BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Banyak penelitian dilakukan mengenai faktor virulensi dari *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) untuk mendapatkan antigen yang lebih efektif sebagai kandidat vaksin maupun agen serodiagnostik. Hal ini menandakan dibutuhkannya antigen dalam jumlah yang besar. Antigen merupakan suatu molekul yang berikatan pada suatu antibodi atau suatu reseptor sel T (T-*cell receptor* atau TCR) (Abbas dan Lichtman, 2011).

Studi serologis membuktikan bahwa antigen 38 kDa H37Rv *M. tuberculosis* mengandung epitop spesifik yang bersifat imunodominan terhadap virulensi *M. tuberculosis*. Oleh karena itu, Ag38 merupakan kandidat yang potensial untuk digunakan sebagai agen diagnostik maupun kandidat vaksin. Antigen ini muncul sangat sedikit pada vaksin strain BCG yang merupakan suatu substansi yang bersifat avirulen yang berasal dari *M. bovis*. Antigen ini juga dapat digunakan sebagai pembeda antara infeksi karena kompleks *M. tuberculosis* maupun spesies mikobakteria yang lain (*Mycobacteria Other Than Tuberculosis* atau MOTT) (Singh, et. al., 1992).

Purifikasi antigen *M. tuberculosis* secara langsung (*directly*) sangat sulit karena hasil kultur yang sangat sedikit akibat lamanya masa proliferasi sel bakteri *M. tuberculosis*, serta virulensi natural di lingkungan (Kadival, Chapras, dan Hussong, 1987). Produksi antigen *mycobacterial* secara masal dengan menggunakan sistem konvensional juga mengalami beberapa kesulitan, seperti

fasilitas laboratorium yang mahal, kesulitan dalam identifikasi protein dan reduksi imunogenitas setelah purifikasi (Cheng, et. al., 2005).

Solusi yang paling potensial adalah memproduksi antigen secara rekombinan dengan mengisolasi gen dari *M. tuberculosis* dan disisipkan ke dalam vektor atau plasmid, kemudian diekspresikan ke organisme lain, seperti bakteri, *yeast*, dan sel mamalia. Plasmid merupakan DNA ekstra kromosom yang telah direkayasa untuk mengoptimalkan penggunaannya sebagai vektor dalam kloning DNA. Kebanyakan vektor plasmid mengandung nukleotida yang sedikit lebih panjang dibandingkan urutan nukleotida esensial yang diperlukan untuk kloning DNA, yaitu : asal replikasi (*origin of replication*) dan *multicloning site*, daerah dimana fragmen DNA eksogen dapat disisipkan (Lodish, Berk, dan Zipursky, 2000). Organisme yang paling sering digunakan sebagai *host* untuk mempro-duksi protein rekombinan adalah *E. coli* (Singh, et. al.,1992). Dengan teknologi DNA rekombinan menggunakan sistem ekspresi bakterial, khususnya *E. coli,* mampu menghasilkan jumlah protein rekombinan yang sangat besar (Hartley dan Kane, 1988; Marston, 1986). Beberapa protein *M. tuberculosis* yang telah dipro-duksi secara rekombinan antara lain : Ag19kDa, ESAT 6, CFP 10, dan Ag38kDa.

Gen pab dari *M. tuberculosis* telah diklon dan diekspresikan di *E. coli* untuk menghasilkan protein Ag38 rekombinan secara intraselular dengan sistem heterolog bakteri *E. coli* DH5α (Raras dan Lyrawati, 2011). Namun, untuk purifikasi, karena protein Ag38 tidak larut, yaitu berbentuk *inclusion bodies*, maka hasil purifikasi juga rendah, sehingga diperlukan usaha untuk meningkatkan kemurnian (*purity*). Beberapa cara untuk meningkatkan kemurnian protein antigen, antara lain dengan mengoptimalkan proses purifikasi dengan melakukan pergantian kolom kromatografinya seperti *ion exchange, kation exchange,* dan

lain-lain. Adapun, salah satu cara yang dapat digunakan adalah dengan cara mendenaturasi dan renaturasi *inclusion bodies* (Machery-Nagel, 2006).

Pada penelitian ini, kami bermaksud untuk meningkatkan kemurnian protein yang tinggi dengan cara melarutkan *inclusion bodies* menggunakan urea.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah denaturasi protein Ag38 dengan menggunakan urea dapat meningkatkan kemurnian protein?

1.3 Tujuan Penelitian

Mendapatkan protein antigen 38 kDa *M. tuberculosis* yang meningkat kemurniannya dengan menggunakan tehnik denaturasi protein menggunakan urea.

1.4 Manfaat Akademis

Hasil penelitian ini diharapkan mampu menambah khasanah ilmu pengetahuan di bidang kedokteran mengenai tehnik purifikasi protein Ag 38 kDa *M. tuberculosis* yang tengah dikembangkan oleh Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya sehingga mampu memperoleh tingkat kemurnian protein yang paling optimum.