

BAB I

PENDANULUAN

1.1. Latar Belakang

Mikroorganisme mempunyai pengaruh yang sangat besar dalam kehidupan manusia. Kerugian paling besar yang ditimbulkan oleh mikroorganisme adalah penyakit infeksi. Pengobatan penyakit ini dapat dilakukan dengan pemberian antibiotik, tetapi belakangan ini makin banyak ditemukan kuman penyebab penyakit infeksi yang resisten terhadap antibiotik. Hal ini disebabkan oleh pemberian obat antibiotika yang tidak rasional, sehingga kuman semakin cepat menemukan bentuk baru yang kebal terhadap antibiotik akibat perubahan genetik yang terjadi. Untuk mengatasi masalah resistensi tersebut diperlukan antibiotik jenis baru yang lebih efektif.

Penisilin merupakan antibiotik yang pertama kali ditemukan oleh Alexander Fleming pada tahun 1929. Substansi antibakteri ini dihasilkan oleh jamur *Penicillium notatum* (Crueger & Crueger, 1982). Antibiotik ini merupakan antibiotik golongan β -laktam yang pertama kali ditemukan dan sanggup melawan bakteri Gram positif, tetapi memiliki keterbatasan untuk melawan bakteri Gram negatif dan sangat rentan terhadap bakteri penghasil β -laktamase. β -laktamase yaitu enzim yang menghidrolisis cincin β -laktam menjadi senyawa yang tidak aktif secara biologis.

Penisilin memiliki toksisitas yang rendah pada manusia dan aktivitas antibakteri yang sangat efektif. Karena sifatnya tersebut maka penisilin dipakai secara luas di seluruh dunia untuk pengobatan penyakit infeksi (Gale, *et al.*, 1981). Penggunaan penisilin juga menimbulkan dampak yang cukup serius, yaitu adanya gejala resistensi beberapa mikroorganisme tertentu.

Salah satu usaha untuk mengatasi masalah resistensi ini adalah mencari varian-varian penisilin baru dengan cara membuat antibiotik semisintetis turunan penisilin alami. Penisilin semisintetis ini diharapkan memberikan sifat yang lebih

stabil dan lebih mudah diabsorpsi, serta lebih sedikit efek sampingnya dibandingkan dengan Penisilin G .(Valle, *et al.*, 1991)

Penisilin Asilase merupakan enzim yang menghidrolisis Penisilin G menjadi senyawa 6-aminopenisilamat (6-APA) yang merupakan senyawa intermediet untuk menghasilkan senyawa penisilin semisintetis. Dari senyawa **6-APA** tersebut dapat disintesis senyawa turunan penisilin (Valle, *et al.*, 1986; Meevootisom & Saunders, 1987; Martin, *et al.*, 1995). Kebutuhan senyawa **6-APA** yang digunakan untuk memproduksi penisilin semisintetis diperkirakan akan meningkat sampai 7.000 ton pada tahun 2000 (Shewale & Sivaraman, 1989; Ospina, *et al.*, 1991). Saat ini lebih dari 15 penisilin semisintetis yang dijual merupakan turunan dari senyawa 6-APA (Illanes, *et al.*, 1994) dan lebih dari 60% diproduksi secara enzimatik.

Penisilin V Asilase dapat diproduksi secara ekstraseluler atau intraseluler tergantung dari bakteri yang menghasilkannya. Pada *Escherichia coli* Penisilin V Asilase bersifat intraseluler, tapi pada *Bacillus megaterium* enzim ini bersifat ekstraseluler (Vandamme & Voets, 1974; Rodriguez, *et al.*, 1991). *E. coli* menghasilkan Penisilin V Asilase berupa protein periplasmik sehingga sel-selnya harus dilisis dahulu agar enzim dapat dipanen (Ospina, *et al.*, 1992), sedangkan *Bacillus megaterium* mensekresikan Penisilin V Asilase ke dalam medium kultur sehingga produksi enzim akan lebih menguntungkan (Illanes, *et al.*, 1994; Martin, *et al.*, 1995).

Bacillus sp. strain BAC5 adalah bakteri yang termasuk ke dalam 10 strain lokal yang diberi nama BAC, yang diketahui dapat menghasilkan Penisilin V Asilase (**PVA**) di antara 160 isolat yang berhasil diisolasi dari berbagai daerah di Indonesia. Bakteri ini termasuk Gram positif berbentuk batang. Kondisi optimum produksi PVA adalah pada pH 7 dan suhu 14⁰C.

Saat ini dari 10 isolat BAC yang telah diisolasi hanya ada 5 isolat yang berhasil dipertahankan, yaitu BAC1 sampai BAC5. Penelitian mengenai karakterisasi enzim dan gen pengkode Penisilin G Asilase (PGA) telah dilakukan oleh Ratnaningsih, *et al.*, (1999), akan tetapi masih menghadapi berbagai kendala, Selanjutnya penelitian mengenai spesifisitas substrat (Utami, *et al.*, 2001) telah

dilakukan dan ditemukan bahwa strain **BACS** memiliki spesifisitas substrat Penisilin V Asilase yang paling tinggi di antara keempat strain yang lainnya. Oleh karena itu perlu diupayakan penelitian mengenai gen pengkode enzim Penisilin V Asilase *Bacillus sp.* strain **BACS**. Dalam penelitian ini fragmen gen **PVA** *Bacillus sp.* strain **BACS** akan diamplifikasi menggunakan pendekatan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan primer-primer yang didesain menurut urutan basa gen *PGA Bacillus subtilis*.

1.2. Identifikasi Masalah

Apakah gen Penisilin V Asilase dari *Bacillus sp.* strain **BACS** bisa diamplifikasi secara *in vitro* dengan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)?

1.3. Maksud dan Tujuan

Maksud dan tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengamplifikasi gen pengkode Penisilin V Asilase dari *Bacillus sp.* strain **BACS** dengan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

1.4. Kegunaan Penelitian

Usaha amplifikasi gen pengkode Penisilin V Asilase dari *Bacillus sp.* strain **BACS** dapat digunakan sebagai langkah awal untuk menentukan urutan nukleotida gen **PVA** bakteri ini sehingga manipulasi genetik terhadap gen ini bisa dikembangkan. Tujuan akhirnya yaitu agar dapat digunakan untuk produksi enzim Penisilin Asilase yang sudah direayasa secara genetik sehingga dapat digunakan untuk membuat antibiotik semisintetik turunan penisilin yang baru, yang dapat dipakai untuk mengatasi masalah resistensi yang sedang berkembang saat ini.

1.5. Metodologi

Eksperimental eksploratif

1.6. Lokasi dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Ilmu Kedokteran Dasar, Fakultas Kedokteran-Universitas Kristen Maranatha dan berlangsung dari bulan Maret sampai Mei 2001.