

## MEKANISME INHIBISI SINTESIS PROTEIN DAN DASAR MOLEKULER RESISTENSI ANTIBIOTIK

Nurtami dan EI Auerkari

Bagian Biologi Oral, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia

Nurtami dan EI Auerkari :

Mekanisme Inhibisi Sintesis Protein dan Dasar Molekuler Resistensi Antibiotik  
Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Indonesia. 2002; 9(1) :

### Abstract

*Different mechanisms by antibiotics selectively kill or inhibit growth and proliferation of pathogen bacteria. Some antibiotics work by interfering the process of protein synthesis in bacterial ribosome, the machinery that builds proteins amino acid by amino acid for the living bacterial cell. This type of antibiotics which inhibit the protein synthesis include streptomycin, chlor amphenicol and tetracycline which are described in this article. Antibiotic resistance is a worldwide problem in treating infectious diseases. Multiple factors contribute to the problem, but the most important ones are the prevalence of resistance genes and the excessive or inappropriate antibiotic use. Bacterial resistance to antibiotics may develop from the natural state of the bacterial genome, or the bacteria can acquire resistance genes by mutation or exchange of genes. Bacteria are able to exchange genes by several mechanisms such as conjugation, transduction, transposition and transformation, in which genetic material carries such as plasmids, bacteriophages or transposons play an important role.*

### Pendahuluan

Antibiotik adalah substansi natural yang mampu membunuh bakteri secara langsung (bakteriosidal) atau menghambat pertumbuhan atau proliferasi bakteri (bakteriostatik).<sup>1,2</sup> Untuk memahami bagaimana gen resisten dapat membuat bakteri mampu bertahan hidup terhadap serangan antibiotik, maka perlu dipahami terlebih dahulu mekanisme kerja antibiotik terhadap bakteri. Mekanisme kerja antibiotik berlainan, misalnya inhibisi sintesis dinding sel pada golongan Beta laktamase seperti penisilin atau sefalosporin, inhibisi sintesis protein pada golongan aminoglikosida, kloramfenikol atau tetrasiklin, injury ke membran plasma pada golongan polimiksin, inhibisi sintesis asam nukleat pada golongan PABA, serta inhibisi aktivitas enzim pada golongan obat-obatan sulfa.<sup>1,3,4</sup>

Berbagai faktor berperan dalam peningkatan resistensi terhadap antibiotik. Faktor utama penyebabnya adalah prevalensi dari gen resisten yang meningkatkan protein yang melindungi bakteri dari efek antibiotik dan ekstensi dari pemakaian antibiotik dalam kehidupan sehari-hari, misalnya pada

terapi suatu infeksi, pemakaian profilaksis, dan lain-lain.<sup>2</sup> Resistensi dapat timbul akibat terapi antibiotika yang salah, terapi yang berkepanjangan, atau terapi yang tidak tuntas.<sup>5</sup> Apabila bacterial flora tidak membawa gen resisten, maka antibiotik akan mampu mengeliminasi infeksi yang disebabkan oleh bakteri patogen tersebut. Sebaliknya jika bakteri membawa gen resisten dan antibiotik digunakan terus menerus oleh komunitas, maka bakteri akan mampu bertahan hidup, mampu melawan efek antibiotik serta mampu untuk berkembang biak. Kontrol pemakaian antibiotik yang lemah di masyarakat seperti misalnya penjualan antibiotik secara bebas, kualitas yang tidak terjamin dan lain-lain akan meningkatkan risiko rantai resistensi yang akan berefek negatif baik kepada individu maupun masyarakat. Artikel ini akan membahas bagaimana mekanisme kerja antibiotik dan bagaimana resistensi terhadap antibiotik terjadi.

### Sintesis protein pada bakteri<sup>1,6,7,8</sup>

Bakteri termasuk salah satu prokariot yang di dalam proses selularnya mengalami

sintesis protein, salah satu mekanisme genetik yang bertujuan untuk mempertahankan kelangsungan hidupnya dengan memproduksi protein dan asam nukleat dalam sel. Setelah melalui tahap transkripsi dimana dihasilkan sequence RNA hasil pengkopian dari DNA yang disebut messenger RNA atau mRNA yang berfungsi sebagai pembawa kodon, sintesis protein berlanjut ke tahap translasi, dimana tahap ini sangat berperan dalam mekanisme kerja antibiotik.

Translasi dibagi menjadi tiga tahap, yaitu inisiasi, elongasi dan terminasi. Proses inisiasi inilah yang memulai pembacaan kode genetik pada sintesis protein. Dibantu faktor inisiasi 2 atau IF-2 dan GTP (guanosin triphosphate), inisiator aminoasil-tRNA (transfer RNA) mengenali kodon start AUG yang membawa metionin dan berikatan dengan subunit kecil dari ribosom yaitu subunit 30S. Komplek aminoasil-tRNA dengan subunit 30S ini kemudian bergabung dengan mRNA, dimana sejak saat ini sintesis protein berjalan dengan menyandingkan inisiator aminoasil-tRNA ke kodon start AUG di mRNA. Faktor inisiasi kemudian dilepas sehingga memungkinkan

subunit besar ribosom 50S terikat ke subunit kecil. Dengan demikian unit ribosom fungsional telah terbentuk. Letak molekul inisiator aminoasil-tRNA adalah pada P-site dari ribosom, sehingga sintesis protein berkelanjutan dengan mengikat aminoasil-tRNA ke-2 pada A-site ribosom. Setelah berbagai faktor inisiasi dan GTP dilepas, proses inisiasi dinyatakan selesai.

Dilanjutkan ke tahap berikutnya, yaitu tahap elongasi, dimana terjadi interaksi antara aminoasil-tRNA dengan mRNA membentuk perpanjangan rantai polipeptida. Translasi berjalan per-3 nukleotida dengan arah 5' ke 3' di sepanjang rantai mRNA. Setiap peptida yang terbentuk spesifik dengan triplet kodon di molekul mRNA yang dipasangkan dengan triplet antikodon pada ujung molekul tRNA. Elongasi dimulai dengan terjadinya ikatan molekul aminoasil-tRNA berikutnya di A-site yang kosong dengan cara berpasangan dengan 3 nukleotida di mRNA. Kemudian ujung karboksil dari rantai polipeptida yang terikat di aminoasil-tRNA P-site dilepas, dan membentuk ikatan dengan peptida yang dibawa aminoasil-tRNA A-site. Reaksi ini dibantu oleh enzim transferase dan enzim peptidil transferase. Molekul tRNA bebas yang tadi menempati P-site kemudian dilepaskan dari ribosom untuk kembali ke sitoplasma tRNA. Tahap selanjutnya adalah terjadinya translokasi peptidil-tRNA di A-site ke P-site, bersamaan dengan Bergeraknya ribosom per-3 nukleotida di sepanjang rantai mRNA. Dengan demikian, A-site yang kosong sekarang siap untuk ditempati aminoasil-tRNA yang baru yang membawa peptida selanjutnya dan proses ini berlangsung terus sampai molekul mRNA mengandung triplet kodon stop (UAA, UAG atau UGA) dimana proses sintesis protein memasuki tahap terminasi. Apabila release factor berikatan dengan salah satu kodon tersebut di A-site, maka ikatan tersebut akan mengganggu aktivitas enzim peptidil transferase, sehingga ujung karboksil dari rantai polipeptida terlepas dari ikatannya di molekul peptidil tRNA. Rantai polipeptida yang lepas tersebut adalah rantai protein yang dinyatakan selesai terbentuk dan kemudian dilepaskan ke sitoplasma sel. Setelah itu ribosom akan mengalami disosiasi menjadi subunit 50S dan 30S, dan proses kembali lagi ke tahap awal.

### **Inhibisi sintesis protein oleh antibiotik bakteriosidal<sup>1,9</sup>**

Salah satu antibiotik yang bersifat bakteriosidal adalah streptomisin. Streptomisin membunuh bakteri dengan cara menghambat sintesis protein dalam tubuh bakteri. Ada dua teori yang menjelaskan teori inhibisi sintesis protein ini. Baik Luzzato dkk. maupun Davis dkk. berpendapat bahwa kompleks inisiasi tidak berfungsi sama sekali di dalam sintesis protein. Luzzato dkk. berpendapat bahwa inhibisi sintesis protein bersifat irreversible. Setelah bakteri terekspos oleh streptomisin, polisom atau poli ribosom secara cepat terurai sehingga yang tertinggal adalah unit 70S yang disebut streptomisin monosom, yang terdiri dari subunit 30S, subunit 50S, mRNA dan streptomisin sendiri. Streptomisin monosom ini tidak mampu melakukan sintesis protein dikarenakan ikatan streptomisin tersebut sangat kuat, irreversible, dengan material 70S menumpuk dan frozen di posisinya, serta bersifat tidak aktif. Meskipun sintesis protein tidak dapat berjalan setelah terbentuknya streptomisin monosom ini, namun formasi kompleks inisiasi tidak terpengaruh.

Davis dkk. berpendapat bahwa ada dua tipe subunit 30S bebas. Subunit 30S bebas yang bersifat resisten, apabila berikatan dengan streptomisin memungkinkan terjadinya kompleks inisiasi dengan mRNA di struktur polisom. Akan tetapi jika sebelum terbentuk kompleks inisiasi streptomisin berikatan dengan subunit 30S bebas yang bersifat sensitif, maka kompleks inisiasi akan terbentuk, namun proses elongasi tidak akan terjadi. Hal ini disebabkan terjadi distorsi pada A-site sehingga tidak terjadi ikatan aminoasil-tRNA. Selanjutnya kompleks inisiasi 70S secara perlahan akan terlepas dari mRNA dan mengalami degradasi menjadi subunit 50S dan 30S. Subunit 30S bebas mampu membentuk ikatan baru pada mRNA untuk memulai kompleks inisiasi kembali.

### **Inhibisi Sintesis Protein Oleh Anti-biotik Bakteriostatik<sup>1,9</sup>**

Kerja antibiotik yang bersifat bakteriostatik terbagi menjadi dua jenis mekanisme, yaitu antibiotik yang terikat pada subunit 50S dan yang terikat pada subunit 30S. Antibiotik yang bekerja pada subunit 50S misalnya kloramfenikol, eritromisin, linkomisin atau klindamisin, sedangkan yang bekerja pada subunit 30S misalnya tetrasiklin.

Reseptor dari kloramfenikol adalah subunit 50S dari ribosom bakteri. Percobaan pada E. coli membuktikan bahwa dari 80S ribosom dan 70S ribosom, hanya 70S ribosomlah yang sensitif terhadap kloramfenikol dan ikatan ini bersifat reversibel.<sup>1</sup> Kloramfenikol di dalam mekanisme kerjanya tidak menghambat proses inisiasi, terminasi, maupun pelepasan dari ribosom. Juga tidak pada ikatan aminoasil-tRNA dan mRNA pada subunit 30S. Keberadaan kloramfenikol menyebabkan proses perlekatan dan pergerakan ribosom pada mRNA berjalan tanpa menghasilkan ikatan peptida. Ikatan kloramfenikol pada ribosom menyebabkan terjadinya distorsi pada komponen ribosom, sehingga mengganggu pembentukan ikatan peptida dan pergerakan ribosom.

Aminoasil-tRNA berikatan pada subunit 30S yang mengandung triplet antikodon. Regio ini mengandung informasi genetik yang sesuai dengan pembacaan di regio subunit 50S untuk membentuk suatu ikatan peptida, dengan bantuan enzim transferase dan peptidil transferase, yang merupakan bagian integral dari subunit 50S. Kalau ikatan tRNA ke kodon tidak terganggu, maka translokasi akan berjalan normal meskipun dengan keberadaan kloramfenikol. Akan tetapi jika gangguan terjadi pada ikatan tRNA yang mengandung asam amino ke subunit 50S, maka ikatan peptida tidak akan terbentuk.

Tetrasiklin menghambat sintesis protein dengan cara memblokir ikatan aminoasil-tRNA ke kompleks mRNA-ribosom.<sup>1,10</sup> Reseptor tetrasiklin adalah di subunit 30S dan ikatannya bersifat reversibel. Seperti diketahui bahwa ada dua tempat untuk mengikat aminoasil-tRNA di kompleks mRNA-70S. Ikatan aminoasil-tRNA yang pertama adalah di A-site, yaitu ketika subunit 30S sudah bergabung membentuk kompleks dengan mRNA. Ikatan aminoasil-tRNA yang ke-2 di P-site baru terbentuk setelah subunit 50S bergabung dengan subunit 30S membentuk kompleks ribosom-mRNA.<sup>1,6</sup> Di P-site aminoasil-tRNA mengikat polipeptida yang mengalami elongasi.

Percobaan dengan antibiotik puromisin yang analog dengan aminoasil-tRNA membuktikan bahwa tetrasiklin menghambat ikatan aminoasil-tRNA ke A-site dan bukan ke P-site. Ikatan peptidil-puromisin menyebabkan terputusnya rantai polipeptida

dari peptidil-tRNA-mRNA-ribosom kompleks. Puromisin tidak menghalangi ikatan aminoasil ke A-site maupun mengakibatkan pelepasan aminoasil-tRNA dari A-site. Karena dengan keberadaan tetrasiklin ikatan aminoasil-tRNA di A-site dihambat, maka aminoasil-tRNA mengisi P-site, membentuk ikatan dengan puromisin dan dilepas sebagai peptidil puromisin. Dengan demikian berarti tetrasiklin hanya menghambat sebagian dari sintesis protein kompleks ribosom-mRNA.

### Mekanisme resistensi antibiotik

Gen resisten meningkatkan aktivitas enzim-enzim yang mampu mendegradasi antibiotik atau secara kimiawi memodifikasi dan akhirnya menginaktivasi antibiotik. Beberapa gen resisten dapat mengubah atau menggantikan molekul bakteri yang secara normal mampu berikatan dengan antibiotik. Perubahan ini dapat mengakibatkan terjadinya eliminasi target antibiotik di dalam sel bakteri, menutup pintu masuk antibiotik ke dalam sel bakteri, atau memberikan kemampuan untuk memompakan kembali antibiotik tersebut keluar sel sebelum mencapai target intraseluler.<sup>2</sup>

Gen resisten diperoleh bakteri melalui beberapa cara. Resistensi intrinsik adalah resistensi dimana gen resisten diperoleh secara natural atau diwariskan oleh spesies bakteri sebelumnya.<sup>2,9</sup> Misalnya, bakteri insensitif terhadap antibiotik karena tidak mempunyai reseptor yang dapat mengikat suatu antibiotik, tanpa akuisisi faktor-faktor resistensi dari lingkungannya. Contoh lain adalah pada bakteri gram negatif antibiotik terhalang oleh struktur dinding sel terluar dari bakteri yang bersifat hidrofobik.<sup>11</sup> Resistensi yang dipengaruhi lingkungan atau disebut *acquired resistance* disebabkan karena adanya mutasi genetik atau yang paling sering terjadi adalah adanya pertukaran gen resisten diantara bakteri yang satu dengan yang lainnya.

Mutasi genetik menyebabkan perubahan pada target antibiotik. Penyebab mutasi itu sendiri bermacam-macam, namun seringkali mutasi terjadi akibat pemakaian antibiotik yang tidak tepat. Pemberian terapi antibiotik pada bakteri patogen akan berefek pula pada bakteri non-patogen. Apabila terapi diberikan terus menerus maka bakteri non-patogen akan mengalami mutasi dan terapi antibiotik yang dimaksudkan untuk membatasi eks-

pansi patogenitas bakteri secara simultan akan meningkatkan pertumbuhan bakteri yang bersifat resisten. Sebagian besar antibiotik bekerja dengan menginaktivasi protein bakteri yang esensial. Dengan adanya mutasi maka protein tersebut tereliminasi, atau mencegah inaktivasi protein tersebut sehingga antibiotik tidak dapat terikat. Akibat mutasi yang lain adalah peningkatan produksi enzim pada target antibiotik sehingga dengan jumlah yang terlalu banyak antibiotik tidak dapat menginaktifkannya.<sup>12</sup>

Pertukaran gen resisten seringkali terjadi di dalam mekanisme resistensi.<sup>3,11</sup> Tipe *acquired resistance* diperoleh dengan berbagai cara. Sel bakteri terdiri dari satu kromosom, oleh karena itu di dalam upayanya untuk bertahan hidup diperlukan tambahan informasi genetik yang dibawa oleh plasmid yang terpisah dari kromosom.<sup>13</sup> Plasmid adalah elemen genetik yang mampu mereplikasi dirinya sendiri. Mutasi spontan dapat terjadi di dalam plasmid, dan mutasi tersebut menghasilkan gen yang resisten terhadap antibiotik tertentu. Apabila hasil replikasi plasmid di dalam host bakteri ditransfer ke bakteri lain, maka transfer ini disebut konjugasi. Caranya adalah bakteri menghasilkan pilus yaitu struktur protein yang mampu menggapai dan menarik bakteri lain untuk mendekat dan saling menempel, kemudian gen resisten tersebut diinjeksikan ke sel bakteri resipien. Sekarang sel resipien menjadi donor dan melanjutkan proses konjugasi ini ke sel bakteri lain. Transfer ini dapat terjadi pada satu spesies bakteri maupun yang berlainan.

Transfer informasi genetik dapat dilakukan oleh virus yang menyerang bakteri yang disebut bakteriofag.<sup>14</sup> Bakteriofag mengikat ke sisi membran sel bakteri, kemudian menyuntikkan DNA virus ke sel host. DNA bakteriofag dapat melakukan dua hal yaitu tidak menginfeksi dan mengkolaborasikan gen yang dibawanya ke DNA bakteri atau memperbanyak diri dan menghancurkan sel host. Apabila gen resisten dari bakteriofag berkolaborasi dengan kromosom bakteri, maka gen tersebut akan ditransfer ke progeny bakteri saat reproduksi berlangsung. Setelah bakteriofag tersebut memperbanyak diri maka kemungkinannya adalah DNA virus membawa bagian dari DNA host, gen resisten terbawa dan dapat diinjeksikan ke bakteri lainnya.<sup>14,15</sup>

Bakteri dapat melakukan pertukaran gen tanpa melalui plasmid, tapi melalui segmen DNA yang bersifat *mobile* yang disebut transposon atau *jumping genes*.<sup>14,15,16,17,18,19</sup> Transposon ini dapat bergerak ke berbagai posisi di genom suatu sel. Transfer genetik melalui transposon ini disebut transposisi, karena transposon mampu untuk meloncat dari DNA plasmid atau DNA kromosom ke sel host lain sehingga menyebabkan penyebaran resistensi terhadap suatu antibiotik secara cepat.

Pergerakan DNA bebas di lingkungan memungkinkan entry ke dalam kromosom bakteri. Sel bakteri mengambil DNA eksogen yang berasal dari lingkungan sekitarnya. Apabila bakteri memiliki mekanisme yang memungkinkan DNA tersebut menembus dinding sel bakteri, berkolaborasi dengan kromosom bakteri dan kemudian menggantikan sebagian dari kromosom tersebut, maka terjadi pertukaran DNA yang disebut transformasi, dimana pertukaran ini menghasilkan pembentukan genotip baru atau terjadi rekombinasi genetik.<sup>20</sup>

### Kesimpulan

Berbagai antibiotik menyembuhkan penyakit dengan secara selektif menginhibisi aktivitas sintesis protein di ribosom bakteri penyebab. Tugas ribosom seperti diketahui adalah membaca informasi genetik yang dikodekan oleh mRNA dan menghasilkan molekul protein yang sudah dispesifikasikan oleh mRNA. Protein yang dihasilkan tersebut akan bertanggung jawab atas semua aktivitas seluler bakteri. Masing-masing antibiotik menginhibisi sintesis protein dengan mekanisme yang berbeda, tergantung kepada reseptor antibiotik tersebut di ribosom bakteri. Streptomisin secara selektif berikatan pada subunit 30S, dan ikatan ini memblokir sintesis protein pada tahap inisiasi. Reseptor kloramfenikol di ribosom adalah pada subunit 50S dimana ikatan dengan kloramfenikol menghambat pembentukan ikatan peptida. Tetrasiklin mempunyai reseptor di subunit 30S dan bekerja dengan cara memblokir ikatan aminoasil-tRNA ke kompleks mRNA-ribosom di A-site.

Resistensi antibiotik disebabkan oleh berbagai faktor, namun yang paling utama adalah prevalensi dari gen resisten dan ekstensi pemakaian antibiotik. Penyalah-

gunaan antibiotik seperti kesalahan terapi, pemakaian yang tidak tuntas atau berkepanjangan, dosis yang tidak adekuat dan lain-lain seringkali menimbulkan efek resistensi. Bakteri memiliki sifat resistensi bisa secara natural karena sifat tersebut sudah diwariskan oleh spesies bakteri sebelumnya, atau acquired resistance, yaitu didapat akibat terjadinya mutasi genetik atau karena pertukaran gen resisten yang terjadi di antara sesama bakteri. Kerja

antibiotik yang secara normal menginaktivasi protein bakteri yang menjadi target, menjadi tidak efektif akibat terjadinya mutasi yang menghilangkan protein tersebut, atau mutasi menyebabkan terjadinya peningkatan produksi enzim pada target antibiotik sehingga antibiotik tersebut tidak mampu lagi mengaktifkannya. Gen resisten juga dapat diperoleh melalui pertukaran gen di antara bakteri-bakteri melalui proses konjugasi yang melibatkan

plasmid, transduksi yang melibatkan bakteriofag untuk membawa gen resisten, transposisi yang melibatkan transposon atau transformasi yang menghasilkan genotip baru melalui rekombinasi genetik. Gen resisten melalui berbagai mekanisme ini dapat berpindah dari satu bakteri ke bakteri lain dan mengakibatkan penyebaran resistensi secara cepat.

#### Daftar Pustaka

1. Pratt WB. Chemotherapy of infection. 2nd ed. New York: Oxford University Press. 1979: 3-20, 85-167.
2. Levy SR. The challenge of antibiotic resistance. Scientific American 1998.
3. Anti-microbial drugs. [http://mindquest.net/biology/microbiology/outlines/u\\_antiu.html](http://mindquest.net/biology/microbiology/outlines/u_antiu.html)
4. Dussart GBJ. Antibiotics. Lecture of Canterbury Christ Church University College. 1999.
5. Rissing JP, Rotachafer JC. The development of antibiotic resistance. Archives 2000.
6. Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K & Watson JD. Molecular biology of the cell. 3rd ed. New York: Garland Publishing Inc. 1983: 199-213.
7. Karp G. Cell and molecular biology. 2nd ed. Canada: John Wiley & son Inc. 1999: 606-616, 710-3.
8. Frank J. Structure of the ribosome and mechanism of protein synthesis. Howard Hughes Medical Institute Investigators 2001.
9. Bilaber M. Extrachromosomal elements, plasmids, selectable markers. Molecular Biology & Technology 1998.
10. Hales KH, Hales DB. Introduction to the molecular biology lab. Intmolbiol 2001.
11. Powell WJ. Molecular mechanisms of antimicrobial resistance. Technical Report 2000.
12. Hughes D. Resistance to the antibiotic fusidic acid. Microbiology 2001.
13. Wagner G. What is a plasmid?. 1999.
14. <http://www.cs.stewards.edu/chem/CHEM43/Antibiotics/Antibiotics.html>
15. Campbell J, Gibson D, Muroya K, Simon J. How does resistance occur. 1996.
16. Hawkey PM et al. The role of transposons in the evolution of antibiotic resistance. J Antimicrobial Chemotherapy 1993; 32: 667-76.
17. Kimball J. Transposons: Mobile DNA. <http://www.ultranet.com/~jkimball/BiologyPages/T/Transposons.html>
18. McQuillan J. Transposons. Literature review 2001.
19. Mullany P, Wilson M, Roberts A, et al. Bacterial Gene Transfer. Eastman Dental Institute 2001.
20. Todar K. Bacterial resistance to antibiotics. Microtextbook of Univ. of Wisconsin-Madison. 2000.