

BAB I

PENDAHULUAN

1. Latar Belakang

Difteri merupakan penyakit pernapasan menular yang menjadi penyebab utama kematian pada anak-anak di seluruh dunia (Hadfield *et al.*, 2000). Penyakit ini telah dikenal sejak masa Hippocrates, yang mendeskripsikan difteri pertama kali pada abad ke-5 SM (CDC, 2015). Infeksi difteri dapat terjadi pada saluran pernapasan ataupun kulit, namun difteri pernapasan adalah jenis difteri yang paling umum ditemui (Kolybo, 2013; WHO, 2018). Pada tahun 2017, terdapat 939 kasus difteri di Indonesia dengan 44 kasus dinyatakan meninggal, dan sebagian besar terjadi pada kelompok usia 5-9 tahun dan 1-4 tahun (Hartoyo, 2018).

Difteri disebabkan oleh bakteri spesies *Corynebacterium*, terutama *Corynebacterium diphtheriae* yang menghasilkan racun (WHO, 2018). Pada tahun 1888, Roux dan Yersin mengemukakan bahwa toksin difteri (DT), suatu toksin ekstraseluler yang dihasilkan *C. diphtheriae* ketika berada di dalam tubuh, berperan dalam infeksi (Malito *et al.*, 2012). Toksin yang dilepaskan menyebar melalui darah dan dapat menyebabkan kerusakan berat pada jaringan, terutama di jantung dan saraf hingga timbul kematian (Sariadji & Sunarno, 2017).

Perlindungan imun terhadap difteri sangat penting sebagai upaya pencegahan dari wabah penyakit tersebut (Kolybo, 2013). Hingga saat ini, toksoid difteri masih digunakan sebagai komponen vaksin dalam kegiatan imunisasi difteri. Komponen ini umumnya dikombinasi dengan toksoid tetanus dan vaksin pertusis, atau dikenal sebagai vaksin DTP (Institute of Medicine, 2012).

Toksoid difteri mulai dikembangkan pada tahun 1920. Toksoid diperoleh dari proses inaktivasi DT menggunakan formaldehida lalu diadsorpsi ke garam aluminium (CDC, 2015). Namun, penelitian Metz (2005), menemukan bahwa metode ini menyebabkan sebagian besar residu asam amino lisin mengalami dimetilasi akibat bereaksi dengan formaldehida. Modifikasi lisin tersebut berpengaruh pada rusaknya situs antigenik atau epitop yang penting dalam memicu respon imun protektif, karena terjadi perubahan pada struktur antigen dan konformasi protein.

CRM197 merupakan komponen vaksin yang dilemahkan dengan cara memutasi asam amino glisin ke asam glutamat pada posisi 52 (Malito *et al.*, 2012). Penggantian asam amino tersebut menurunkan toksisitas dan aktivitas enzimatis tanpa menimbulkan perubahan besar pada konformasi protein (Bröker, 2016, Malito *et al.*, 2012). Meskipun diperoleh dari toksin difteri, CRM197 umumnya

digunakan pada imunisasi penyakit yang disebabkan bakteri patogen seperti *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* dan *Neisseria meningitidis* (Bröker *et al.*, 2011). Vaksin berisi CRM197 telah dipatenkan dengan merk dagang seperti Menveo®, Menjugate®, dan Prevnar™ (Malito *et al.*, 2012). Namun, karena CRM197 dihasilkan langsung dari fermentasi *C. diphtheriae* yang bersifat patogen, sulit diperoleh *yield* yang besar untuk memenuhi kebutuhan produksi vaksin (Pecetta *et al.*, 2016). Selain itu, penelitian Kimura (2007) memaparkan adanya sitotoksisitas CRM197 terhadap sel ragi dan mamalia, sehingga membatasi penggunaannya sebagai vaksin dalam bentuk DNA maupun RNA. Oleh karena itu, diperlukan studi lebih lanjut untuk pengembangan mutan toksin difteri dengan titik mutasi baru, sehingga menghasilkan mutan dengan toksisitas rendah namun tetap imunogenik.

Pada penelitian ini akan dilakukan desain struktur mutan toksin difteri secara *in silico* dengan memutasi beberapa asam amino yang terlibat dalam pengikatan *Nicotinamide Adenine Dinucleotide* (NAD⁺) pada toksin. Mutan yang diperoleh kemudian dievaluasi interaksinya dengan NAD⁺ menggunakan metode *molecular docking*. Desain mutan ini diharapkan memiliki afinitas rendah terhadap NAD⁺, sehingga dapat menjadi kandidat komponen vaksin yang aman dan efektif dalam membentuk imunitas untuk menekan angka kejadian difteri di Indonesia.

1.2 Identifikasi Masalah

Berdasarkan latar belakang penelitian di atas, dapat diidentifikasi masalah sebagai berikut :

1. Bagaimana model mutan toksin difteri dari hasil modifikasi beberapa asam amino?
2. Bagaimana interaksi antara mutan toksin difteri dengan ligan NAD^+ yang dievaluasi secara *molecular docking*?
3. Bagaimana desain mutan toksin difteri yang memiliki afinitas rendah terhadap NAD^+ ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini yaitu :

1. Menentukan asam amino yang perlu diubah agar mutan toksin difteri memiliki afinitas rendah terhadap NAD^+
2. Memodelkan struktur mutan toksin difteri menggunakan pemodelan homolog secara *in silico*.
3. Memperoleh nilai energi ikatan dan interaksi antara mutan toksin difteri dengan NAD^+ melalui metode *molecular docking*.

1.4 Kegunaan Penelitian

Memberikan informasi mengenai desain struktur mutan toksin difteri hasil modifikasi beberapa asam amino yang memiliki afinitas rendah terhadap senyawa NAD^+ sebagai kandidat komponen vaksin difteri yang aman dan bersifat imunogenik.

1.5 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Februari 2019 - Mei 2019 di Laboratorium Kimia Komputasi dan Bioinformatika Universitas Padjadjaran, Jln. Singaperbangsa No. 2 Bandung dan di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia, Jln.

Soekarno-Hatta No. 354 Bandung.