

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kanker merupakan salah satu penyakit penyebab kematian utama di seluruh dunia. Data *World Health Organization* dan *American Cancer Society* memberikan informasi bahwa sebanyak 18 juta kasus baru kanker telah terdiagnosis pada tahun 2018 (Mattiuzzi & Lippi, 2019). Data *Global Cancer Observatory* (GLOBOCAN) tahun 2020 menjelaskan bahwa kasus baru kanker di Indonesia mencapai 396.914 kasus dengan kasus kematian mencapai 234.511 orang, dan akan terus meningkat apabila tidak dilakukan upaya penanggulangan kanker (*Direktorat Jenderal Pelayanan Kesehatan, 2023.*).

Kanker adalah suatu penyakit di mana sel-sel tubuh yang normal berubah menjadi abnormal yang bermultiplikasi tanpa kontrol serta dapat menginvasi jaringan sekitarnya (Izah *et al.*, 2022). Kanker darah merupakan salah satu jenis kanker yang sering ditemukan pada anak-anak (Lesmanawati & Qoyyimah, 2018). Kanker darah dikenal dengan *Hematologic malignancies* (HMs) merupakan jenis kanker yang menyerang sel darah terutama leukosit. Kanker darah bersifat ganas yang secara umum dikelompokkan kedalam empat subtipe yaitu leukemia, limfoma Hodgkin, limfoma non-Hodgkin dan multipel myeloma (Keykhaei *et al.*, 2021).

Leukemia menjadi salah satu jenis kanker darah yang banyak menyerang manusia dibandingkan dengan jenis kanker darah lainnya. Leukemia muncul akibat keganasan sel-sel leukosit dari pembentukan awal di sumsum tulang belakang hingga di dalam peredaran darah (Dong *et al.*, 2020). Angka kematian akibat leukemia diseluruh dunia menduduki peringkat ke-11 dengan prevelensi kejadian menduduki peringkat ke-15 dari semua jenis kanker. Leukemia berada pada jajaran pertama sebagai kanker yang sering timbul pada anak-anak hingga menyebabkan kematian tinggi pada anak. Tahun 2030 diperkirakan akan terjadi peningkatan yang

signifikan terhadap angka kejadian leukemia yaitu mencapai 9,21 juta jiwa (Du *et al.*, 2022).

Di Indonesia, leukemia berada pada peringkat ke-9 sebagai jenis kanker dengan angka kejadian tertinggi berdasarkan data dari *Global Cancer Observatory* tahun 2020 (Garniasih *et al.*, 2022). Berdasarkan data Riskesdas pada tahun 2018, prevalensi penderita leukemia menempati Provinsi Sumatera Barat di peringkat dua yaitu 2,4 per 1000 penduduk. Peningkatan jumlah kasus dan kematian akibat leukemia tidak terlepas dari faktor risiko penyebab leukemia yang biasanya pada anak-anak bersifat dipengaruhi oleh gaya hidup orang tua semasa kehamilan (Schmidt *et al.*, 2021).

Leukemia terjadi saat *pluripotent hematopoietic stem cell* memproduksi sel leukosit secara tidak terkendali sehingga banyak sel leukosit yang tidak matang terbentuk seperti limfoblast dan myeloblast. Sel leukosit yang terlalu banyak dapat mengakibatkan ekspansi dan proliferasi sehingga mengganggu perkembangan sel darah normal. Pada leukemia akut, terjadi peningkatan produksi sel myeloblast akibat translokasi dan fusi gen lokal dikenal dengan *Acute Myeloid Leukemia* (AML) dan juga terjadi peningkatan produksi limfoblast akibat translokasi dan perubahan jumlah kromosom tidak normal dikenal dengan *Acute Lymphoblastic Leukemia* (ALL) (Arber *et al.*, 2016).

Pengobatan leukemia akut meliputi kemoterapi, steroid, terapi radiasi dan transplantasi sumsum tulang atau sel punca. Dari beberapa pengobatan tersebut kemoterapi menjadi yang paling diminati (Darvishi *et al.*, 2022). Kemoterapi merupakan terapi kanker yang melibatkan penggunaan zat kimia maupun obat-obatan yang tujuannya untuk membunuh sel-sel kanker (Khatimah, 2021). Salah satu jenis protein yang dapat menjadi obat alternatif pada leukemia yaitu *L-Asparaginase 2*. Mekanisme kerja dari *L-Asparaginase 2* pada leukemia yaitu melalui hidrolisis asparagin menjadi asam aspartat dan ammonia. Mekanisme tersebut membuat asupan asparagin pada sel kanker berkurang hingga berujung tidak terjadinya sintesis protein dan menginduksi kematian sel kanker (Maese & Rau, 2022). Penggunaan protein *L-Asparaginase 2* telah diuji klinis pada beberapa

penelitian dan telah disetujui oleh *Food and Drug Administration* (FDA) untuk pemakaian kemoterapi leukemia pada anak-anak (Nag *et al.*, 2023).

*L-Asparaginase 2* didapatkan dari berbagai jenis bakteri, fungi dan mikroba lainnya yang terutama berasal dari *Escherichia coli*, *Lactobacillus casei*, dan *Erwinia chrysanthemi* (Darvishi *et al.*, 2022). Produksi enzim *L-Asparaginase 2* dapat menggunakan teknologi rekombinan. Penggunaan teknologi rekombinan dapat menghasilkan protein rekombinan *L-asparaginase 2* sehingga tidak memerlukan proses isolasi protein dari sumber langsung dan juga dapat memperbanyak protein dengan waktu singkat. Beberapa negara telah mengembangkan biosintesis *L-Asparaginase 2* melalui proses rekombinan sebagai agen terapi kanker dan . Pemanfaatan *L-Asparaginase 2* rekombinan untuk penggunaan terapi kanker masih belum diproduksi di Indonesia, sehingga masih diperoleh penggunaan produksi *L-Asparaginase 2* rekombinan dari luar negeri (Jamaluddin 2018).

Penelitian yang dilakukan oleh (Aisyah *et al.*, 2017) menemukan isolat bakteri *Serratia plymuthica* UBCF\_13 yang diisolasi dari tanaman *Brassica juncea* L. atau tanaman sawi pada tahun 2012 dari Kabupaten Solok, Sumatera Barat, Indonesia. Hasil isolasi bakteri kemudian dilakukan *whole genome sequencing* oleh (Fatiah *et al.*, 2021) dan melaporkan anotasi sekuens genom lengkap dari *S. plymuthica* UBCF\_13 pada *database National Center for Biotechnology Information* (NCBI). Eksplorasi potensi *S. plymuthica* UBCF\_13 pada *database* NCBI menemukan kemampuan bakteri tersebut dalam menghasilkan *L-Asparaginase 2* yang ditandai oleh keberadaan gen *AnsB* pengkode enzim *L-Asparaginase 2*. Penemuan tersebut mendorong untuk memanfaatkan *S. plymuthica* UBCF\_13 sebagai sumber baru dalam mendapatkan *L-Asparaginase 2* rekombinan. Kegiatan eksplorasi sumber bakteri baru penghasil enzim *L-Asparaginase 2* penting dilakukan untuk memilih sumber yang memiliki potensi lebih baik dalam terapi leukemia. Langkah awal dalam mendorong produksi *L-Asparaginase 2* rekombinan dari *S. plymuthica* UBCF\_13 adalah dengan melakukan kloning dan sekuensing gen *AnsB* pengkode enzim *L-Asparaginase 2* dari *S. plymuthica* UBCF\_13.

## 1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Apakah gen *AnsB* dapat diisolasi dari isolat *S. plymuthica* UBCF\_13 menggunakan teknik kloning berbasis PCR?
- 1.2.2 Apakah gen *AnsB* dapat diligasikan kedalam plasmid pGEM-T Easy dan ditransformasikan ke dalam sel inang *E. coli* DH5 $\alpha$ ?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi gen *AnsB* pengkode enzim *L-asparaginase 2* dari isolat *S. plymuthica* UBCF\_13 dan mentransformasikannya ke dalam sel *E. coli* DH5 $\alpha$  menggunakan plasmid vektor *pGEM-T Easy*.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Membuat primer gen *AnsB* dari *S. plymuthica* UBCF\_13
2. Mengisolasi gen *AnsB* dari isolat *S. plymuthica* UBCF\_13 menggunakan strategi kloning berbasis PCR
3. Meligasikan gen lengkap *AnsB* ke dalam vektor kloning plasmid *pGEM-T Easy* dan mentransformasikannya ke dalam sel inang *E.coli* DH5 $\alpha$
4. Melakukan sekuensing gen *AnsB* dan analisis enzim *L-asparaginase 2* dari *S. Plymuthica* UBCF\_13

### 1.4 Manfaat Penelitian

- 1.4.1 Mendapatkan bakteri *E. coli* rekombinan pengeksresi enzim *L-asparaginase 2* dari *S. plymuthica* UBCF\_13 melalui tahapan kloning dari transformasi plasmid *pGEM\_ AnsB* pada *E. coli* DH5 $\alpha$ .
- 1.4.2 Dapat menjadi bahan informasi bagi para peneliti lainnya tentang potensi *S. plymuhtica* UBCF\_13 untuk eksplorasi lebih lanjut.
- 1.4.3 Dapat menjadi bahan informasi bagi para peneliti lain untuk karakterisasi gen *AnsB* pengkode enzim *L-asparaginase 2* dari *S. plymuthica* UBCF\_13 lebih lanjut