

***Antimicrobial Peptides* sebagai Obat Alternatif pada Resistensi Antibiotik**

Nyoman Fitri

Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan
Badan Litbang Kesehatan Kementerian Kesehatan RI
email: nfitrix@yahoo.com

Abstract

Antibiotic resistance has become a global public-health problem, thus it is imperative that new antibiotics have to be developed continuously. Antimicrobial peptides (AMPs) are component of the innate immune response, which is the principal defence system for the majority of living organisms. Similar to antibiotics, most AMPs have a broad antimicrobial spectrum and highly active against fungi. AMPs are known to have interaction with biomembranes to lyse microbial cells. Many researches have tried to develop AMPs as future drugs for antibiotic resistance. Many AMPs also possess antiviral or anti-parasite activity. However, antimicrobial peptides have their own disadvantages. We review the role of these molecules in human's health, their advantages and disadvantages as alternative antimicrobial for antibiotic resistance.

Keywords: Antimicrobial peptides, Antibiotics, Antibiotic resistance

Pendahuluan

Antimicrobial peptides (AMP) adalah suatu grup molekul yang diproduksi oleh sel-sel dan jaringan dalam tubuh makhluk hidup yang berperan penting sebagai sistem pertahanan tubuh, mulai dari prokariot hingga manusia diketahui memproduksi AMP di dalam tubuhnya¹. AMP diketahui berperan aktif sebagai antibakteria dan anti jamur. Beberapa diantaranya bahkan mempunyai efek sebagai antivirus dan anti parasit². Tabel 1 menunjukkan contoh dari AMP yang dapat ditemukan pada beberapa organisme beserta aktifitas antimikrobanya.

Tingginya kejadian resistensi terhadap antibiotik konvensional telah menumbuhkan minat para peneliti untuk mengembangkan AMP sebagai obat alternatif

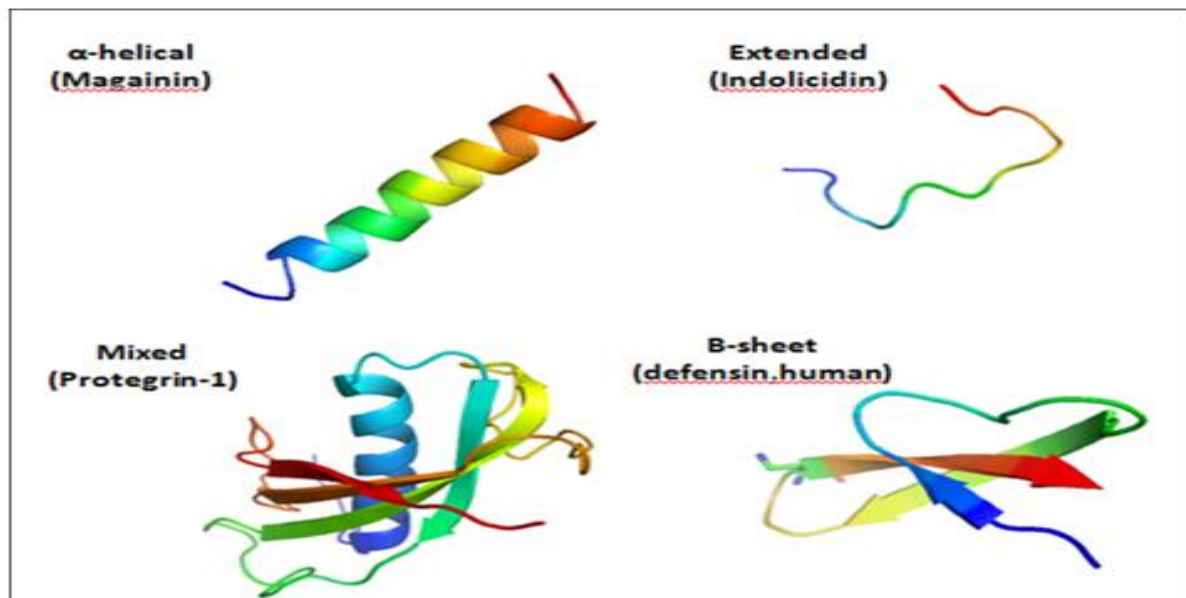
bagi penderita dengan resistensi antibiotik. Antibiotik konvensional adalah senyawa antimikroba yang dibuat terutama dari isolasi bakteri atau jamur, misalnya penisilin. Karena itu, pengembangan antimikroba baru sebagai pengganti antibiotik konvensional sangatlah penting untuk infeksi yang disebabkan oleh bakteri yang resisten.

Struktur AMP

AMP berukuran relatif kecil (6-100 molekul asam amino), bersifat amfipatik (memiliki kedua sifat hidrofilik dan hidrofobik dalam strukturnya) dengan urutan asam amino yang berbeda-beda. AMP digolongkan berdasarkan struktur dan motif asam aminonya. Sebagian besar AMP bersifat polar karena terpisahnya area yang bersifat hidrofobik dan bermuatan³.

Tabel 1. Contoh dan sifat umum dari AMP⁸

Organisme	Contoh	Aktivitas Antimicrobial
Bacteria		
·LAB	Lantibiotics (bacteriocins)	Aktif terhadap broad-spectrum Gram-positive bacteria
·Bakteria lainnya	Colicins, microcins	Aktif terhadap Enterobacteriaceae
Fungi	Plectasin	Multiple antibiotic-resistant Gram-positive bacteria
Tanaman	Ib-AMP1-4, cyclotides	Antifungal, anti-HIV, anti parasites
Hewan		
·Serangga dan amphibi	Cecropin A, mellitin, magainins, temporins	Aktif terhadap multidrug-resistant bacteria
·Arachnida	Defensin-like toxin (DLTs) in venom, β -defensins	Aktif terhadap multidrug-resistant bacteria
·Vertebrata tingkat tinggi	Porcine PR-39, bovine indolicidin	Aktif terhadap multidrug-resistant bacteria, fungi, dan viruses
Manusia	Human neutrophil defensins, enteric and epithelial defensins Human LL-37	Aktif terhadap multidrug-resistant bacteria, fungi, dan viruses
	Lactoferricin, <i>antimicrobial domain of lysozyme</i>	Aktif terhadap multidrug-resistant bacteria

Gambar 1. Beberapa struktur dari antimicrobial peptide (AMP)²¹

Peran dan Fungsi AMP

1. Sistem perlindungan tubuh

AMP mempunyai banyak karakteristik yang diinginkan untuk digunakan sebagai obat pengganti antibiotik baru masa depan. AMP telah terbukti bersinergi dengan antibiotik konvensional dan aktif pada hewan coba⁴. AMP juga dapat menetralkan endotoksin, sebuah struktur molekul dari bakteri Gram-negatif yang berhubungan dengan kemampuan bakteri tersebut untuk menyebabkan penyakit. Konsentrasi minimum penghambatan (*minimal inhibitory concentration/MIC*) diketahui berhimpitan dengan konsentrasi bakterisidal minimal (*minimal bactericidal concentrations/MBC*). Hal ini berarti bahwa AMP mempunyai efek bakterisidal.

AMP merupakan sebuah *effector* (suatu molekul kecil yang jika berikatan dengan enzim akan menurunkan ataupun meningkatkan aktivitas enzim tersebut) dari sistem pertahanan tubuh. AMP mempunyai sifat antibakteri berspektrum luas dan mampu melakukan lisis terhadap sel mikroba dengan cara berinteraksi dengan biomembran⁵.

2. Peranan pada penyakit inflamasi paru

Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) dan penyakit inflamasi paru lainnya seperti *pulmonary fibrosis*, sering dihubungkan dengan pelepasan antimikroba peptida seperti defensin dan mediator inflamasi dari neutrofil dan sel lainnya. Berdasarkan aktivitas AMP terlihat jelas bahwa senyawa ini mempengaruhi proses inflamasi^{6,7}.

Pada paru-paru manusia, β -defensin berasal dari sel epitelial, makrofagus dan limfosit sedangkan α -defensin disintesis oleh neutrofil. Pada manusia, kurang lebih

ada 8 gen pada kromosom 8p23 yang mengkode α - dan β -defensin⁸. Sebuah riset mengatakan bahwa konsentrasi AMP pada sekret paru-paru tergantung pada beberapa penyakit pulmonari⁶.

3. AMP sebagai antibiotik alternatif

Ide awal tentang AMP sebagai antibiotik alternatif kini sedang dikembangkan oleh beberapa perusahaan bioteknologi dan farmasi. Dengan menggunakan metode biokimia dan teknologi DNA rekombinan, struktur peptida yang didapat kemudian digunakan sebagai titik awal pengembangan obat baru⁹. Beberapa derivat AMP telah melalui sejumlah uji farmasetikal, termasuk juga uji fase 1 s/d 3 pada manusia. Penggunaan AMP dari manusia sebagai obat sejauh ini masih dilarang karena masih tidak adanya pengetahuan lebih lanjut tentang fungsi biologinya dan tingginya biaya untuk memproduksinya.

Disamping efek antimikrobanya, AMP juga mempunyai beberapa peranan penting sebagai mediator inflamasi dengan efek pada epitelial dan sel inflamasi dan mempengaruhi berbagai macam proses seperti pelepasan sitokin yang dihasilkan sebagai respon terhadap stimulus sistem imun, penyembuhan luka, induksi imun, dan lain sebagainya^{5,10}. Karena itu, AMP memenuhi syarat sebagai prototipe sebagai obat inovatif yang dapat digunakan sebagai antibiotik, anti-lipopolisakarida, atau *modifier* dalam inflamasi. Penelitian dengan hewan coba membuktikan adanya karakteristik ekspresi, regulasi gen dan peranannya untuk sistem kekebalan, tidak hanya dengan aktivitas antimikroba secara langsung tetapi juga sebagai mediator⁹. Variasi pada tiap individu terhadap ekspresi AMP merupakan hal yang berperan

penting dalam kerentanan terhadap penyakit¹¹.

Beberapa jenis AMP diketahui bersifat sitotoksik sehingga dapat digunakan untuk terapi sel kanker bagi pasien dengan *multi-drug resistance* (MDR). AMP jenis ini juga dapat meminimalisir efek samping jika dibandingkan dengan kemoterapi lainnya^{12,13}. Lebih lanjut, dikatakan bahwa AMP mempunyai beberapa kelebihan, yaitu AMP dapat membunuh sel kanker secara cepat, tidak dipengaruhi oleh resistensi pada kemoterapi yang disebabkan oleh mutasi, menunjukkan sinergi dengan kemoterapi klasik (misalnya doxorubicin, etoposide, dan cisplatin), dan mencegah metastasis.

Beberapa penelitian lain telah menemukan bahwa AMP dapat menghambat replikasi *enveloped virus*, misalnya pada influenza A virus atau *Human Immunodeficiency Virus* (HIV-1). Mekanisme AMP sebagai antivirus adalah dengan cara interaksi langsung peptida amplop virus yang kemudian akan melisis partikel virus tersebut^{2,14,15}.

Kekurangan AMP sebagai obat alternatif

1. Dari aspek biaya

Hal pertama yang menjadi alasan rendahnya perusahaan farmasi untuk memproduksi obat berbahan dasar AMP adalah tingginya biaya produksi. Sebuah riset menyebutkan bahwa biaya untuk mensintesa AMP adalah 5 sampai 20 kali lebih mahal daripada antibiotik biasa^{2,16}. Dengan biaya setinggi itu keterjangkauan masyarakat untuk membeli obat tersebut akan kecil sekali, terutama untuk negara berkembang.

Salah satu alternatif termurah adalah dengan memproduksi peptida sintetik menggunakan metode ekspresi rekombinan dengan menggunakan mikroorganisme

yang telah resisten terhadap peptida tertentu. Dengan cara ini diharapkan biaya produksi untuk skala besar dapat ditekan sehingga obat yang terjangkau oleh masyarakat dapat dihasilkan.

Mikroba patogen tertentu diketahui bersifat lebih resisten terhadap AMP. Hal tersebut dipengaruhi oleh sifat dan kestabilan strukturnya, juga oleh sifat patogenezisnya. Misalnya pada *Morganella* dan *Serratia* yang mempunyai membran terluar dengan kandungan rendah asam lemak yang berperan penting dalam ikatan peptida. Selain itu, disebutkan juga adanya spesies yang mensekresikan enzim protease yang dapat menghancurkan peptida, misalnya pada *Porphyromonas gingivalis*.

Sebuah penelitian dengan menggunakan *E. coli* and *P. fluorescens* menunjukkan bahwa resistensi pada bakteri dapat terjadi jika populasi bakteri secara kontinu terpapar oleh AMP pada level tertentu². Hal ini menimbulkan keraguan lebih lanjut pada keamanan penggunaan AMP. Banyak hal yang harus diperhatikan dan dipahami dalam usaha mengembangkan AMP untuk produksi skala besar untuk mencegah resistensi tersebut.

2. Kerentanan terhadap proteolisis

AMP relatif bersifat sensitif terhadap degradasi proteolitik¹⁷. Akibatnya AMP mempunyai bersihan (klirens) yang cepat dan adanya farmakokinetik yang tidak dikehendaki yang mungkin akan menghambat efeknya. Dalam hal ini terlihat bahwa AMP lebih baik diproduksi untuk aplikasi topikal jika diinginkan untuk mendapatkan manfaat terapeutiknya.

Riset pengembangan AMP

Sejauh ini usaha yang banyak dilakukan oleh ahli farmasi adalah mengembangkan senyawa AMP yang dapat

digunakan secara topikal karena penggunaan jangka panjang yang relatif lebih aman daripada penggunaan sistemik. Contoh dari senyawa ini misalnya *pexiganan*, suatu analog dari *magainin 2*. Magainin merupakan senyawa peptida linear yang diisolasi dari kulit katak Afrika (*Xenopus laevis*)². Penggunaan AMP secara sistemik untuk penggunaan jangka panjang relatif tidak aman karena *proximity* (kedekatan) antara dosis dengan dosis toksik dari AMP menunjukkan tidak dapat ditolerirnya batas keamanan (*margin of safety*)².

Sebuah perusahaan farmasi terkemuka di Kanada saat ini sedang mengembangkan AMP yang tidak secara langsung membunuh bakteri, tetapi dengan cara memicu timbulnya sistem pertahanan tubuh tanpa inflamasi yang biasa terjadi seperti pada imunisasi. Penelitian awal membuktikan bahwa terapi dengan menggunakan kombinasi dari *immunostimulating* peptida ini secara signifikan terbukti secara *in vivo* dapat menurunkan *bacterial load* dari *Staphylococcus aureus* pada mencit. Riset terbaru lainnya sedang berusaha untuk mengungkapkan lebih lanjut AMP jenis ini untuk penggunaan topikal dan sistemik seperti pada penderita pneumonia².

Salah satu perusahaan farmasi di Amerika telah memperkenalkan P113-^{18,19,20} yaitu peptida berbasis histatin yang biasa ditemukan di saliva. Senyawa P113 ini menunjukkan aktivitas melawan *Candida albicans* serta bakteri Gram-positive dan Gram-negative. Saat ini uji klinik sedang dilakukan terhadap P113 untuk penderita HIV dengan oral candidiasis sebagai sediaan untuk pencuci mulut.

Kesimpulan

Antimicrobial peptide (AMP) adalah senyawa peptida yang unik dan dapat ditemukan pada hampir seluruh mahluk

hidup dan berperan penting dalam sistem pertahanan tubuh. AMP kemudian menjadi sangat penting ketika para peneliti menemukan bahwa AMP dapat menjadi antibiotik generasi baru untuk mengatasi *multi-drug resistance* (MDR). Pada tahun-tahun terakhir ini banyak riset yang telah membuktikan peranan dan mekanisme AMP pada penyakit dan sistem pertahanan tubuh. Kelebihan AMP ini disertai juga dengan kelemahannya, misalnya biaya produksi yang tinggi dan bioavailabilitas yang rendah. Berbagai usaha sedang dilakukan untuk mengatasi masalah yang ada, sehingga diharapkan AMP akan menjadi *drug of choice* sebagai pengganti antibiotik konvensional di masa depan.

Daftar Rujukan

1. Brogden, KA. Antimicrobial peptides: Pore formers or metabolic inhibitors in bacteria?. *Nature Reviews Microbiology* 2005; 3: 238-250.
2. Giuliani A, Pirri G, Nicoletto SF. Antimicrobial peptides: an overview of a promising class of therapeutics. *CEJB* 2007; 2(1): 1-33.
3. Tossi A, Sandri L, Giangaspero A. Amphipathic, alpha-helical antimicrobial peptides. *Biopolymers* 2000; 55(1): 4-30.
4. Park SC, Park Y, Hahm KS. The role of antimicrobial peptides in preventing multidrug-resistant bacterial infections and biofilm formation. *Int. J. Mol. Sci* 2011;12: 5971-5992.
5. Beisswenger C, Bals R. Functions of antimicrobial peptides in host defense and immunity. *Curr Protein Pept Sci* 2005; 6(3):255-64.
6. Kabelitz D, Schröder JM (eds.). Mechanisms of Epithelial Defense. *Chem Immunol Allergy* 2005; Vol 86: 55-71.
7. Aarbiou J, Rabe KF, Hiemstra PS. Role of defensins in inflammatory lung disease. *Ann Med* 2002; 34(2):96-101.
8. Ganz T. Defensins: Antimicrobial peptides of innate immunity. *Nat Rev Immunol* 2003; 3(9):710-20.
9. Bals R. Epithelial antimicrobial peptides in host defense against infection. *Respir Res* 2000; 1:141-150.

10. Zaiou M. Multifunctional antimicrobial peptides: therapeutic targets in several human diseases. *Journal of Molecular Medicine* 2007; 85(4): 317-329.
11. Dale BA, Fredericks LP. Antimicrobial peptides in the oral environment: Expression and function in health and disease. *Curr Issues Mol Biol* 2005; 7:119-134.
12. Mader JS, Hoskin DW. Cationic anti microbial peptides as novel cytotoxic agents for cancer treatment. *Expert Opinion on Investigational Drugs* 2006; 15(8): 933-946.
13. Hancock REW. Cationic peptides: effectors in innate immunity and novel antimicrobials. *Lancet Infectious Diseases* 2001; 1: 156–164.
14. Bergman P, Walter-Jallow L, Broliden K, Agerberth B, Söderlund J. The antimicrobial peptide LL-37 inhibits HIV-1 replication. *Curr HIV Res* 2007; 5(4): 410-5.
15. Cole AM. Minidefensins and other antimicrobial peptides: candidate anti-HIV microbicides. *Expert Opin Ther Targets* 2003; 7(3): 329-41.
16. Hancock REW, Lehrer R. Cationic peptides: a new source of antibiotics. *Tibtech* 1998; 16: 82-88.
17. Hamamoto K, Kida Y, Zhang Y, Shimizu T, Kuwano K. Antimicrobial activity and stability to proteolysis of small linear cationic peptides with D-amino acid substitutions. *Microbiology and Immunology* 2002; 46(11) :741-9.
18. Sajjan US, Tran LT, Sole N, Rovaldi C, Akiyama A, Rothstein DM. P-113D, an Antimicrobial peptide active against *Pseudomonas aeruginosa*, retains activity in the presence of sputum from cystic fibrosis patients. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2001; 45(12): 3437–3444.
19. Demegen. Pharmaceutical products. Accessed January 8, 2012 on: -www.demegen.com/index.htm
20. Rothstein DM, Spacciapoli P, Tran LT, Xu T, Roberts FD, Friden P. Anticandida activity is retained in P-113, a 12-Amino-Acid fragment of histatin 5. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2001; 45(5): 1367–1373.
21. Wikipedia. Antimicrobial peptides. Accessed January 12, 2012 on: http://en.wikipedia.org/wiki/Antimicrobial_peptides