan oleh infeksi bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Meskipun telah lama dikenal, penyakit ini masih menjadi masalah besar sehingga dimasukkan dalam agenda milenium. Sejauh ini, upaya pencegahan melalui vaksinsi BCG telah dilakukan namun efektivitasnya masih dipertanyakan, sehingga saat ini masih dikembangkan beberapa kandidat vaksin yang telah memasuki fasa uji klinik<sup>[1]</sup>. Untuk tindakan kuratif, penggunaan antibiotik telah lama diperkenalkan dan telah dapat menolong banyak penderita. Akan tetapi biaya pengobatan yang mahal serta perlunya tindakan pengobatan yang lama menjadi hambatan dalam penanganan kasus TB, sehingga tingkat kematian akibat penyakit ini masih tinggi. Masalah dalam tindakan pengobatan TB juga dipersulit dengan munculnya strain *Mtb* yang resisten terhadap antibiotik (MRD dan XRD).

Di luar kedua pendekatan di atas, masalah infeksi laten *Mtb* juga saat ini semakin mendapat perhatian, karena WHO memperkirakan infeksi laten terjadi pada hampir sepertiga populasi manusia<sup>[2]</sup>. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa infeksi laten *Mtb* terkait dengan sekresi beberapa protein *Mtb* setelah bakteri ini ditelan oleh sel makrofaga. Sekresi protein-protein tersebut memodulasi sel inang sehingga sistem mencegah terjadinya penggabungan fagosom (yang mengandung bakteri *Mtb*) dengan struktur bermembran lain yaitu lisosom<sup>[2,3,4]</sup>. Terhalangnya fusi antara fagosom dengan lisosom akan menghindarkan *Mtb* dari degradasi oleh enzim-enzim hidrolitik dan suasana asam yang berasal dari lisosom. Pada kondisi demikian, sel *Mtb* dapat bertahan hidup dan selanjutnya menjalani siklus latennya.

Beberapa protein yang disekresi oleh sel *Mtb* adalah Protein tirosin fosfatase A (PtpA), PtpB, PtpC, PknG dan beberapa protein lain. Dalam studi

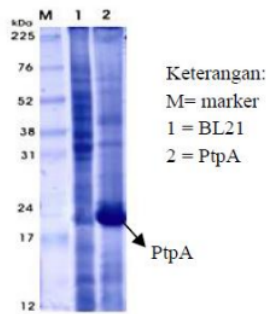
ini dilakukan ekspresi dan karakterisasi awal kinetika PtpA sebagai langkah awal untuk melakukan studi inhibisi terhadap PtpA, dengan tujuan akhir untuk mendapatkan kandidat inhibitor PtpA (dan juga protein virulens lain dari Mtb) yang berpotensi untuk mencegah infeksi laten Mtb.

## II. METODE

*Escherichia coli* strain BL21(DE3) ditransformasi dengan plasmid rekombinan pET-30b-PtpA menggunakan elektroporator. Sel *E. coli* transforman diseleksi pada media Lysogeny Broth yang mengandung antibiotik kanamisin 30 ug/mL. Untuk produksi, sel *E. coli* transforman ditumbuhkan pada media LB cair mengandung kanamisin pada suhu 37°C. Ekspresi protein diinduksi dengan isopropil beta-tiogalaktosida (IPTG) dengan konsentrasi 0,5 mM. Sel dipanen setelah dicapai OD<sub>600</sub> sebesar 0,6. Lisis sel dilakukan dengan sonikasi dan ekspresi PtpA dianalisis dengan SDS-PAGE. Aktivitas fosfatase PtpA diujikan terhadap substrat *para*-Nitrofenil fosfat (pNPP). Hidrolisis substrat ini akan melepaskan kromofor p-Nitrofenil yang memiliki serapan maksimum pada 410 nm. Analisis kinetika lebih lanjut protein rekombinan PtpA dilakukan untuk mendapatkan kondisi reaksi optimum (*time-course*, suhu dan pH optimum).

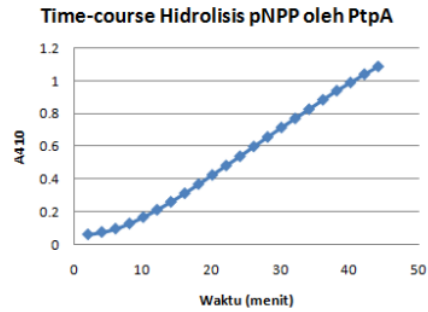
## III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekspresi PtpA dalam sel *E. coli* dengan induksi IPTG menunjukkan bahwa protein ini dapat diekspresi dengan baik, sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 1.



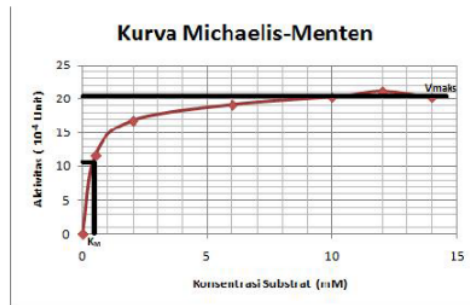
Gambar 1. Ekspresi PtpA pada sel *E. coli* dengan induksi IPTG. PtpA tampak sebagai pita tebal berukuran 17-19 kDa.

Ekstrak kasar mengandung PtpA diujikan aktivitasnya terhadap substrat *para*-Nitrofenil fosfat dan hasilnya ditunjukkan pada Gambar 2 berikut:

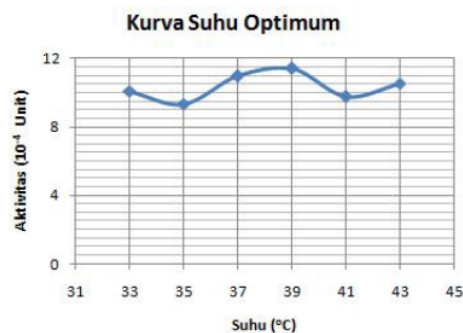


Gambar 2. Pengujian awal aktivitas PtpA terhadap substrat *para*-Nitrofenil fosfat

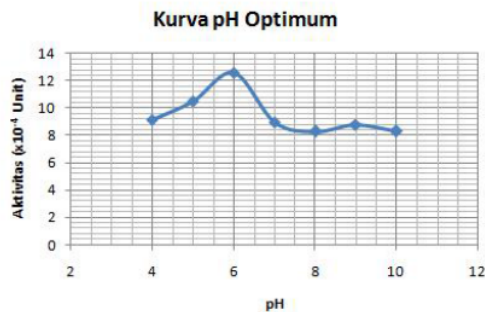
Pengujian parameter kinetika lebih lanjut dilakukan untuk mendapatkan nilai tetapan Michaelis-Menten ( $K_M$ ), suhu dan pH optimum bagi PtpA rekombinan, yang hasilnya ditunjukkan pada Gambar 3-5.



Gambar 3. Penentuan nilai tetapan Michaelis-Menten protein PtpA



Gambar 4. Suhu optimum reaksi PtpA



Gambar 5. pH optimum reaksi PtpA

Hasil-hasil dalam penentuan parameter kinetika PtpA yang didiskripsikan di atas menunjukkan bahwa PtpA telah dapat diekspresikan di dalam *E. coli* dalam bentuk aktif. Kondisi optimum reaksi PtpA telah dapat ditetapkan meskipun hanya menggunakan ekstrak kasar *E. coli* yang belum dimurnikan. Hal ini dimungkinkan karena tingkat ekspresi dan aktivitas yang sangat tinggi dari PtpA yang diperoleh.

Untuk melakukan studi inhibisi PtpA dan protein Mtb lain, pendekatan bioinformatika sebagai langkah awal dapat digunakan, sebagaimana telah dilaporkan oleh Dhanjal, *et al*<sup>[5]</sup>, sedangkan untuk pelaksanaan assay inhibisi dapat digunakan pendekatan yang telah dilaporkan oleh beberapa peneliti lain<sup>[3,4]</sup>.

7

#### IV. KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa telah dapat dilakukan ekspresi dan optimasi kondisi reaksi optimum bagi protein tirosin fosfatase PtpA dari *M. tuberculosis*. Hasil ini penting untuk digunakan dalam penelitian berikutnya untuk mencoba beberapa kandidat inhibitor protein tirosin fosfatase. Dengan cara yang sama, protein PtpB juga dapat diekspresi dan ditentukan kondisi reaksi optimumnya sehingga secara bersamaan dapat diuji inhibisinya dengan kandidat inhibitor, karena PtpA dan PtpB telah dilaporkan memiliki inhibitor yang mirip.

#### V. DAFTAR PUSTAKA

- [1] Parida, S.K. and Kaufman, S.H.E. 2010. Novel tuberculosis vaccines on horizon, *Curr. Opin. Immunology*, 22:374-384.
- [2] Meena, L.S. and Rajni. 2010. Survival mechanisms of pathogenic *Mycobacterium tuberculosis* H37RV, *FEBS Journal* 277, 2416-24127.
- [3] Chiaradia, Louise Domeneghini, *et al.* 2008. *Synthetic chalcones as efficient inhibitors of Mycobacterium tuberculosis protein tyrosine phosphatase PtpA*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 18 (2008) 6227-30.
- [4] Mascarello, A., *et al.* 2013. Discovery of *Mycobacterium tuberculosis* Protein tyrosine phosphatase B (PtpB) inhibitors from natural products. *PLOS ONE* 8(10): E77081.
- [5] Dhanjal, Jaspreet Kaur *et al.* 2014. *Structural Insights into Mode of Action of Novel Natural Mycobacterium Protein Tyrosine Phosphatase B Inhibitors*. *Dhanjal et al BMC Genomics* 2014, 15(Suppl 1):S3. <http://www.biomedcentral.com/1471-2164/15/S1/S3>.

# C29 Turnitin L. R. Telly Savalas

## ORIGINALITY REPORT

13%

SIMILARITY INDEX

12%

INTERNET SOURCES

10%

PUBLICATIONS

%

STUDENT PAPERS

## PRIMARY SOURCES

1	<a href="http://repository-tnmgrmu.ac.in">repository-tnmgrmu.ac.in</a> Internet Source	2%
2	<a href="http://cyberleninka.org">cyberleninka.org</a> Internet Source	2%
3	<a href="http://jipp.unram.ac.id">jipp.unram.ac.id</a> Internet Source	2%
4	<a href="http://paperity.org">paperity.org</a> Internet Source	2%
5	<a href="http://etd.aau.edu.et">etd.aau.edu.et</a> Internet Source	2%
6	<a href="http://journal.unnes.ac.id">journal.unnes.ac.id</a> Internet Source	1%
7	<a href="http://ejurnal.its.ac.id">ejurnal.its.ac.id</a> Internet Source	1%
8	Dhanjal, Jaspreet Kaur, Sonam Grover, Sudhanshu Sharma, Ajeet Singh, and Abhinav Grover. "Structural insights into mode of actions of novel natural Mycobacterium	1%

# protein tyrosine phosphatase B inhibitors", BMC Genomics, 2014.

Publication

---

---

Exclude quotes      On

Exclude matches      Off

Exclude bibliography      On