

# POTENSI CTPF PADA *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* DALAM PENGEMBANGAN CTPF-INHIBITOR SEBAGAI INOVASI TERAPI TARGET MUTAKHIR PADA PENGOBATAN TB MDR/XDR

Alfi Rahmatika<sup>1</sup>, Muhammad Mufaiduddin<sup>2</sup>, Innelya<sup>3</sup>  
Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro,  
Semarang

## ABSTRAK

### Korespondensi:

Alfi Rahmatika

### Email

### Korespondensi:

alfirahmatika@g  
mail.com

### Riwayat Artikel

Diterima: 09 – 05  
– 2022

Selesai revisi: 02  
– 06 – 2022

### DOI :

10.53366/jimki.v1  
0i.523

**Pendahuluan:** Tuberkulosis (TB) menjadi salah satu penyebab utama kematian di dunia dengan jumlah penderita mencapai jutaan orang setiap tahunnya. TB disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Terjadinya mutasi pada *M. tuberculosis* yang menyebabkan resistensi terhadap obat anti tuberkulosis (OAT) merupakan krisis kesehatan pada pengobatan TB. Resistensi OAT terdiri dari TB *multi drug resistance* (MDR) dan TB *extensive drug resistance* (XDR). Kejadian TB MDR/XDR mengalami peningkatan pesat di dunia dengan total penderita TB MDR mencapai lebih dari 480 ribu setiap tahunnya dan 9% diantaranya berkembang menjadi TB XDR. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengembangan target terapi baru untuk mengurangi angka kejadian TB MDR/XDR. CtpF pada *M. tuberculosis* merupakan inovasi target terapi terbaru karena berperan penting dalam homeostasis bakteri *M. tuberculosis*.

**Metode:** Studi ini dibuat dengan metode literatur review yaitu narrative review dengan menggunakan empat sumber publikasi dan beberapa kata kunci. Sebanyak 88 kepustakaan berupa jurnal dan *guidelines* nasional dan internasional yang memenuhi kriteria inklusi digunakan dalam pembuatan tinjauan ini.

**Pembahasan:** CtpF pada *M. tuberculosis* merupakan jenis *P-type ATPase* yang mentransportasikan ion  $Ca^{2+}$  dan berperan dalam merespon kondisi stress intrafagosomal sehingga berperan penting untuk kelangsungan hidup bakteri. Penghambatan pada CtpF dapat membuat *M. tuberculosis* kehilangan homeostasis  $Ca^{2+}$  dan tidak mampu menjalankan berbagai proses biomolekuler serta kehilangan mekanisme pertahanan terhadap kondisi stress sehingga bakteri mati dan replikasi terhenti. Selain itu, CtpF juga menunjukkan kemampuan mutasi yang sangat rendah. Hal ini membuat CtpF menjadi target terapi yang tidak rentan untuk mengalami resisten.

**Simpulan:** Kandidat CtpF- inhibitor berpotensi dikembangkan sebagai terapi target mutakhir dalam pengobatan TB MDR/XDR.

**Kata Kunci:** CtpF, *Mycobacterium tuberculosis*, P-type ATPase, TB MDR, TB XDR

## The Potency of CtpF in *Mycobacterium tuberculosis* in The Development of CtpF-Inhibitors as Innovative Target Therapy in MDR/DR TB Treatment

### ABSTRACT

**Background:** Tuberculosis (TB) is one of the major causes of death in the world with the number of cases reaching millions every year. TB is caused by *Mycobacterium tuberculosis*. The occurrence of mutations in *M. tuberculosis* that cause resistance to anti-tuberculosis drugs has become a health crisis in TB treatment. Drug resistance in TB consists of MDR TB and XDR TB. The incidence of MDR/XDR TB has increased rapidly in the world with total MDR TB cases reaching more than 480 thousand each year and 9% of those develop into XDR TB. Therefore, it is requisite to develop new therapeutic targets to reduce the prevalence of MDR/XDR TB. CtpF in *M. Tuberculosis* is the latest innovative therapeutic target in making a new anti-tuberculosis drug because it plays important role in *M. tuberculosis* homeostasis.

**Methods:** This study was made using narrative review method with four sources of publication and several keywords. Overall, 88 pieces of literature that meet the inclusion criteria were used.

**Discussion:** CtpF is a type of P-type ATPase that transports  $Ca^{2+}$  ions and plays important role in responding to intraphagosomal stress conditions that are important for bacterial survival. Inhibition of CtpF can pull down  $Ca^{2+}$  homeostasis in *M. tuberculosis* so that it is unable to carry out various biomolecular processes and lose defense mechanisms against stress conditions. In addition, CtpF also has a very low mutation ability. This makes CtpF a druggable target for designing new anti-tuberculosis therapy that is not susceptible to resistance.

**Conclusion:** CtpF-inhibitor candidates have the potential to be developed as the latest target therapy in the treatment of MDR / XDR TB.

**Keywords:** CtpF, MDR TB, *Mycobacterium tuberculosis*, P-type ATPases, XDR TB

### 1. PENDAHULUAN

Penyakit tuberkulosis (TB) menjadi salah satu dari 10 penyebab utama kematian di dunia dengan jumlah penderita mencapai jutaan orang di tiap tahunnya. Menurut data dari *World Health Organization* (WHO), terdapat 10 juta kasus TB baru di dunia pada tahun 2017 dan

1.6 juta diantaranya mengalami kematian.<sup>[1]</sup> Asia Tenggara menyumbang angka morbiditas dan mortalitas terbanyak untuk TB, termasuk Indonesia. Indonesia menempati 3 besar negara dengan angka penderita TB terbanyak di dunia dan termasuk dalam *high burden countries*.<sup>[1]</sup> Pada tahun 2017, terdapat 420 ribu kasus TB

baru dan 116 ribu kematian akibat TB yang dilaporkan di Indonesia.<sup>[1,2]</sup> Hal ini terkait dengan kepadatan penduduk dan rendahnya tingkat kesadaran masyarakat akan penyakit ini.<sup>[3]</sup> Angka morbiditas dan mortalitas TB yang masih tinggi membuat penyakit ini masih menjadi krisis kesehatan, baik di dunia maupun di Indonesia. Selain itu, tingginya angka morbiditas TB juga menjadi beban ekonomi bagi negara.<sup>[4]</sup> TB merupakan penyakit infeksi kronis yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Bakteri ini berbentuk basil dan bersifat tahan asam sehingga disebut juga sebagai Batang Tahan Asam (BTA).<sup>[5]</sup> Tingginya angka morbiditas TB diduga karena penyakit ini dapat menyerang segala usia, jenis kelamin dan juga etnis apapun.<sup>[6]</sup> Selain itu, hal ini juga didukung oleh mudahnya penularan penyakit ini. TB dapat menyebar dari orang ke orang lewat udara. Saat pasien TB batuk, bersin, tertawa, atau meludah, *M. tuberculosis* akan keluar ke udara. Bakteri ini lalu terhirup dan paling sering menginfeksi organ paru atau yang disebut TB pulmonal. Selain organ paru, TB juga dapat menginfeksi organ tubuh yang lain, seperti otak, ginjal, saluran cerna, tulang, kelenjar getah bening dan lainnya atau yang disebut dengan TB ekstrapulmonal.<sup>[5]</sup> Seseorang hanya perlu sedikit eksposur *M. tuberculosis* untuk terinfeksi. Sebuah penelitian menunjukkan bahwa sekitar 5-10% orang yang terinfeksi *M. tuberculosis* akan mengalami penyakit TB selama hidupnya.<sup>[1]</sup> Untuk itu, diagnosis dini dan pengobatan yang adekuat bagi pasien yang terinfeksi TB perlu dilakukan untuk mengurangi

penularan *M. tuberculosis* sekaligus untuk mencapai eliminasi penyakit.<sup>[7]</sup>

Saat ini, pengobatan TB dilakukan dengan menggunakan Obat Anti Tuberkulosis (OAT). Pengobatan yang adekuat harus memenuhi prinsip pengobatan yang meliputi pemberian bentuk paduan OAT mengandung minimal 4 macam obat untuk mencegah terjadinya resistensi, diberikan dalam dosis tepat, ditelan secara teratur, dan diawasi secara langsung oleh PMO (Pengawas Menelan Obat) sampai selesai pengobatan.<sup>[8]</sup> Pengobatan TB dengan OAT terbagi menjadi 2 fase, yaitu fase intensif selama 2 bulan dan fase lanjutan selama 4 bulan setelahnya, sebagai pengobatan yang adekuat untuk mencegah kekambuhan.<sup>[9]</sup> Kemasan OAT terbagi menjadi 2, yaitu OAT tunggal (lepasan) dan kombinasi dosis tetap (KDT). OAT tunggal terdiri dari obat yang disajikan terpisah, masing-masing dari *isoniazid*, *rifampicin*, *pyrazinamide*, dan *ethambutol*. Sedangkan KDT merupakan kombinasi 3 atau 4 obat dalam 1 tablet.<sup>[11]</sup> Pada tahun 1993, WHO dan *International Union Against Lung Disease* (IUALD) merekomendasikan untuk menggunakan KDT karena dapat mempermudah dan memperkecil jumlah serta macam OAT yang dikonsumsi sehingga diharapkan dapat mengurangi resistensi terhadap OAT.<sup>[1]</sup>

Terjadinya resistensi *M. tuberculosis* terhadap OAT merupakan krisis kesehatan yang ditemukan pada pengobatan TB. Resistensi merupakan keadaan dimana OAT tidak mampu membunuh bakteri *M. tuberculosis*.<sup>[12]</sup> Resistensi *M. tuberculosis*

biasanya meliputi beberapa jenis obat yang termasuk dalam obat lini pertama. Salah satu jenis resistensi pada TB meliputi TB MDR (*Multidrug-Resistant Tuberculosis*) atau resistensi terhadap obat ganda.<sup>[13]</sup> TB MDR merupakan resistensi terhadap 2 jenis OAT lini pertama, yaitu *isoniazid* dan *rifampicin*.<sup>[14]</sup> Jenis resistensi lain meliputi TB XDR (*Extensively Drug Resistant Tuberculosis*) yang merupakan MDR ditambah resistensi terhadap golongan obat florokuinolon atau florokuinolon ditambah linezolid atau florokuinolon ditambah bedaquiline atau linezolid ditambah bedaquiline.<sup>[15]</sup> Saat ini, kejadian resistensi OAT meningkat pesat di seluruh dunia. 3,5% dari kasus TB baru dan 18% dari kasus TB dalam pengobatan merupakan kasus MDR/XDR-TB.<sup>[1]</sup> Data dari WHO menunjukkan jumlah kejadian TB MDR sebesar lebih dari 480 ribu di tiap tahunnya di dunia dan 9% diantaranya berkembang menjadi TB XDR dikemudian hari.<sup>[1]</sup> Padahal, pengobatan TB MDR/XDR lebih rumit bila dibandingkan dengan TB biasa.<sup>[16]</sup> WHO melaporkan bahwa pada tahun 2017, hanya sekitar 55% saja penderita TB MDR/XDR yang dapat diobati.<sup>[1]</sup> Beberapa penelitian menunjukkan bahwa pengobatan TB resisten obat membutuhkan waktu yang lebih lama, paduan pengobatan yang lebih rumit, rejimen obat yang lebih mahal, lebih toksik, dan *evidence-based* pengobatan yang tergolong masih rendah.<sup>[17]</sup> Penelitian lain berdesain *cohort* menunjukkan bahwa 50% pasien TB MDR yang menerima pengobatan jangka panjang mengalami efek samping obat yang berat.<sup>[1]</sup> Apabila kejadian TB MDR/XDR semakin meningkat, maka keadaan ini nantinya dapat

menyebabkan terjadinya epidemi kasus TB yang sulit ditangani dan memperbesar risiko kematian pada penderita TB yang resisten.

Penyebab utama timbulnya resistensi terhadap OAT adalah pengobatan yang tidak adekuat (*secondary drug resistant*), dimana pemakaian OAT tidak sesuai dengan aturannya, baik dari segi dosis, cara pemakaian maupun durasi pemakaian obat.<sup>[14]</sup> Namun, resistensi terhadap OAT juga bisa terjadi secara langsung jika penderita tertular oleh bakteri *M. tuberculosis* yang sudah resisten dari penderita TB (*primary drug resistant*). Resistensi terhadap OAT biasanya dapat terjadi akibat mutasi yang dialami *M. tuberculosis*.<sup>[18]</sup> Mutasi ini terjadi karena pengaruh pengobatan yang tidak adekuat membunuh seluruh *M. tuberculosis* yang ada sehingga bakteri yang bertahan hidup dapat mengalami mutasi. Bahkan, *M. tuberculosis* yang mengalami mutasi ini menjadi semakin virulen. Mutasi ini terjadi pada tingkat gen yang akan mengkode enzim yang sebelumnya menjadi target OAT, sehingga OAT yang sebelumnya digunakan tidak dapat mengganggu kerja enzim *M. tuberculosis* yang menjadi target pengobatan.<sup>[14]</sup> Oleh karena itu, perlu dilakukan pengembangan terapi untuk mengurangi peningkatan kejadian TB MDR/XDR. Berangkat dari ketidakefektifan target terapi pada pengobatan *M. Tuberculosis* yang bermutasi sehingga menyebabkan resistensi, penulis meninjau potensi target terapi yang lebih mutakhir dalam pengobatan TB resistensi obat. Penulis menggunakan CtpF-*inhibitor* sebagai inovasi terapi target terbaru dalam pengobatan TB MDR/XDR.

Sebelumnya, *P-type ATPase* dianggap sebagai target pengobatan yang menarik karena memiliki peran penting dalam homeostasis ion dan kelangsungan hidup bakteri.<sup>[19]</sup> *P-type ATPase* adalah transporter ion yang bergantung pada ATP.<sup>[20]</sup> Dalam hal ini, CtpF pada plasma membran *M. Tuberculosis* (CtpF Mtb) merupakan salah satu tipe *P-type ATPase* yang mentransportasikan ion  $\text{Ca}^{2+}$  dan berperan dalam merespon kondisi stres intrafasosomal, termasuk stres oksidatif, nitrit oksida dan keadaan hipoksia.<sup>[21]</sup> *P-type ATPase* telah berhasil digunakan sebagai target dari senyawa antimikroba, misalnya pada antimalaria artemisin, yang menghambat PfATP6, sebuah  $\text{Ca}^{2+}$  *P-type ATPase* retikulum sarko-endoplasma (SERCA) pada *Plasmodium falciparum*.<sup>[22]</sup> Penelitian lain menunjukkan *Thapsigargin* berhasil menghambat replikasi *Newcastle disease virus* (NDV) dan *Peste des petits ruminants virus* (PPRV) dengan menghambat SERCA.<sup>[23]</sup> SERCA merupakan homolog CtpF Mtb pada organisme eukariotik yang lebih tinggi.<sup>[24]</sup> Dari kedua sudut pandang tersebut, *P-type ATPase* dapat menjadi target baru dalam merancang OAT pada pengobatan TB MDR/XDR. Adapun tujuan dari peninjauan CtpF Mtb sebagai inovasi target terapi baru pada pengobatan TB MDR/XDR nantinya diharapkan dapat dikembangkan untuk mengurangi kejadian TB MDR/XDR sekaligus menurunkan kematian akibat TB resistensi tersebut.

## 2. METODE

Penulis menggunakan metode literatur review yaitu narrative review

pada pembuatan tinjauan. Sumber data yang digunakan dalam pembuatan tinjauan meliputi *Pubmed*, *Science Direct*, *Google Scholar*, dan *Research gate*. Pencarian terbatas pada jurnal dan *guidelines* yang dipublikasikan pada tahun 2011–2020. Total kepustakaan yang digunakan adalah 88. Adapun kriteria inklusi untuk jurnal yang digunakan sebagai sumber data meliputi jurnal yang diterbitkan dalam kurun waktu 10 tahun terakhir, memiliki bahasan yang relevan terhadap topik tinjauan ini, dan memiliki kesesuaian antara tujuan penelitian dan kesimpulan jurnal tersebut. Sedangkan untuk kriteria eksklusi jurnal yang digunakan sebagai sumber data apabila tidak memenuhi kriteria inklusi. Penulis kemudian menganalisis jurnal-jurnal yang memenuhi kriteria inklusi tersebut dan membuat kesimpulan di akhir tinjauan. Kata kunci yang digunakan dalam pembuatan tinjauan pustaka ini adalah *Mycobacterium tuberculosis*, *MDR TB*, *XDR TB*, *P-type ATPases*, dan *CtpF*.

## 3. PEMBAHASAN

Tuberkulosis (TB) adalah suatu penyakit infeksi menular kronis yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*, yang dapat menyerang berbagai organ, terutama organ paru.<sup>[25]</sup> Penyakit TB yang tidak diobati atau pengobatan yang tidak tuntas dapat menimbulkan berbagai komplikasi hingga kematian. Kurangnya vaksin yang efektif, lamanya pengobatan, mahalanya rejimen obat, terbatasnya alat diagnostik di negara-negara endemik TB, kurangnya langkah-langkah yang efektif dalam pengendalian TB serta kurangnya kesadaran masyarakat mengenai TB dapat mengakibatkan timbulnya TB sebagai pandemi global.<sup>[26]</sup>

Meskipun TB merupakan penyakit menular yang dapat diobati, nyatanya angka mortalitas akibat TB masih tinggi dan menduduki 10 besar penyakit dengan angka kematian tertinggi di dunia. Hal ini selaras dengan data WHO yang menunjukkan total kematian akibat TB sebanyak 1.6 juta pada tahun 2017.<sup>[1]</sup> Salah satu alasan utama terjadinya hal tersebut adalah adanya peningkatan kejadian resistensi TB terhadap obat anti tuberculosis (OAT).<sup>[12,27]</sup> Salah satu jenis TB resisten obat diantaranya adalah TB MDR dan TB XDR. TB MDR (*Multidrug- Resistant Tuberculosis*) adalah keadaan dimana bakteri *M. tuberculosis* tidak dapat lagi dibunuh atau resisten terhadap minimal 2 OAT lini pertama yang paling poten, yaitu *isoniazid* dan *rifampicin* secara bersama-sama atau disertai resisten terhadap OAT lini pertama lainnya seperti *ethambutol*, *streptomycin* dan *pyrazinamide*.<sup>[9,12,28]</sup> Sedangkan TB XDR (*Extensively Drug Resistant Tuberculosis*) adalah TBC MDR disertai dengan resistensi terhadap golongan obat florokuinolon atau florokuinolon ditambah linezolid atau florokuinolon ditambah bedaquiline atau linezolid ditambah bedaquiline.<sup>[12,27]</sup> Kejadian TB MDR/XDR semakin meningkat di tiap tahunnya. Data dari WHO menunjukkan jumlah kejadian TB MDR sebesar lebih dari 480 ribu di tiap tahunnya di dunia dan 9% diantaranya berkembang menjadi TB XDR di kemudian hari.<sup>[1]</sup>

Pengobatan TB MDR/XDR lebih sulit dibandingkan dengan pengobatan TB biasa.<sup>[29]</sup> Menurut Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, pengobatan TB resisten obat membutuhkan waktu yang lebih lama, yaitu sekitar 18-24 bulan.<sup>[9]</sup> Selain itu, pengobatan TB MDR/XDR memiliki

pilihan obat yang lebih sedikit, dengan harga obat-obatan yang lebih mahal (sekitar 100 kali lipat dibanding pengobatan TB biasa), panduan pengobatan yang lebih rumit, dan efek samping pengobatannya juga lebih berat.<sup>[4,17]</sup> Pedoman pengobatan TB MDR/XDR yang banyak digunakan saat ini di seluruh dunia adalah pengobatan sesuai Menurut *WHO-Consolidated Guidelines on Tuberculosis* tahun 2020, pengobatan TB MDR/XDR dibagi menjadi 3 kelompok berdasarkan potensi dan efikasi obat penanganan TB MDR/XDR. Kelompok A, meliputi levofloxacin atau moxifloxacin, bedaquiline, linezolid. Kelompok B meliputi obat clofazimine, cycloserine atau terizidone. Sedangkan kelompok C regimen obat meliputi ethambutol, delamanid, pyrazinamide, impenem-cilastatin atau meropenem, amikacin atau streptomycin, ethionamide atau prothionamide, dan *p-aminosalicylic acid*.<sup>[30,31]</sup>

Pengobatan TB MDR/XDR yang saat ini tersedia ternyata tidak memberikan hasil yang signifikan dan tuntas.<sup>[17]</sup> Penelitian *cohort* pada tahun 2009 di 107 negara yang mengobati TB MDR sesuai PMDT 2008 mendapatkan hasil yang tidak memuaskan dengan angka keberhasilan tertinggi hanya mencapai 58%, yaitu di kawasan Mediterania timur. Pada penelitian tersebut juga didapatkan angka kematian sebesar 12-19% selama masa pengobatan TB MDR sesuai pedoman PDMT 2008. Secara keseluruhan dari penelitian tersebut didapati angka kesuksesan pengobatan hanya 48%, angka putus berobat 28%, dan kegagalan pengobatan 10%.<sup>[1,30,31]</sup> Penelitian lain yang dilakukan oleh Chiang dkk pada tahun 2013 mempermasalahkan terlalu panjangnya jangka waktu

pengobatan dari paduan yang direkomendasikan oleh WHO dengan total lama pengobatan minimal 20 bulan. [31,32] Hasil *cohort* dari penelitian tersebut mendapati bahwa sekitar 20-50% pasien TB MDR yang diobati dengan jangka panjang terpapar efek samping obat yang berat. [30,33] Oleh karena itu, saat ini terus dilakukan pembaharuan dan penelitian untuk menemukan OAT terbaru yang efektif dan efisien dalam pengobatan TB MDR/XDR.

Resistensi *M. tuberculosis* terhadap OAT dapat terjadi baik pada OAT lini pertama maupun lini kedua. [34] Resistensi terhadap OAT ini pada umumnya terjadi akibat mutasi bakteri tersebut pada tingkat gen. Gen yang mengalami mutasi ini berperan untuk mengkode enzim yang menjadi target OAT sehingga OAT tidak dapat membunuh *M. Tuberculosis* yang bermutasi.

**Tabel 1.** Gen dan protein yang terlibat dalam resistensi anti tuberkulosis

<i>Anti Tuberculosis Drug</i>	<i>Gene Mutated</i>	<i>% of Mutation</i>	<i>Product of that Gene</i>
		40	Catalase
<i>Isoniazid</i>	KatG	-	se- peroxidase
		15	Reductase
<i>Isoniazid</i>	InhA	-	analog
		43	Hydroperoxidase
<i>Isoniazid</i>	ahpC	10	reductase
			Carrier protein
<i>Isoniazid</i>	kasA	U	<i>nk</i>

		<i>no</i>	synthase
		<i>wn</i>	
<i>Rifampicin</i>	rpoB	>96%	Subunit RNA polymerase
<i>Pyrazinamide</i>	pncA	72-97%	Pyrazinamide
<i>Ethambutol</i>	embB	47-65%	Arabinosyl transferase
<i>Streptomycin</i>	rpsL	70%	Ribosomal protein S12
<i>Streptomycin</i>	Rrs	70%	16S Rna
<i>Floroquinolones</i>	gyrA	75-94%	DNA gyrase A subunit

*Isoniazid* bersifat bakterisidal dengan membunuh bakteri *M. tuberculosis* yang sedang aktif bermultiplikasi. [35] *Isoniazid* akan dirubah menjadi metabolit aktif di dalam sel agar menjadi substansi toksik untuk sel mikobakterial. [36] *Isoniazid* akan diubah oleh enzim katalase-peroksidase menjadi bentuk aktif KatG dimana enzim ini dikode oleh gen katG. Bentuk aktif tersebut akan bereaksi dengan *Nicotinamide adenine dinucleotide* (NADH) yang merupakan suatu kofaktor yang terikat pada enzim InhA yang dikode gen InhA dan membentuk ikatan kovalen INH-NAD. Ikatan ini nantinya akan mengambat sintesis asam mikolat yang merupakan salah satu bahan utama membentuk dinding sel *M. tuberculosis*. Selain itu, *isoniazid* juga berperan dalam

mengaktifkan gen *kasA* untuk mengkode enzim yang dapat menyebabkan terjadinya elongasi dari asam lemak intermediet sebagai bahan pembentuk dinding sel. Adanya mutasi pada gen *KatG*, *inhA* dan *kasA* membuat *isoniazid* kehilangan target terapinya dan terjadi resistensi.<sup>[37]</sup>

Selanjutnya *rifampicin*, OAT yang bekerja dengan menghambat sintesis asam nukleat dengan target utama *RNA polymerase*.<sup>[38]</sup> Penghambatan *RNA polymerase* akan menghambat proses transkripsi yang berakibat pada kematian *M. tuberculosis*. *RNA polymerase* dibentuk oleh 4 subunit yang masing-masing dikode oleh gen *rpo A*, *rpoB*, *rpoC* dan *rpoD*. *Rifampicin* akan terikat secara spesifik dengan subunit  $\beta$  yang dikode oleh gen *rpo B*. Mutasi pada gen *rpo B* akan menyebabkan perubahan konformasi pada target kerja *rifampicin*, yaitu tempat ikatan pada subunit  $\beta$ .<sup>[39]</sup> Hal ini yang menyebabkan resistensi terhadap obat *rifampicin*.

OAT lainnya yaitu *pyrazinamide* yang membunuh *M. tuberculosis* dalam keadaan semi dorman. Target utama *pyrazinamide* adalah enzim yang berperan dalam sintesis asam lemak.<sup>[40]</sup> *Pyrazinamide* akan diubah ke bentuk aktif *pyrazinoic acid* yang dikonversi oleh enzim *pyrazinamidase*. Enzim ini dihasilkan oleh fagolisosom *M. tuberculosis* yang dikode oleh gen *pncA*. Penumpukan *pyrazinoic acid* dalam sitoplasma *M. tuberculosis* akan menyebabkan penurunan pH intrasel dan mengganggu sintesis asam lemak pada bakteri tersebut. Adanya mutasi pada gen *pncA* membuat enzim *pyrazinamidase* tidak dapat mengkonversi *pyrazinamide* kedalam

bentuk aktif sehingga tidak dapat bekerja dan menjadi resisten.<sup>[41]</sup>

Kemudian OAT lain, yaitu *ethambutol*. *Ethambutol* merupakan OAT spektrum luas yang pemberiannya harus digabung dengan OAT lainnya untuk dapat membunuh *M. tuberculosis* secara menyeluruh.<sup>[42]</sup> Target kerja utama dari *ethambutol* adalah enzim *arabinosyl transferase* yang dikode oleh gen *embA*, *embB* dan *embC*. Enzim ini terlibat dalam proses pembentukan arabinan, salah satu komponen arabinogalaktan dinding sel *M. tuberculosis*, sehingga nantinya terbentuk ikatan antara asam mikolat dan gugus D-arabinose dari arabinogalaktan. *Ethambutol* bekerja dengan membentuk ikatan bersama enzim *arabinosyl transferase* sehingga tidak terbentuk ikatan asam mikolat dan arabinogalaktan pada dinding sel. Hal ini mengakibatkan terjadinya permeabilitas dinding sel yang akan memudahkan masuknya OAT lain.<sup>[43]</sup> Terjadinya mutasi pada lokus gen *embB* akan menyebabkan perubahan target kerja dari *ethambutol*, sehingga terjadi resistensi.<sup>[44]</sup>

OAT lini pertama lainnya meliputi *streptomycin*. *Streptomycin* merupakan OAT golongan aminoglikosida. *Streptomycin* bekerja dengan target utama pada tingkat ribosom.<sup>[45]</sup> Dalam hal ini yang berperan adalah gen *rrs* yang mengkode 16S rRNA dan gen *rpsL* yang mengkode S12 ribosom. Interaksi *streptomycin* dengan 16S rRNA dan S12 ribosom akan menyebabkan terjadinya perubahan pada ribosom dan *misreading* pada mRNA sehingga proses sintesis protein terganggu. Namun, mutasi yang terjadi pada gen *rpsL* dan gen *rrs* dapat mempengaruhi struktur 16S rRNA dan S12 ribosom sehingga



terjadi resistensi terhadap *streptomycin*.<sup>[46]</sup>

Kejadian resistensi OAT dilatarbelakangi oleh mutasi gen pada *M. tuberculosis* yang mengakibatkan perubahan target kerja dari OAT yang sebelumnya sudah tersedia.<sup>[14,47]</sup>

Untuk itu, diperlukan OAT dengan target kerja yang berbeda dari OAT sebelumnya dan tidak mudah mengalami mutasi untuk mengatasi kejadian resistensi tersebut. Sebuah penelitian membuktikan bahwa *P-type ATPase* dapat menjadi target terapi antimikroba yang sukses. *P-type ATPase* merupakan golongan protein membran yang relevan untuk mempertahankan homeostasis seluler dan menghasilkan gradien elektrokimia untuk kelangsungan hidup sel.<sup>[24]</sup>

Salah satu contoh obat yang menggunakan *P-type ATPase* sebagai target kerja adalah antimalaria *artemisinin* yang menghambat PfATP6, tipe *sarco-endoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase* (SERCA) dari *Plasmodium falciparum*.<sup>[48]</sup> Obat lainnya yaitu *Thapsigargin* berhasil menghambat replikasi *Newcastle disease virus* (NDV) dan *Peste des petits ruminants virus* (PPRV) dengan menghambat SERCA1.<sup>[23]</sup>

SERCA merupakan salah satu tipe *P-type ATPase* pada eukariotik yang homolog dengan CtpF yang ada pada membran plasma *M. tuberculosis*.<sup>[49-51]</sup> Studi terbaru juga menyebutkan bahwa jenis *P-type ATPase* CtpF merupakan terapi target yang menarik karena memiliki peran penting dalam homeostasis ion dan kelangsungan hidup bakteri *Mycobacterium* selama proses infeksi.<sup>[21,52-55]</sup>

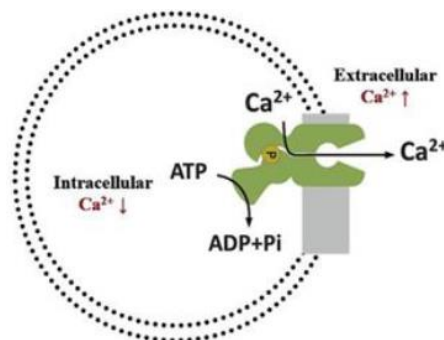
Sebelumnya, *P-type ATPases* merupakan transporter ion yang menggunakan energi dari hidrolisis ATP sehingga ion dapat melintasi membran sel.<sup>[56-57]</sup> *P-type ATPase*

terdiri dari tiga domain, yaitu *nucleotide binding* (N), *phosphorylating* (P), dan *actuator* (A); bersama dengan 2TMD, bernama *transmembrane transport* (T) dan *class-specific support domains* (S).<sup>[57]</sup> Selain itu, *P-type ATPase* memiliki dua keadaan konformasi, yaitu: E1, dimana ion-ion melekat pada sisi sitoplasma membran sel untuk mempromosikan autofosforilasi, menghasilkan keadaan konformasi baru, dan E2, dimana substrat memiliki afinitas rendah, mempromosikan translokasi ion melintasi membran sel.<sup>[49,58]</sup> *P-type ATPase* diklasifikasikan menjadi lima subfamili (P1-P5), berdasarkan spesifisitas ionik dan karakteristik struktural: *P<sub>1A</sub>-type bacterial potassium transporters*; *P<sub>1B</sub>-type heavy metal pumps*; *P<sub>2</sub>-type alkaline/alkaline earth metal transporters*; *P<sub>3A</sub>-type H<sup>+</sup> pumps*; *P<sub>3B</sub>-type bacterial Mg<sup>2+</sup> pumps*; *P<sub>4</sub>-type putative lipid flippases*; dan *uncharacterized P<sub>5</sub>-type ATPase pumps*.<sup>[56,57,59]</sup> Penelitian bioinformatika mengidentifikasi 11 *P-type ATPase* dalam genom *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), yaitu tujuh tipe P1B dan empat tipe P2.<sup>[60]</sup>

Genom *M. tuberculosis* yang memiliki 11 tipe *P-type ATPase* diklasifikasikan berdasarkan kation yang ditransportasikan, diantaranya: i) *heavy-metal transporters*, seperti CtpA, CtpB, CtpC, CtpD, CtpG, CtpJ serta CtpV, dan ii) *alkali / alkaline earth transporters*, seperti CtpE, CtpF, CtpH, serta CtpI. Beberapa *P-type ATPase M. tuberculosis* menampilkan fungsi biologis yang relevan; misalnya CtpV terlibat dalam toleransi Cu<sup>2+</sup>, CtpC dikaitkan dengan efluks Zn<sup>2+</sup>, dan CtpD menunjukkan afinitas baik antara Co<sup>2+</sup> maupun Zn<sup>2+</sup>,

menunjukkan bahwa *P-type ATPase* dapat menjadi enzim yang multifungsi. [21] Adapun *P-type ATPase* yang paling berperan dalam kelangsungan hidup bakteri *M. tuberculosis* dalam tubuh *host* adalah CtpF. [24]

CtpF *Mtb* merupakan transporter efluks  $\text{Ca}^{2+}$  ke ekstraseluler dengan melawan gradien konsentrasi (Gambar 1). [24,61]  $\text{Ca}^{2+}$  dianggap sebagai regulator sel baik pada organisme prokariotik maupun eukariotik. [51] Berbagai proses fisiologi kritis, seperti pertumbuhan sel, motilitas, sporulasi, dan pengembangan berbagai struktur bakteri diatur oleh konsentrasi  $\text{Ca}^{2+}$  sitosolik pada bakteri. [62] Pada *M. tuberculosis*,  $\text{Ca}^{2+}$  terlibat langsung dalam mekanisme transpor membran, mempertahankan strukturnya, replikasi, ekspresi gen dan juga berperan dalam mekanisme pertahanan dari kondisi stres yang tidak menguntungkan. [63,64] Oleh karena itu, sistem homeostatis oleh konsentrasi  $\text{Ca}^{2+}$  sangat penting untuk kelangsungan hidup *M. tuberculosis*. [63] Oleh karena itu, CtpF sebagai transporter  $\text{Ca}^{2+}$  dapat digunakan sebagai target terapi OAT terbaru. Dengan penghambatan CtpF, maka homeostasis  $\text{Ca}^{2+}$  sebagai regulator pada *M. tuberculosis* akan terganggu dan bakteri tersebut tidak dapat menjalankan fungsi fisiologisnya. Hal ini nantinya akan menyebabkan hilangnya kemampuan replikasi dan juga kematian pada *M. tuberculosis*.



**Gambar 1.** CtpF: Pompa Efluks Kalsium Melawan Gradien Konsentrasi<sup>[31]</sup>

Secara spesifik, CtpF *Mtb* merespon zat-zat toksik yang dapat menyebabkan stres pada *M. tuberculosis* selama berada di intrafagosomal, seperti *reactive nitrogen species* (RNS) dan *reactive oxygen species* (ROS). [52,53,65] Pada level molekular, stres oksidatif/ROS bersifat bakterisidal yang mampu membunuh patogen asing di tubuh. [66] ROS menyebabkan kerusakan via ikatan langsung ROS dengan sisi rantai asam amino, menyebabkan perubahan struktur dan juga fungsi dari protein. [67] Selain itu, ROS memiliki efek toksik terhadap bakteri karena dapat menghancurkan DNA, protein, lipid secara langsung atau dapat secara tidak langsung merusak asam nukleat via oksidasi pada rantai nukleotida bakteri. [68] Hal ini terjadi karena interaksi antara ROS dan bakteri melalui berbagai proses biokimia, termasuk reaksi Fenton dan siklus asam trikarboksik. [69] *M. tuberculosis* menginvasi dan bereplikasi dalam makrofag. [70] Sebagai respon imun, makrofag yang terinfeksi akan menghasilkan ROS dengan kadar tinggi untuk membunuh *M. tuberculosis*. [71,72] Hal ini selaras dengan hasil suatu studi terhadap kadar *malondiadehyde* yang meningkat

pada pasien dengan infeksi *M. tuberculosis*, dimana *malondiadehyde* adalah suatu indikator peroksidasi lipid yang menunjukkan tingginya kadar ROS dalam tubuh.<sup>[72]</sup> Kadar ROS yang diproduksi oleh makrofag menentukan kelangsungan hidup *M. tuberculosis*.<sup>[73]</sup> Sebenarnya, *M. tuberculosis* memiliki mekanisme pertahanan tersendiri melalui berbagai proses biomolekuler yang dapat menghindarkan pengaruh ROS.<sup>[66]</sup> Salah satunya dengan aktivasi CtpF yang menghasilkan respon redoks. Selain itu, fungsi CtpF sebagai transporter  $Ca^{2+}$  juga berguna dalam mekanisme pertahanan terhadap ROS. Studi menunjukkan bahwa akumulasi  $Ca^{2+}$  dapat mengaktifkan sistem molekuler yang merespon terhadap stres oksidatif.<sup>[24,74]</sup> Peningkatan kadar kalsium intraseluler bersifat sementara untuk menjaga kelangsungan hidup *M. tuberculosis*.<sup>[62,63]</sup> Studi lain juga menunjukkan adanya korelasi antara  $Ca^{2+}$  *pumping* dan stres oksidatif pada strain Mtb-CtpF dengan timbulnya respon hipersensitifitas terhadap agen oksidasi.<sup>[66]</sup>

Selain ROS, RNS juga menjadi zat yang bersifat toksik bagi *M. tuberculosis*.<sup>[75]</sup> Dalam makrofag, aktivasi NOS diinduksi oleh sitokin-sitokin yang diproduksi oleh limfosit Th1. Aktivasi NOS akan menstimulasi pembentukan NO, yang akan bereaksi dengan superoksida membentuk bentuk RNS.<sup>[76]</sup> RNS yang diproduksi berifat bakteriostatik yang kemudian akan menyerang makromolekul *M. tuberculosis* untuk membantu memperlambat atau menghentikan replikasi bakteri

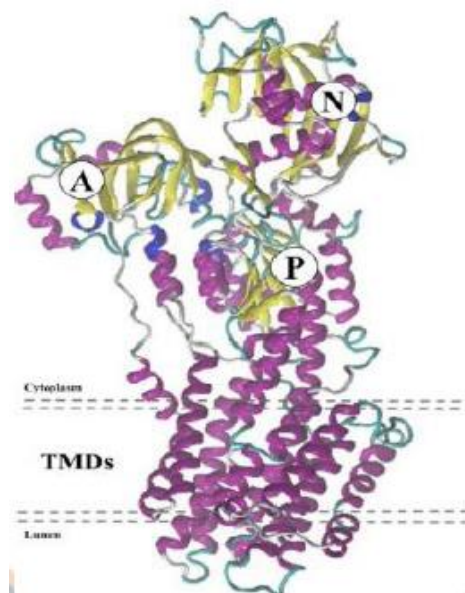
tersebut.<sup>[66,77,78]</sup> Dalam keadaan ini, *M. Tuberculosis* akan dorman atau memasuki fase laten. Fase dorman diinduksi oleh DosR, sebuah faktor transkripsi yang nantinya akan mengkode gen-gen yang berkaitan dengan dormansi dari *M. tuberculosis*.<sup>[79,80]</sup> DosR ini juga akan meregulasi ekspresi CtpF.<sup>[24]</sup> CtpF akan membantu *M. tuberculosis* untuk tetap bertahan hidup saat fase dorman dalam keadaan tinggi NO.<sup>[81]</sup> Berdasarkan kedua sudut pandang tersebut, CtpF dapat dijadikan sebagai target terapi yang apabila dihambat dapat menyebabkan *M. tuberculosis* kehilangan kemampuannya dalam bertahan di kondisi stres selama proses infeksi.

Selain berperan dalam homeostasis  $Ca^{2+}$  dan menjaga kelangsungan kehidupan *M. tuberculosis*, CtpF masih memiliki keunggulan lain. Studi tentang CtpF menunjukkan bahwa CtpF ternyata memiliki kemampuan mutasi yang sangat rendah. Hal ini membuat CtpF dapat dijadikan sebagai target terapi OAT terbaru yang tidak rentan mengalami resistensi seperti OAT lainnya.<sup>[82]</sup>

Saat ini, telah dikembangkan berbagai uji untuk melihat bagaimana efek CtpF-*inhibitor* sebagai terapi target terbaru untuk menciptakan OAT yang lebih mutakhir, seperti *cyclopiazonic acid* (CPA) dan ZINC.<sup>[22]</sup> Sebuah penelitian oleh Paola dkk melakukan uji coba terhadap *cyclopiazonic acid* (CPA) yang menjadi *inhibitor* dari SERCA, dimana SERCA sebagai homolog dari CtpF dengan tingkat kemiripan yang hampir sama.<sup>[22,83]</sup> Penelitian tersebut berhasil membuktikan bahwa CPA ternyata dapat

menghambat aktivitas  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase pada *Mycobacterium* yang dimediasi oleh CtpF pada konsentrasi sebanding dengan penghambatan SERCA1a dan PfATP6.<sup>[84]</sup> CPA merupakan asam indol tetramik yang secara alami diproduksi oleh jamur *Penicillium* dan *Aspergillus*.<sup>[85]</sup> CPA juga berfungsi sebagai antivirus dimana CPA mampu mengubah homeostasis  $\text{Ca}^{2+}$  intraseluler untuk virus *respiratory syncytial virus* (RSV) yang berakibat pada terhentinya transkripsi dan replikasi virus tersebut.<sup>[86]</sup> Secara keseluruhan, CPA bertindak pada TMD (*Trans Membrane Domain*) yang terlibat dalam transport  $\text{Ca}^{2+}$  *P-type ATPase* dan membuat  $\text{Ca}^{2+}$  *P-type ATPase* menjadi kaku serta melakukan blok pada transpor  $\text{Ca}^{2+}$ .

Analisis dari asam amino mencerminkan bahwa CtpF Mtb merupakan transporter kation alkali yang homolog dengan isoform SERCA1 pada organisme eukariotik.<sup>[60]</sup> Oleh karena itu, Paola dkk membuat prediksi struktur tiga dimensi CtpF dengan pemodelan homologi yang menggunakan struktur kristal SERCA1a dalam bentuk mirip E2.P serta distabilkan dengan CPA sebagai template (Gambar 2).<sup>[22,87]</sup>



**Gambar 2.** Model Struktur CtpF Mtb yang Diprediksi dengan Pemodelan Homologi; Domain sitoplasma berupa: (N) *nucleotide-binding*, (P) *phosphorylation*, (A) *actuator*, dan *transmembrane domains* (TMDs)<sup>[33]</sup>

Baik struktur SERCA1a dan CtpF tiga dimensi menunjukkan struktur global yang sangat mirip, termasuk sebagian besar residu disekitar situs pengikatan CPA dengan posisi yang hampir sama. Kesamaan pengikatan CPA baik pada CtpF dan SERCA1a menunjukkan bahwa ligan CPA ini memiliki orientasi yang sama di kedua situs pengikatannya. Tabel 2 menunjukkan residu di sekitar CPA di kedua situs pengikatan SERCA1a dan CtpF. Diantara 13 residu yang diidentifikasi, perbedaan utama antara dua sekuen terletak pada Asp59, Val62, dan Leu98 dalam SERCA1a yang masing-masing menyerupai His66, Ile69 dan Val95 dalam CtpF. Semua residu ini dekat dengan gugus asam tetramat CPA.<sup>[22]</sup> CPA dan enam senyawa terpilih diuji

aktivitas anti-*Mycobacterium*nya terhadap strain standar Mtb H37Rv (Tabel 2).<sup>[88]</sup>

**Tabel 2.** Perbandingan Antara Residu Situs Pengikatan CPA pada SERCA1a dan CtpF (Perbedaan Residu ditunjukkan dengan huruf tebal)<sup>[22]</sup>

Residu situs pengikatan pada SERCA1a	Residu situs pengikatan pada CtpF
<b>Gln56</b>	Gln63
<b>Asp59</b>	<b>His66</b>
<b>Leu61</b>	Leu68
<b>Val62</b>	<b>Ile69</b>
<b>Leu98</b>	<b>Val95</b>
<b>Asn101</b>	Asn98
<b>Ala102</b>	Ala99
<b>Leu253</b>	Leu245
<b>Phe256</b>	Phe248
<b>Ile307</b>	Ile289
<b>Glu309</b>	Glu 291
<b>Leu311</b>	Leu308
<b>Pro312</b>	Pro294

Gln, *glutamine*; Asp, *aspartic acid*; His, *histidine*; Leu, *leucine*; Val, *valine*; Ile, *isoleucine*; Asn, *asparagine*; Ala, *alanine*; Phe, *phenylalanine*; Glu, *glutamic acid*; Pro, *proline*.

Tabel 3 menunjukkan senyawa ZINC63908257 dan ZINC14541509 menghambat pertumbuhan *Mycobacterium* masing-masing 64,0% dan 60,7%. Karena senyawa anti-*Mycobacterium* harus melintasi dinding sel yang luas dan kompleks, persentase penghambatan pertumbuhan Mtb yang lebih tinggi dari 60% dapat dianggap sebagai aktivitas anti-*Mycobacterium* yang signifikan.<sup>[88]</sup>

Aktivitas sitotoksik juga ditunjukkan pada Tabel 3, dimana semua senyawa yang dipilih menunjukkan aktivitas sitotoksik dengan nilai lebih rendah dari 40%.

Menariknya, senyawa yang paling aktif melawan *Mycobacterium*, yaitu ZINC63908257 dan ZINC14541509, menunjukkan aktivitas sitotoksik terendah (masing-masing 12,9% dan 19,8%).

Sementara itu, CPA menampilkan sitotoksitas dengan nilai 50,8%. Mengenai aktivitas hemolitik, CPA menunjukkan hemolisis 6,6% pada 100 µg / mL.

**Tabel 3.** Hasil Bioaktivitas CPA dan Enam Senyawa yang Dipilih dengan Penyaringan Virtual dari Basis ZINC.<sup>[88]</sup>

Compound	Antimycobacterial activity		Safety evaluation (at 100 µg/ml)		Enzymatic activity IC50 (µM) ± SEM	
	MI C (µg/mL)	Inhibition (%)	Cytotoxicity (%)	Hemolytic activity (%)	Mtb WT	Mtb ΔctpF
Cyclopiazonic acid (CPA)	100	29.9	50.8	6.6	7.2 ± 0.3	94.5 ± 1.2

ZINC6390 8257	50	64	12.9	2	4.4 ± 0.3	100.5 ± 1.9
ZINC5509 0623	10 0	52.9	21.4	1.2	4.2 ± 0.2	96.9 ± 2.4
ZINC4560 5493	10 0	29.5	30	2.4	4.1 ± 0.2	76.1 ± 1.9
ZINC1454 1509	50	60.7	19.8	0.6	8.0 ± 0.6	38.4 ± 1.1
ZINC0978 7234	10 0	37.3	31.6	2.1	11.8 ± 0.6	101.9 ± 1.6
ZINC1258 4082	>2 00	N/A	39.5	1	35.9 ± 0.5	109.4 ± 2.3

MIC, *minimum inhibitory concentration*; Mtb, *Mycobacterium tuberculosis*; CtpF, *Calcium P-type ATPase*; MtbΔctpF, *Mtb H37Ra cells defective in ctpF*; Mtb WT, *Mtb H37Ra wild type*.

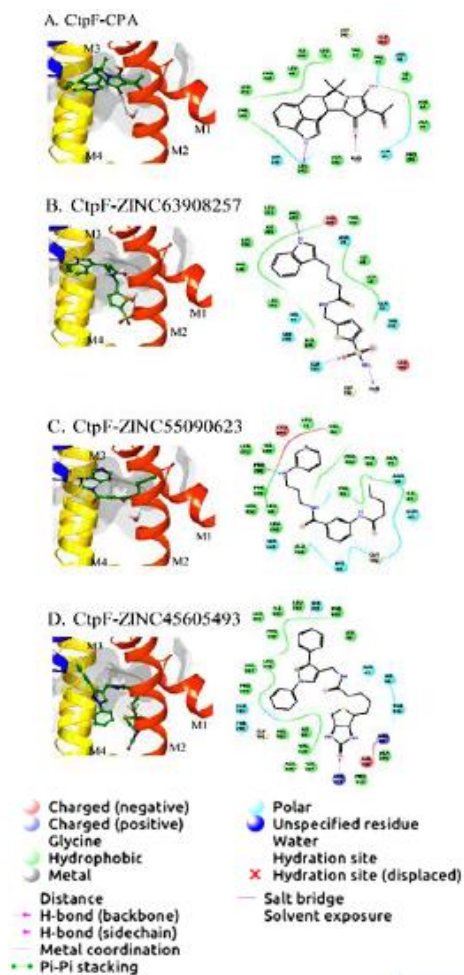
Gambar 3 menunjukkan mode pengikatan CPA dan tiga senyawa paling aktif (ZINC63908257, ZINC55090623, dan ZINC45605493) yang dibentuk oleh segmen TMD M1 - M4 dari CtpF. Semua ikatan antara CtpF dan senyawa yang paling relevan (CPA dan tiga senyawa paling aktif) juga diringkaskan dalam Tabel 4.<sup>[88]</sup>

**Tabel 4.**Residu Situs Pengikatan (Segmen TMDS M1 - M4) untuk CPA dan Tiga Senyawa yang Paling Aktif (ZINC63908257, ZINC55090623, dan ZINC45605493)<sup>[88]</sup>

Compound	Residues at 4Å from ligands	Ta ni mo to sim ilar ity
CPA	M1 (Gln63, Leu 68, Ile69, Leu72); M2 (Val95, Asn98, Ala99, Gly102); M3 (Leu245, Phe248, Ser 249); M4	1
ZINC 6390 8257	(Ile289, Pro290, Leu293, Pro294) M1 (Gln63, Hys66, Leu68, Ile69); M2 (Asn98, Ala99, Gly102, Gln105, Glu106); M3 (Thr242, Leu245, Ala246, Phe248, Ser 249); M4 (Ile289, Pro290, Glu291, Leu293, Pro294)	0.8 8
ZINC 5509 0623	M1 (Gln63, Hys66, Leu68, Ile69, Leu72); M2 (Val95, Asn98, Ala99, Gly102); M3 (Leu245, Ala246, Phe248, Ser 249); M4 (Ile289,	0.3 8

	Pro290, Glu291, Leu293, Pro294)	
ZINC	M1 (Gln63,	0.3
4560	Hys66, Leu68,	3
5493	Ile69); M2 (Ala99, Val101, Gly102, Gln105, Glu106); M3 (Thr242, Leu245, Ala246, Phe248, Ser 249, Leu252); M4 (Ile289, Pro290, Pro294, Val297)	

CPA, *cyclopiazonic acid*; Gln, *glutamine*; Asp, *aspartic acid*; Hys, *histidine*; Leu, *leucine*; Val, *valine*; Ile, *isoleucine*; Asn, *asparagine*; Ala, *alanine*; Phe, *phenylalanine*; Glu, *glutamic acid*; Pro, *proline*; Gly, *glycine*; Ser, *serine*; Thr, *threonine*



**Gambar 3.** Mode Pengikatan 3D dan 2D dari CPA dan Inhibitor Paling Aktif dengan Model CtpF. A. CPA; B. ZINC63908257; C. ZINC55090623 dan D. ZINC45605493.<sup>[88]</sup>

Berdasarkan penelitian tersebut, didapatkan bahwa ZINC6390825 menunjukkan aktivitas anti-*mycobacterium* tertinggi yaitu sekitar 60%. ZINC63908257 juga memiliki efek toksisitas terendah dalam sel eukariotik bila dibandingkan dengan CPA, yaitu sekitar 12% dan tidak memiliki efek hemolitik sehingga termasuk dalam kategori aman apabila nantinya dikonsumsi dalam dosis yang tepat.<sup>[88]</sup> Dengan demikian, ZINC63908257 menunjukkan profil farmakokinetik yang baik dan dapat menjadi kandidat CtpF-*inhibitor* terbaik.

Tetapi, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengembangkan kandidat-kandidat CtpF- *inhibitor* lainnya sebagai terapi target terbaru yang lebih mutakhir dalam pengobatan TB MDR/XDR.

#### 4. KESIMPULAN

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit infeksi menular kronis yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dan dapat menyerang berbagai organ, terutama organ paru. Resistensi *M. tuberculosis* terhadap OAT merupakan krisis kesehatan yang ditemukan pada pengobatan TB dengan angka kejadian yang meningkat setiap tahunnya. Penyebab utama timbulnya resistensi terhadap OAT ini adalah pengobatan yang tidak adekuat, dimana pemakaian OAT tidak sesuai dengan aturannya, baik dari segi dosis, cara pemakaian maupun durasi pemakaian obat. Jenis resistensi yang terjadi berupa TB MDR dan TB MDR. Keadaan ini terjadi akibat *M. tuberculosis* mengalami mutasi pada tingkat gen yang mengkode enzim-enzim yang menjadi target pengobatan OAT sebelumnya. Untuk itu, pembaharuan target terapi baru perlu dilakukan dalam pengobatan TB MDR/XDR.

*P-type ATPase* menjadi salah satu target terapi anti mikroba yang menarik dan saat ini sudah banyak dikembangkan. *P-type ATPase* merupakan golongan protein membran yang relevan untuk mempertahankan homeostasis seluler dan menghasilkan gradien elektrokimia untuk kelangsungan hidup sel. CtpF pada plasma membran *M. tuberculosis* (CtpF Mtb)

merupakan salah satu tipe *P-type ATPase* yang mentransportasikan ion  $Ca^{2+}$  dan berperan dalam merespon kondisi stres intrafasosomal. CtpF sebagai transporter  $Ca^{2+}$  berperan dalam menjaga homeostasis  $Ca^{2+}$  pada *M.tuberculosis*.  $Ca^{2+}$  merupakan regulator sel pada *M.tuberculosis* yang memiliki peran penting dalam berbagai proses biomolekuler, seperti mekanisme transpor membran, mempertahankan struktur sel, replikasi, ekspresi gen dan juga berperan dalam mekanisme pertahanan dari kondisi stres yang tidak menguntungkan. Oleh karena itu, sistem homeostatis konsentrasi  $Ca^{2+}$  sangat penting untuk kelangsungan hidup *M. tuberculosis*. Penghambatan CtpF akan mengganggu homeostasis  $Ca^{2+}$  dari *M.tuberculosis* sehingga bakteri tersebut tidak dapat menjalankan fungsi fisiologisnya dan berakhir pada kematian serta terhentinya replikasi bakteri. Selain itu, CtpF memiliki fungsi penting lain dalam mempertahankan kelangsungan hidup dari *M. tuberculosis*. CtpF berperan dalam mekanisme respon untuk melawan kondisi stres intrafagosomal akibat zat-zat toksik, seperti ROS dan RNS. Dalam proses infeksi, makrofag yang dimasuki *M. tuberculosis* akan mengeluarkan respon imunitas, salah satunya dengan adanya pembentukan ROS dan RNS. ROS bersifat bakterisidal dengan membunuh *M. tuberculosis* via jalur-jalur molekuler. Sedangkan RNS bersifat bakteriostatik terhadap *M. tuberculosis*, dimana RNS dapat menghambat dan menghentikan proses replikasi bakteri. Dalam hal ini, CtpF memberikan respon



redoks untuk bertahan selama keadaan tinggi ROS dan juga mengaktifkan fase dorman untuk menyelamatkan *M. tuberculosis* dari RNS. Apabila CtpF dihambat, maka *M. tuberculosis* akan kehilangan pertahanannya dan menjadi lebih mudah untuk mati. CtpF juga memiliki keunggulan lain sebagai target terapi, yaitu kemampuan mutasinya sangat rendah. Hal ini berbanding terbalik dengan OAT yang sudah ada sebelumnya, dimana target-target kerja dari OAT tersebut sangat mudah mengalami mutasi sehingga rentan untuk resisten. Kespesifikan respon yang terjadi saat CtpF dihambat, seperti hilangnya kemampuan fungsi fisiologi bakteri dan mekanisme pertahan bakteri menjadi lemah serta kemungkinan mutasi yang rendah membuat CtpF dapat dijadikan sebagai target terapi baru yang lebih mutakhir dalam pengembangan CtpF-*inhibitor* untuk pengobatan TB MDR/XDR.

Saat ini, banyak dilakukan penelitian untuk mencari kandidat-kandidat CtpF-*inhibitor*. ZINC tipe ZINC63908257 menunjukkan profil farmakokinetik sebagai CtpF-*inhibitor* yang paling baik diantara beberapa kandidat lainnya, dengan efek aktivitas anti-*mycobacterium* tertinggi, level toksisitas terendah dan juga tidak menimbulkan efek samping hemolitik. Tetapi, perlu dilakukan *clinical trial phase I* mengenai ZINC6390825 untuk menentukan keamanan, efek samping, dan dosis yang tepat. Kedepannya, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengembangkan kandidat-kandidat CtpF-*inhibitor* lainnya sebagai terapi target terbaru yang

lebih mutakhir dalam pengobatan TB MDR/XDR. Pengembangan ini nantinya diharapkan dapat mengatasi permasalahan keterbatasan obat pada TB MDR/XDR, mengurangi kejadian TB MDR/XDR serta menurunkan angka kematian akibat TB MDR/XDR.

## DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization. *Global Tuberculosis Report [Internet]*. 2018. 265 p. Available from: <http://www.who.int/iris/handle/10665/274453>.
2. Kementerian Kesehatan RI. *Pusat data dan informasi kementerian kesehatan Republik Indonesia. Tuberculosis*. 2018.
3. Nurjana MA. *Faktor Risiko Terjadinya Tuberculosis Paru Usia Produktif (15-49 Tahun) di Indonesia*. Media Penelit dan Pengemb Kesehat. 2015;
4. Collins D, Hafidz F, Mustikawati D. *The economic burden of tuberculosis in Indonesia*. Int J Tuberc Lung Dis. 2017;
5. Lange C, Kalsdorf B, Maurer FP, Heyckendorf J. *Tuberculosis*. Internist. 2019;
6. Duarte R, Lönnroth K, Carvalho C, Lima F, Carvalho ACC, Muñoz-Torrico M, et al. *Tuberculosis, social determinants and co- morbidities (including HIV)*. Pulmonology. 2018.
7. Zumla A, Nahid P, Cole ST. *Advances in the development of new tuberculosis drugs and treatment regimens*. Nature Reviews Drug Discovery. 2013.
8. Kementerian Kesehatan RI. *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 67 Tahun 2016 Tentang Penanggulangan*

- Tuberkulosis*. Kementerian Kesehatan Republik Indones. 2016;
9. Kementerian Kesehatan RI. *Tuberkulosis (TB)*. Tuberkulosis. 2018.
  10. Robert Horsburgh C, Barry CE, Lange C. *Treatment of tuberculosis*. New England Journal of Medicine. 2015.
  11. Zulkifli Amin AB. *Tuberkulosis Paru. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. 2014;
  12. Liang L, Ma Y, Liu X, Lv Y. *Drug-resistant tuberculosis*. In: *Drug Resistance in Bacteria, Fungi, Malaria, and Cancer*. 2017.
  13. WHO. *The Shorter MDR-TB Regimen*. Who. 2016;
  14. S. A, C. P. Old and New TB Drugs: *Mechanisms of Action and Resistance*. In: *Understanding Tuberculosis - New Approaches to Fighting Against Drug Resistance*. 2012.
  15. Lange C, Abubakar I, Alffenaar JWC, Bothamley G, Caminero JA, Carvalho ACC, et al. *Management of patients with multidrug-resistant/ extensively drug-resistant tuberculosis in Europe: A TBNET consensus statement*. Eur Respir J. 2014;
  16. Klopper M, Warren RM, Hayes C, van Pittius NCG, Streicher EM, Müller B, et al. *Emergence and spread of extensively and totally drug-resistant tuberculosis, South Africa*. Emerg Infect Dis. 2013;
  17. Prasad R. *Multidrug and extensively drug-resistant TB (M/XDR-Tb): Problems and solutions*. Indian J Tuberc. 2011;
  18. Zhang Y, Yew WW. *Mechanisms of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis: Update 2015*. International Journal of Tuberculosis and Lung Disease. 2015.
  19. Dyla M, Terry DS, Kjaergaard M, Sørensen TLM, Andersen JL, Andersen JP, et al. *Dynamics of P-type ATPase transport revealed by single-molecule FRET*. Nature. 2017;
  20. Veshaguri S, Christensen SM, Kemmer GC, Ghale G, Møller MP, Lohr C, et al. *Direct observation of proton pumping by a eukaryotic P-type ATPase*. Science (80-90). 2016;
  21. Raimunda D, Long JE, Padilla-Benavides T, Sassetti CM, Argüello JM. *Differential roles for the  $Co^{2+}/Ni^{2+}$  transporting ATPases, CtpD and CtpJ, in Mycobacterium tuberculosis virulence*. Mol Microbiol. 2014;
  22. Santos P, Lopez-vallejo F, Ramírez D, Caballero J, Espinosa M, Hernández-pando R, et al. *Identification of Mycobacterium tuberculosis CtpF as a target for designing new antituberculous compounds*. Bioorg Med Chem [Internet]. 2019;115256. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2019.115256>
  23. Kumar N, Khandelwal N, Kumar R, Chander Y, Rawat KD, Chaubey KK, et al. *Inhibitor of sarco/endoplasmic reticulum calcium-ATPase impairs multiple steps of paramyxovirus replication*. Front Microbiol. 2019;
  24. Maya-Hoyos M, Rosales C, Novoa-Aponte L, Castillo E, Soto CY. *The P-type ATPase CtpF is a plasma membrane transporter mediating calcium efflux in Mycobacterium tuberculosis cells*. Heliyon. 2019;

25. Zumla A, Raviglione M, Hafner R, Von Reyn CF. *Tuberculosis. New England Journal of Medicine*. 2013.
26. Delogu G, Sali M, Fadda G. *The biology of mycobacterium tuberculosis infection. Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*. 2013.
27. Palomino JC, Martin A. *Drug resistance mechanisms in Mycobacterium tuberculosis*. *Antibiotics*. 2014.
28. Müller B, Borrell S, Rose G, Gagneux S. *The heterogeneous evolution of multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis*. *Trends in Genetics*. 2013.
29. Lange C, Dheda K, Chesov D, Mandalakas AM, Udawadia Z, Horsburgh CR. *Management of drug-resistant tuberculosis*. *The Lancet*. 2019.
30. Tamsil TA, Nawas A, Sutoyo DK. *Pengobatan Multidrug Resistant Tuberculosis (MDR-TB) dengan Paduan Jangka Pendek Multidrug Resistant Tuberculosis (MDR-TB) Treatment with Short Term Regimen*. *J Respirasi Indones*. 2014;
31. WHO. *Meeting Report of the WHO Expert Consultation on the Definition of Extensively Drug-Resistant Tuberculosis*. WHO. 2020;
32. Chiang C-Y, Deun A, Enarson D. *A poor drug-resistant tuberculosis programme is worse than no programme: Time for a change*. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2013 Apr 9;17.
33. Reichman LB, Lardizabal A. *Drug-resistant tuberculosis: How are we doing? International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*. 2013.
34. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. *Pedoman Nasional Pengendalian Tuberkulosis- Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 364. J ICT*. 2011; (Pengendalian Tuberkulosis): 110.
35. Jena L, Waghmare P, Kashikar S, Kumar S, Harinath BC. *Computational approach to understanding the mechanism of action of isoniazid, an anti-TB drug*. *Int J Mycobacteriology*. 2014;
36. Unissa AN, Subbian S, Hanna LE, Selvakumar N. *Overview on mechanisms of isoniazid action and resistance in Mycobacterium tuberculosis*. *Infection, Genetics and Evolution*. 2016.
37. Vilchèze C, Jacobs JR. WR. *Resistance to Isoniazid and Ethionamide in Mycobacterium tuberculosis: Genes, Mutations, and Causalities*. *Microbiol Spectr*. 2014;
38. Goldstein BP. *Resistance to rifampicin: A review*. *Journal of Antibiotics*. 2014.
39. Siu GKH, Zhang Y, Lau TCK, Lau RWT, Ho PL, Yew WW, et al. *Mutations outside the rifampicin resistance-determining region associated with rifampicin resistance in Mycobacterium tuberculosis*. *J Antimicrob Chemother*. 2011;
40. Jenkin G. *Pyrazinamide*. In: *Kucers the Use of Antibiotics: A Clinical Review of Antibacterial, Antifungal, Antiparasitic, and Antiviral Drugs, Seventh Edition*. 2017.
41. Njire M, Tan Y, Mugweru J, Wang C, Guo J, Yew WW, et al. *Pyrazinamide resistance in Mycobacterium tuberculosis: Review and update*. *Advances in*

- Medical Sciences. 2016.
42. Korman TM. Ethambutol. In: *Kucers the Use of Antibiotics: A Clinical Review of Antibacterial, Antifungal, Antiparasitic, and Antiviral Drugs, Seventh Edition*. 2017.
  43. Gillespie SH, Crook AM, McHugh TD, Mendel CM, Meredith SK, Murray SR, et al. *Four-month Moxifloxacin-based regimens for drug-sensitive tuberculosis*. N Engl J Med. 2014;
  44. Safi H, Lingaraju S, Amin A, Kim S, Jones M, Holmes M, et al. *Evolution of high-level ethambutol-resistant tuberculosis through interacting mutations in decaprenylphosphoryl- $\beta$ -D-Arabinose biosynthetic and utilization pathway genes*. Nat Genet. 2013;
  45. Johnson PDR. Streptomycin. In: *Kucers the Use of Antibiotics: A Clinical Review of Antibacterial, Antifungal, Antiparasitic, and Antiviral Drugs, Seventh Edition*. 2017.
  46. Spies FS, Ribeiro AW, Ramos DF, Ribeiro MO, Martin A, Palomino JC, et al. *Streptomycin resistance and lineage-specific polymorphisms in Mycobacterium tuberculosis gidB gene*. J Clin Microbiol. 2011;
  47. Zhang Y, Shi W, Zhang W, Mitchison D. *Mechanisms of Pyrazinamide Action and Resistance*. Microbiol Spectr. 2014;
  48. Fischbach MA. *Combination therapies for combating antimicrobial resistance*. Current Opinion in Microbiology. 2011.
  49. Chourasia M, Sastry GN. *The Nucleotide, Inhibitor, and Cation Binding Sites of P-type II ATPases*. Chem Biol Drug Des. 2012;
  50. Faxén K, Andersen JL, Gourdon P, Fedosova N, Morth JP, Nissen P, et al. *Characterization of a Listeria monocytogenes Ca<sup>2+</sup> pump: A SERCA-type ATPase with only one Ca<sup>2+</sup>-binding site*. J Biol Chem. 2011;
  51. Gupta HK, Shrivastava S, Sharma R. *A novel calcium uptake transporter of uncharacterized P-type ATPase family supplies calcium for cell surface integrity in Mycobacterium smegmatis*. MBio. 2017;
  52. Soldati T, Neyrolles O. *Mycobacteria and the Intraphagosomal Environment: Take It With a Pinch of Salt(s)! Traffic*. 2012.
  53. Botella H, Peyron P, Levillain F, Poincloux R, Poquet Y, Brandli I, et al. *Mycobacterial P 1-Type ATPases mediate resistance to Zinc poisoning in human macrophages*. Cell Host Microbe. 2011;
  54. Argüello JM, González-Guerrero M, Raimunda D. *Bacterial transition metal P 1B-ATPases: Transport mechanism and roles in virulence*. Biochemistry. 2011.
  55. Patel S, Lewis B, Long J, Nambi S, Sasseti C, Stemmler T, et al. *Fine Tuning of Substrate Affinity Leads to Alternative Roles of Mycobacterium tuberculosis Fe<sup>2+</sup>-ATPases*. J Biol Chem. 2016 Mar 28;291:jbc.M116.718239.
  56. Morth JP, Pedersen BP, Buch-Pedersen MJ, Andersen JP, Vilsen B, Palmgren MG, et al. *A structural overview of the plasma membrane Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase and H<sup>+</sup>-ATPase ion pumps*. Nature Reviews Molecular Cell Biology.

- 2011.
57. Palmgren MG, Nissen P. *P-Type ATPases*. *Annu Rev Biophys*. 2011;
  58. Bublitz M, Morth JP, Nissen P. P-type ATPases at a glance. *Journal of Cell Science*. 2011.
  59. Smith AT, Smith KP, Rosenzweig AC. *Diversity of the metal-transporting PIB-type ATPases*. *J Biol Inorg Chem*. 2014;
  60. Novoa-Aponte L, León-Torres A, Patiño-Ruiz M, Cuesta-Bernal J, Salazar LM, Landsman D, et al. *In silico identification and characterization of the ion transport specificity for P-type ATPases in the Mycobacterium tuberculosis complex*. *BMC Struct Biol*. 2012;
  61. Pulido PA, Novoa-Aponte L, Villamil N, Soto CY. *The DosR Dormancy Regulator of Mycobacterium tuberculosis Stimulates the Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> and Ca<sup>2+</sup> ATPase Activities in Plasma Membrane Vesicles of Mycobacteria*. *Curr Microbiol*. 2014;
  62. Campbell AK. *Intracellular Calcium*. *Intracellular Calcium*. 2014.
  63. Domínguez DC. *Calcium Signaling in Prokaryotes*. In: *Calcium and Signal Transduction*. 2018.
  64. Novoa-Aponte L, Soto Ospina CY. *Mycobacterium tuberculosis p-type atpases: Possible targets for drug or vaccine development*. *BioMed Research International*. 2014.
  65. Padilla-Benavides T, Long J, Raimunda D, Sasseti C, Argüello J. *A Novel P-IB-type Mn<sup>2+</sup>-transporting ATPase Is Required for Secreted Protein Metallation in Mycobacteria*. *J Biol Chem*. 2013 Mar 12;288.
  66. Voskuil MI, Bartek IL, Visconti K, Schoolnik GK. *The response of Mycobacterium tuberculosis to reactive oxygen and nitrogen species*. *Front Microbiol*. 2011;
  67. Ray PD, Huang BW, Tsuji Y. *Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling*. *Cellular Signalling*. 2012.
  68. Paiva CN, Bozza MT. *Are reactive oxygen species always detrimental to pathogens? Antioxidants and Redox Signaling*. 2014.
  69. Shastri MD, Shukla SD, Chong WC, Dua K, Peterson GM, Patel RP, et al. *Role of oxidative stress in the pathology and management of human tuberculosis*. *Oxid Med Cell Longev*. 2018;2018.
  70. Podinovskaia M, Lee W, Caldwell S, Russell DG. *Infection of macrophages with Mycobacterium tuberculosis induces global modifications to phagosomal function*. *Cell Microbiol*. 2013;
  71. Goyal N, Kashyap B, Singh NP, Kaur IR. *Neopterin and oxidative stress markers in the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis*. *Biomarkers*. 2017;
  72. Shastri MD, Shukla SD, Chong WC, Dua K, Peterson GM, Patel RP, et al. *Role of oxidative stress in the pathology and management of human tuberculosis*. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2018.
  73. Idh J, Andersson B, Lerm M, Raffetseder J, Eklund D, Woksepp H, et al. *Reduced susceptibility of clinical strains of Mycobacterium*

- tuberculosis to reactive nitrogen species promotes survival in activated macrophages.* PLoS One. 2017;
74. Lamichhane G. *Mycobacterium tuberculosis response to stress from reactive oxygen and nitrogen species.* Front Microbiol. 2011;
  75. Tan MP, Sequeira P, Lin WW, Phong WY, Cliff P, Ng SH, et al. *Nitrate respiration protects hypoxic Mycobacterium tuberculosis against acid- and reactive nitrogen species stresses.* PLoS One. 2011;
  76. Jamaati H, Mortaz E, Pajouhi Z, Folkerts G, Movassaghi M, Moloudizargari M, et al. *Nitric oxide in the pathogenesis and treatment of tuberculosis.* Frontiers in Microbiology. 2017.
  77. Elks PM, Brizee S, van der Vaart M, Walmsley SR, van Eeden FJ, Renshaw SA, et al. *Hypoxia Inducible Factor Signaling Modulates Susceptibility to Mycobacterial Infection via a Nitric Oxide Dependent Mechanism.* PLoS Pathog. 2013;
  78. Mishra BB, Rathinam VAK, Martens GW, Martinot AJ, Kornfeld H, Fitzgerald KA, et al. *Nitric oxide controls the immunopathology of tuberculosis by inhibiting NLRP3 inflammasome-dependent processing of IL-1 $\beta$ .* Nat Immunol. 2013;
  79. Leistikow RL, Morton RA, Bartek IL, Frimpong I, Wagner K, Voskuil MI. *The Mycobacterium tuberculosis DosR regulon assists in metabolic homeostasis and enables rapid recovery from nonrespiring dormancy.* J Bacteriol. 2011;
  80. Chen T, He L, Deng W, Xie J. *The Mycobacterium DosR regulon structure and diversity revealed by comparative genomic analysis.* J Cell Biochem. 2013;
  81. Cossu A, Sechi LA, Bandino E, Zanetti S, Rosu V. *Expression profiling of Mycobacterium tuberculosis H37Rv and Mycobacterium smegmatis in acid-nitrosative multi-stress displays defined regulatory networks.* Microb Pathog. 2013;
  82. Veyrier FJ, Cellier MF. *Metal economy in host- microbe interactions.* Front Cell Infect Microbiol. 2014;
  83. Anderson DM, Makarewich CA, Anderson KM, Shelton JM, Bezprozvannaya S, Bassel-Duby R, et al. *Widespread control of SERCA-inhibiting micropeptides.* Sci Signal. 2016;
  84. Di Marino D, D'Annessa I, Coletta A, Via A, Tramontano A. *Characterization of the differences in the cyclopiazonic acid binding mode to mammalian and P. Falciparum Ca<sup>2+</sup> pumps: A computational study.* Proteins Struct Funct Bioinforma. 2015;
  85. Varga J, Frisvad JC, Samson RA. *Two new aflatoxin producing species, and an overview of Aspergillus section Flavi.* Stud Mycol. 2011;
  86. Cui R, Wang Y, Wang L, Li G, Lan K, Altmeyer R, et al. *Cyclopiazonic acid, an inhibitor of calcium-dependent ATPases with antiviral activity against human respiratory syncytial virus.* Antiviral Res. 2016;
  87. Sievers F, Higgins DG. *Clustal Omega.* Curr Protoc Bioinforma. 2014;
  88. Santos Ruiz P, López-Vallejo F, Ramirez D, Mata-Espinosa D,

Hernández-Pando R, Soto C. *Identification of Mycobacterium tuberculosis CtpF as a target for designing new antituberculous compounds*. Bioorg Med Chem.