

BIOLOGI MOLEKULER



Penulis :

**Nurlena Andalia, Adriani, Afika Herma Wardani,
Indra Taufik Sahli, Reni Yunus, Rondius Solfaine,
Nurul Azmah Nikmatullah, Meri, Aisyah Rusdin,
Nur Maulida Safitri**

BIOLOGI MOLEKULER

**Nurlena Andalia
Adriani
Afika Herma Wardani
Indra Taufik Sahli
Reni Yunus
Rondius Solfaine
Nurul Azmah Nikmatullah
Meri
Aisyah Rusdin
Nur Maulida Safitri**



PT GLOBAL EKSEKUTIF TEKNOLOGI

BIOLOGI MOLEKULER

Penulis :

Nurlena Andalia
Adriani
Afika Herma Wardani
Indra Taufik Sahli
Reni Yunus
Rondius Solfaine
Nurul Azmah Nikmatullah
Meri
Aisyah Rusdin
Nur Maulida Safitri

ISBN : 978-623-198-349-7

Editor : Ari Yanto, M.Pd

Penyunting : Tri Putri Wahyuni, S.Pd

Desain Sampul dan Tata Letak : Atyka Trianisa, S.Pd

Penerbit : PT GLOBAL EKSEKUTIF TEKNOLOGI
Anggota IKAPI No. 033/SBA/2022

Redaksi :

Jl. Pasir Sebelah No. 30 RT 002 RW 001
Kelurahan Pasie Nan Tigo Kecamatan Koto Tangah
Padang Sumatera Barat
Website : www.globaleksekutifteknologi.co.id
Email : globaleksekutifteknologi@gmail.com

Cetakan pertama, Juni 2023

Hak cipta dilindungi undang-undang
Dilarang memperbanyak karya tulis ini dalam bentuk
dan dengan cara apapun tanpa izin tertulis dari penerbit.

KATA PENGANTAR

Segala Puji dan syukur atas kehadirat Allah SWT dalam segala kesempatan. Sholawat beriring salam dan doa kita sampaikan kepada Nabi Muhammad SAW. Alhamdulillah atas Rahmat dan Karunia-Nya penulis telah menyelesaikan Buku Biologi Molekuler ini.

Buku Ini Membahas Pengantar biologi sel dan biokimia, Konsep dasar sel dan fungsi organel, Enzim dan kinetika enzim, Metabolisme karbohidrat, glikolisis, glikogenesis, glukoneogenesis, Pembelahan sel, dan regulasinya, Mutasi, perbaikan, dan mekanisme perkembangan kanker, Analisis DNA, Pengantar Imunologi, Stem Cell, Rekayasa Genetika.

Proses penulisan buku ini berhasil diselesaikan atas kerjasama tim penulis. Demi kualitas yang lebih baik dan kepuasan para pembaca, saran dan masukan yang membangun dari pembaca sangat kami harapkan.

Penulis ucapan terima kasih kepada semua pihak yang telah mendukung dalam penyelesaian buku ini. Terutama pihak yang telah membantu terbitnya buku ini dan telah mempercayakan mendorong, dan menginisiasi terbitnya buku ini. Semoga buku ini dapat bermanfaat bagi masyarakat Indonesia.

Padang, Juni 2023

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	ii
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL	x
BAB 1 PENGANTAR BIOLOGI SEL DAN BIOKIMIA	1
1.1 Pendahuluan.....	1
1.2 Komponen Kimiawi Sel.....	3
1.2.1 Karbohidrat	4
1.2.2 Lemak.....	11
1.2.4 Asam Nukleat.....	16
DAFTAR PUSTAKA.....	17
BAB 2 KONSEP DASAR SEL DAN FUNGSI ORGANEL	19
2.1 Konsep Tentang Sel	19
2.2 Sejarah Perkembangan Sel.....	20
2.3 Organel Sel	21
2.3.1 Dinding sel.....	21
2.3.2 Membran sel.....	21
2.3.3 Sitoplasma.....	27
2.3.4 Ribosom.....	27
2.3.5 Mitokondria.....	28
2.3.6 Retikulum endoplasma.....	29
2.3.7 Lisosom	30
2.3.8 Aparatus golgi.....	30
2.3.9 Nukleus	31
2.3.10 Vakuola.....	32
2.3.11 Peroksisom	32
2.3.12 Plastida	33
2.3.13 Sentriol	35
2.4 Penggolongan sel	35
2.4.1 Sel prokariotik.....	35
2.4.2 Sel eukariotik	37

2.5 Sel hewan dan sel tumbuhan	38
DAFTAR PUSTAKA.....	41
BAB 3 ENZIM DAN KINETIKA ENZIM	43
3.1 Pendahuluan.....	43
3.2 Kespesifikasi Enzim	45
3.2.1 Kespesifikasi Ikatan.....	45
3.2.2 Kespesifikasi Optik.....	45
3.2.3 Kespesifikasi Gugus	46
3.2.4 Kespesifikasi Substrat	47
3.2.5 Kespesifikasi Geometri	47
3.2.6 Kespesifikasi Kofaktor	47
3.3 Tata Nama dan Klasifikasi Enzim	48
3.4 Komponen Enzim	50
3.5 Mekanisme Kerja Enzim	50
3.5.1 Teori Lock and Key.....	51
3.5.1 Teori Kecocokan Induksi	52
3.6 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Kerja Enzim	52
3.7 Kinetika Enzim	58
3.7.1 Persamaan Michaelis	59
3.7.2 Plot Lineweaver-Burk.....	60
DAFTAR PUSTAKA.....	62
BAB 4 METABOLISME KARBOHIDRAT, GLIKOLISIS, GLIKOGENESIS DAN GLUKONEOGENESIS ...	63
4.1 Pendahuluan.....	63
4.2 Metabolisme Karbohidrat	64
4.3 Glikolisis	64
4.4 Reaksi Siklus Kreb	68
4.4.1 Dekarboksilasi Oksidatif	68
4.4.2 Siklus Krebs	69
4.5 Glukoneogenesis	72
4.5.1 Glukoneogenesis dari Asam Amino	76
4.5.2 Glukoneogenesis dari Laktat	76
4.5.3 Glukoneogenesis dari Gliserol	76

4.5.4 Glukoneogenesis dari Propionat	76
4.6 Glikogenesis	77
4.7 Glikogenolisis	79
DAFTAR PUSTAKA.....	81
BAB 5 PEMBELAHAN SEL DAN REGULASINYA	83
5.1 Pendahuluan.....	83
5.2 Interfase	84
5.2.1 G1Fase (Gap Pertama)	86
5.2.2 Fase S (Sintesis DNA)	86
5.2.3 G2Fase (Gap Kedua)	86
5.3 Tahap Mitosis.....	87
5.3.1 Profase	88
5.3.2 Prometafase.....	89
5.3.3 Metafase.....	89
5.3.4 Telofase	90
5.3.5 Sitokinesis.....	90
5.4 Meiosis	
DAFTAR PUSTAKA.....	93
BAB 6 MUTASI, PERBAIKAN, DAN MEKANISME PERKEMBANGAN KANKER	95
6.1 Pendahuluan.....	95
6.2 Karsinogen.....	98
6.3 Neoplasia	104
6.4 Struktur neoplasia	107
6.5 Metastasis.....	112
DAFTAR PUSTAKA.....	116
BAB 7 ANALISIS DNA	117
7.1 Pendahuluan.....	117
7.2 Ekstraksi DNA (<i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>)	118
7.2.1 Metode <i>Phenol Chloroform Isoamly Alcohol</i> (PCIA)	119
7.2.2 Metode <i>Ion Exchange Resin Chelex</i>	120
7.2.3 Metode <i>Double Spin Coloumn</i>	121
7.2.4 Metode <i>Magnetic Bead – charge</i>	122

7.2.5 Kemurnian dan Konsentrasi DNA	123
7.3 Teknik Analisis DNA.....	124
7.3.1 PCR Konvensional.....	124
7.3.2 Real Time PCR.....	128
7.3.4 Nested PCR.....	130
7.3.5 Reverse Transcription PCR	131
7.3.6 Digital droplet PCR	132
DAFTAR PUSTAKA.....	133
BAB 8 PENGANTAR IMUNOLOGI	137
8.1 Pendahuluan.....	137
8.2 Sistem Kekebalan Tubuh.....	138
8.2.1 Antigen Antibodi.....	138
8.2.2 Klasifikasi Sistem Imun.....	139
8.2.3 Kelainan Sistem Imun.....	149
DAFTAR PUSTAKA.....	154
BAB 9 STEM CELL	155
9.1 <i>Stem Cell</i> (Sel Punca)	155
9.2 Regenerasi	156
9.2.1 Regenerasi dan Sel Punca dalam Fibrosis.....	156
9.3 Klasifikasi Sel Punca	157
9.4 Niche Sel Punca	161
9.4.1 Penggunaan Niche dalam Sel Punca.....	161
9.5 Aplikasi Sel Punca.....	162
DAFTAR PUSTAKA.....	166
BAB 10 REKAYASA GENETIKA	167
10.1 Teknologi DNA Rekombinan.....	167
10.2 Ekspresi Gen	168
10.3 Enzim dalam Rekayasa Genetika.....	169
10.4 DNA Sisipan.....	170
10.5 Kloning Gen	170
10.6 DNA Vektor.....	170
10.7 Tahapan Kloning	175
10.8 Aplikasi Teknologi Rekayasa Genetika.....	177

DAFTAR PUSTAKA.....	181
BIODATA PENULIS	

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1. Struktur kimia monosakarida yang umumnya berasosiasi dengan karbohidrat dan serat yang mudah dicerna	6
Gambar 1.2. Struktur Kimia Disakarida	8
Gambar 1.3. Struktur Kimia Oligosakarida.....	9
Gambar 1.4. Struktur Kimia Amilosa, Amilopektin, dan Selulosa.....	11
Gambar 1.5. Struktur Asam Lemak (Lipid)	12
Gambar 1.6. Struktur Pembangun Fosfolipid.....	12
Gambar 1.7. Empat Pembagian Protein	15
Gambar 2.1. Struktur membran sel Membran-- Stru-0h0.jpg.....	23
Gambar 2.2. Mekanisme transduksi sinyal yang melibatkan membran sel.....	27
Gambar 2.3. Struktur reticulum endoplasma.....	29
Gambar 2.4. Struktur badan golgi	31
Gambar 2.5. Plastida pada tumbuhan.....	34
Gambar 2.6. Perbedaan struktur sel eukariotik dengan sel prokarioti	36
Gambar 2.7. Perbedaan antara sel hewan dengan sel tumbuhan	39
Gambar 3.1. Penurunan energi aktivasi karena enzim.....	44
Gambar 3.2. Reaksi enzim-substrat.....	45
Gambar 3.3. Kespesifikasi ikatan: enzim peptidase spesifik untuk ikatan peptida di antara asam amino.....	45
Gambar 3.4. Kespesifikasi optic: Oksidase asam amino -L hanya bekerja pada asam amino L....	46

Gambar 3.5. Lokasi pemotongan enzim pepsin pada ikatan peptide dengan asam amino aromatic (fenilalanin, tirosin, dan triptofan)	46
Gambar 3.6. Kespesifikasi geometri: enzim dehydrogenase dapat	47
Gambar 3.7. Komponen enzim	51
Gambar 3.8. Teori mekanisme kerja enzim <i>lock and key</i>	51
Gambar 3.9. Teori mekanisme kerja enzim kecocokan induksi	52
Gambar 3.10. Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim	53
Gambar 3.11. Pengaruh konsentrasi enzim terhadap aktivitas enzim.....	54
Gambar 3.12. Pengaruh konsentrasi substrat terhadap aktivitas enzim.....	55
Gambar 3.13. Mekanisme inhibitor enzim	56
Gambar 3.14. Mekanisme inhibitor irreversible.....	57
Gambar 3.15. Mekanisme inhibitor allosteric.....	58
Gambar 3.16. Grafik kecepatan enzim	60
Gambar 4.1. Jalur Glikolisis Embden-Meyerhof	66
Gambar 4.2. Siklus Kreb.....	70
Gambar 4.2. Jalur Glukoneogenesis	75
Gambar 4.3. Sintesis Glikogen	78
Gambar 4.4. Glikogenolisis.....	80
Gambar 5.1. Siklus sel eukariotik. Siklus sel pada organisme multisel terdiri dari interfase dan fase mitosis.....	85
Gambar 5.2. Tahapan mitosis. Sepasang kromosom ditampilkan, satu kromosom berasal dari ayah (kinetokor hijau muda), dan yang cocok dari ibu (kinetokor hijau tua)	88
Gambar 5.3. Sitokinesis	91
Gambar 7.1. Struktur DNA (<i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>)	118

Gambar 7.2. Metode <i>Phenol Chloroform Isoamly Alcohol</i> (PCIA).....	120
Gambar 7.3. Metode <i>Ion Exchange Resin Chelex</i>	121
Gambar 7.4. Metode <i>Double Spin Coloumn</i>	122
Gambar 7.5. Metode Magnetic Bead – charge	123
Gambar 7.6. Tahapan – tahapan metode <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	126
Gambar 7.7. Tahapan – tahapan elektroforesis gel agarose	127
Gambar 7.8. Hasil visualisasi elektroforesis (Kode M: DNA marker, K+: kontrol positif PCR, 1 – 5: DNA sampel).....	127
Gambar 7.9. Alur penggerjaan metode <i>Real Time PCR</i>	128
Gambar 7.10. Perbedaan SYBR Green dan TaqMan probe	129
Gambar 7.11. Kurva amplifikasi Real Time PCR	129
Gambar 7.12. Hasil amplifikasi metode nested PCR	130
Gambar 7.13. Tahapan nested PCR.....	131
Gambar 7.14. Tahapan Metode Reverse transcription PCR	132
Gambar 8.1. Imun selluler	141
Gambar 8.2. Sel-sel imun.....	143
Gambar 8.3. CD4 + subset sel T-helper dan plastisitasnya.....	148
Gambar 9.1. Konsep regenerasi	157
Gambar 9.2. Klasifikasi Sel Punca Dewasa.....	158
Gambar 9.3. Sel Punca Embrionik.....	160
Gambar 10.1. Tahapan kloning secara umum.....	175

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1. Komposisi Kimia Molekul Dalam sel Mahluk Hidup	3
Tabel 2.1. Perbedaan antara sel prokariotik dan sel eukariotik.....	38
Tabel 2.2. Perbedaan antara sel hewan dan sel tumbuhan.....	40
Tabel 3.1. Klasifikasi enam kelas enzim dan tipe reaksinya	48
Tabel 8.1. Rangkuman Pertahanan sistem imun non-spesifik.....	140
Tabel 10.1. Produk GMO yang sudah berhasil dikembangkan di dunia	178

BAB 1

PENGANTAR BIOLOGI SEL DAN BIOKIMIA

Oleh Nurlena Andalia

1.1 Pendahuluan

Kehidupan di dalam sel bergantung pada ribuan ikatan kimiawi yang secara teratur berinteraksi dan bereaksi satu sama lain, mengoordinasikan satu molekul dengan molekul lainnya sehingga mempengaruhi instruksi genetik sel dan lingkungannya kapan saja dan di mana saja. Ikatan kimia umum ada di antara molekul yang mendukung aktivitas kehidupan sel, yang pada gilirannya mendukung aktivitas kehidupan organisme yang ada di lingkungan perairan. Ini adalah landasan penting karena air adalah molekul paling melimpah dalam sistem biologis. Ada banyak biomolekul dalam air (misalnya gula) yang ikatan antarmolekulnya dikatakan bersifat hidrofilik (suka air), dan ada biomolekul lain (misalnya lemak trigliserida) yang bersifat hidrofobik (tidak suka air). Biomolekul lain dapat memiliki kedua sifat tersebut, seperti fosfolipid, karena ikatan antarmolekul yang unik dengan sifat amphipathic (memiliki daerah sifat hidrofilik dan hidrofobik). Semua molekul dengan sifat unik ini membentuk membran sel dan semua organel sel (Lukitasari, 2015).

Semua organisme terdiri dari sel. Dalam hirarki organisasi biologis, sel adalah kelompok materi hidup yang paling sederhana. Faktanya, banyak bentuk kehidupan organisme seluler ada sebagai sel tunggal. Organisme yang lebih kompleks, termasuk tumbuhan dan hewan, bersifat multiseluler; Badan sel adalah kumpulan berbagai sel khusus yang tidak dapat hidup lama dengan

sendirinya. Bahkan ketika sel disusun ke tingkat yang lebih tinggi seperti jaringan dan organ, sel tetap menjadi unit dasar struktur dan fungsi suatu organisme. Blok penyusun sel terdiri dari molekul biokimia yang sebagian besar terdiri dari enam elemen pengikat: karbon, oksigen, nitrogen, dan hidrogen, didukung oleh belerang dan fosfor. Elemen terpenting dalam menyatukan atom-atom ini adalah elektron. Ikatan kimia selalu mengandung elektron, bagian terkecil dari atom. Elektron bermuatan negatif dan terletak di luar inti atom. Jumlah dan jenis ikatan yang dibentuk oleh atom ditentukan oleh jumlah elektron yang dapat dibagi, hilang, atau dicuri. Dari jumlah tersebut, ikatan yang paling diperhatikan oleh ahli biokimia terkait dengan penggunaan bersama elektron. Ikatan kovalen ini mengikat bersama.

Sel sebagian besar terdiri dari cairan dalam bentuk hidrogen yang terikat secara kovalen dengan oksigen-hidrogen dioksida. Oksigen dapat membentuk 2 ikatan; setiap hidrogen hanya dapat membentuk satu ikatan. Lebih penting lagi, mereka berbagi elektron satu sama lain. unsur lainnya yang sangat penting untuk pembentukan ikatan dalam biokimia juga ingin berbagi. Unsur yang atomnya mungkin paling penting bagi kehidupan adalah karbon. Pentingnya karbon dapat dilacak langsung ke elektronnya. Ini memiliki elektron reaktif, yang semuanya berbagi dengan atom lain. Terkadang pembagiannya genap, terkadang tidak, tetapi karbon tidak pernah sepenuhnya melepaskan elektronnya atau mengambilnya dari atom lain.

Kemampuan karbon untuk membentuk 4 ikatan juga membuatnya penting dalam membangun molekul besar dan kompleks. Misalnya, molekul karbohidrat adalah gugus karbon yang terhidrasi dengan gugus air. Biokimia berurusan dengan molekul besar yang berpusat pada karbon dan hubungannya dengan cairan seluler.

1.2 Komponen Kimiawi Sel

Setiap organisme terdiri dari salah satu dari dua jenis sel yaitu sel prokariotik dan sel eukariotik. Perbedaan mendasar antara kedua jenis ini adalah apakah nukleus ditutupi oleh membran. Sel prokariotik tidak memiliki inti yang terpisah sedangkan sel eukariotik memiliki sel yang terpisah. Adanya selaput inti yang menyebabkan cairan di dalam nukleus (nukleoplasma) terpisah dari cairan kental di luar nukleus (sitoplasma). Inti dan sitoplasma plasma adalah cairan kental yang terdiri dari senyawa kimia (Silaen, 2021).

Senyawa makromolekul yang terdiri dari karbohidrat, protein, lipid dan asam nukleat ditemukan dalam bentuk struktural seperti fosfolipid, protein, glikolipid dan lain-lain dan dalam bentuk tidak terstruktur seperti cadangan makanan dan senyawa yang ada dalam metabolisme. Molekul bercampur, bereaksi dan berinteraksi satu sama lain melalui reaksi kimia. Hampir semua blok bangunan makhluk hidup terus berubah melalui aktivitas kimiawi sebagai ciri dari mereka yang tumbuh dan bereproduksi.

Berikut komposisi kimia molekul dalam sel mahluk hidup.

Tabel 1.1. Komposisi Kimia Molekul Dalam sel Mahluk Hidup

Biomolekul	Persentase (%) Berat Total	Perkiraan Jumlah Jenis Molekul
Asam Nukleat		
DNA	1	1
RNA	6	> 3000
Karbohidrat	3	5
Lipid	2	20
Molekul penyusun dan perantara	2	500
Protein	15	3000

Sumber: (Silaen, 2021).

Protoplasma setiap sel mengandung zat organic berupa karbohidrat, lemak, dan protein.

1.2.1 Karbohidrat

Karbohidrat terdapat dalam sitoplasma dengan komposisi sekitar 13% karbon, hidrogen dan oksigen. Karbohidrat dibagi menjadi glukosa, sukrosa, pati dan selulosa. Fungsi utama karbohidrat adalah produksi energi (Hidayat, 1995). Karbohidrat dalam membran plasma berikatan dengan lipid atau protein dalam bentuk glikolipid dan glikoprotein. Glikolipid adalah kumpulan unit monosakarida yang berbeda seperti gula sederhana D-glukosa, D-galaktosa, D-mannose, L-fruktosa, L-arabinosa, D-xylose dll. Karbohidrat ini memainkan peran penting dalam berbagai fungsi seluler, termasuk sistem kekebalan tubuh. Karbohidrat dalam membran plasma merupakan hasil sekresi sel dan tetap melekat pada membran membentuk glikokaliks (Soemarwoto, 2004).

Karbohidrat adalah alkohol polihidroksi dengan gugus karbonil yang berpotensi aktif, yang dapat berupa gugus aldehida atau keto. Karbohidrat dapat diklasifikasikan berdasarkan karbohidrat yang ada di dalam karbohidrat. Karbohidrat diklasifikasikan menjadi empat jenis: monosakarida, disakarida, oligosakarida, dan polisakarida. Monosakarida tidak dapat dihidrolisis lebih lanjut menjadi bentuk yang lebih sederhana. Disakarida membentuk dua monosakarida setelah hidrolisis. Polisakarida dapat berupa homopolisakarida dan heteropolisakarida (Asif, Akram, Saeed, Khan, Akhtar, & etc, 2011).

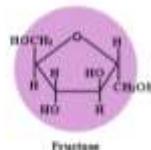
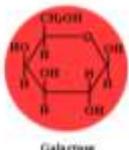
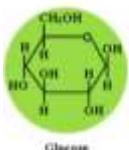
1. Monosakarida

Monosakarida yang paling umum adalah aldoheksosa 6-C, yang meliputi aldoheksosa D-glukosa, dan biasanya terdapat dalam struktur cincinnya yang disebut cincin piranosa daripada dalam struktur rantai terbuka (Gambar 2.1) (BeMiller, 2014) Pada oligo- dan polisakarida, aldopentosa dapat terjadi sebagai struktur cincin 5-C yang dikenal sebagai

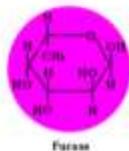
cincin furanosa (BeMiller, 2014). D-Glukosa, mengingat semua bentuk gabungannya, adalah monosakarida paling melimpah yang secara alami terdapat di alam (BeMiller, 2007). Ketosa yang paling melimpah adalah D-arabino-hexulose, dikenal lebih umum dengan nama kecilnya, D-fruktosa (Slavin, 2013) Tiga triosa termasuk ketosa dihidroksiaseton dan kedua bentuk enantiomer dari gliseraldehida (Sinnott, 2013). Erythrose dan threose adalah contoh tetrosa, dan pentosa termasuk ribose, arabinose, xylose, dan apiose (Slavin, 2013).

Maltosa, laktosa, dan sukrosa dihidrolisis menjadi unit monosakarida penyusunnya masing-masing oleh enzim maltase, laktase, dan sukrase. Kompleks α -glukosidase maltase-glukoamilase dan sukrase-isomaltase yang terdapat di brush border usus kecil memecah ikatan glikosidik dalam maltosa dan sukrosa, masing-masing, dengan sebagian besar aktivitas maltase berasal dari kompleks sukrase-isomaltase . Monosakarida yang dihasilkan dari pencernaan disakarida ini mudah diserap di usus kecil. Laktase, sebuah β -galactosidase, juga diekspresikan oleh mamalia muda yang mencerna laktosa menjadi monosakarida penyusunnya yang kemudian diserap di usus kecil.

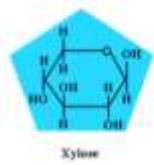
Hexoses:



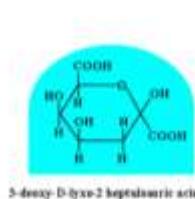
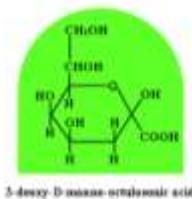
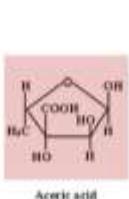
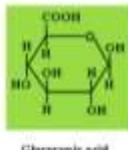
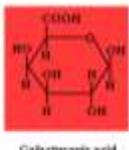
Deoxyhexoses:



Pentoses:



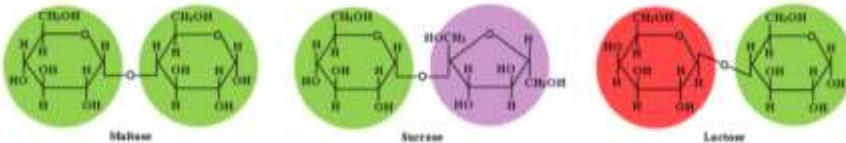
Acidic sugars:



Gambar 1.1. Struktur kimia monosakarida yang umumnya berasosiasi dengan karbohidrat dan serat yang mudah dicerna
Sumber: (Albersheim, Darvill, Roberts, Sederoff, & Staehelin, 2011)

2. Disakarida

Dua unit monosakarida yang dihubungkan oleh ikatan asetal atau ketal disebut sebagai disakarida (Sinnott, 2013). Ikatan glikosidik bergabung dengan 2 unit monosakarida dan dapat menjadi ikatan α -glikosidik jika gugus hidroksil anomerik gula berada dalam konfigurasi α atau ikatan β -glikosidik jika berada dalam konfigurasi β (DR, 2014). Ikatan glikosidik dinamai sesuai dengan posisi atom karbon yang dihubungkan, misalnya ikatan α -glikosidik yang menghubungkan C-1 dari molekul glukosa dan C-4 dari molekul glukosa lain dalam maltosa disebut α -(1, 4) ikatan glikosidik (Gambar 2.2) (NRC, 2012). Tiga disakarida yang paling umum adalah maltosa, laktosa, dan sukrosa (BeMiller J., 2014). Maltosa merupakan gula pereduksi yang merupakan hasil hidrolisis pati oleh enzim α -amilase (BeMiller, 2007). Laktosa adalah gula pereduksi yang terdiri dari unit D-glukosil dan unit α -D-galactopyranosyl yang dihubungkan oleh ikatan β -(1,4) glikosidik dan terdapat dalam susu dan produk susu seperti susu skim dan whey (NRC, 2012). Sukrosa terdiri dari glukosa dan fruktosa dihubungkan oleh α -(1,2) ikatan glikosidik. Berlawanan dengan ikatan umum kepala-ke-ekor (atom karbon anomerik ke atom karbon yang mengandung gugus hidroksil) dalam struktur oligo- dan polisakarida, dalam sukrosa ikatan glikosidik menghubungkan unit α -D-glukopiranosil dan β -D- unit fruktofuranosil secara *head-to-head* (atom karbon anomerik menjadi atom karbon anomerik) menjadikannya gula yang tidak mereduksi. Sukrosa disintesis melalui proses fotosintesis untuk menyediakan energi dan atom karbon untuk sintesis senyawa lain di dalam tumbuhan.



Gambar 1.2. Struktur Kimia Disakarida

Sumber : (Bach Knudsen KE & Jørgensen H, 2013)

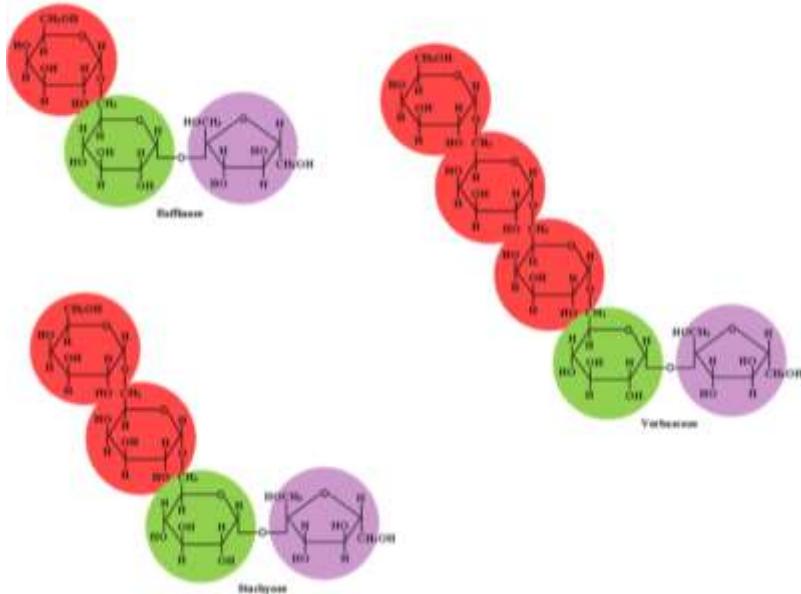
Maltosa, laktosa, dan sukrosa dihidrolisis menjadi unit monosakarida penyusunnya masing-masing oleh enzim maltase, laktase, dan sukrase. Kompleks α -glukosidase maltase-glukoamilase dan sukrase-isomaltase yang terdapat di brush border usus halus memecah ikatan glikosidik pada maltosa dan sukrosa, masing-masing, dengan sebagian besar aktivitas maltase berasal dari kompleks sukrase-isomaltase (Slavin, 2013), (BeMiller, 2007). Monosakarida yang dihasilkan dari pencernaan disakarida ini mudah diserap di usus kecil (A & Brot-Laroche E, 2013). Laktase, sebuah β -galactosidase, juga diekspresikan oleh mamalia muda yang mencerna laktosa menjadi monosakarida penyusunnya yang kemudian diserap di usus kecil (BeMiller, 2007).

3. Oligosakarida

Oligosakarida terdiri dari galakto-oligosakarida, frukto-oligosakarida, dan mannan-oligosakarida yang tidak dapat dicerna oleh enzim pankreas atau usus, tetapi larut dalam etanol 80%. Galacto-oligosakarida, atau α -galaktosida, yang terdapat dalam jumlah besar pada kacang-kacangan, terdiri dari rafinosa, stakiosa, dan verbaskosa, yang memiliki struktur yang terdiri dari satu unit sukrosa yang dihubungkan dengan satu, dua, atau tiga unit D- galaktosa, masing-masing (Gambar 1.3). Oligosakarida ini menyebabkan perut kembung pada babi dan manusia karena kurangnya enzim, α -galaktosidase, yang

menghidrolisis ikatan glikosidik yang menghubungkan monosakarida yang membentuk α -galaktosida ini dan, karenanya, digunakan oleh bakteri di usus besar (Vaclavik & EW, 2014). Pada rafinosa, D-galaktosa berikatan dengan sukrosa melalui ikatan α -(1,6), sedangkan dua unit dan tiga unit D-galaktosa berikatan dengan sukrosa, juga melalui ikatan α -(1,6) glikosidik, pada stakiosa dan verbaskosa, masing-masing. Transgalakto-oligosakarida adalah jenis lain dari galakto-oligosakarida yang mungkin memiliki efek prebiotik pada babi muda dan disintesis secara komersial dari aksi transglukosilasi β -glikosidase pada laktosa, menciptakan β -(1,6) polimer galaktosa yang terkait dengan unit glukosa terminal. melalui ikatan α -(1,4) glikosidik. Namun, transgalakto-oligosakarida tidak disintesis secara alami.

Galacto-oligosaccharides:

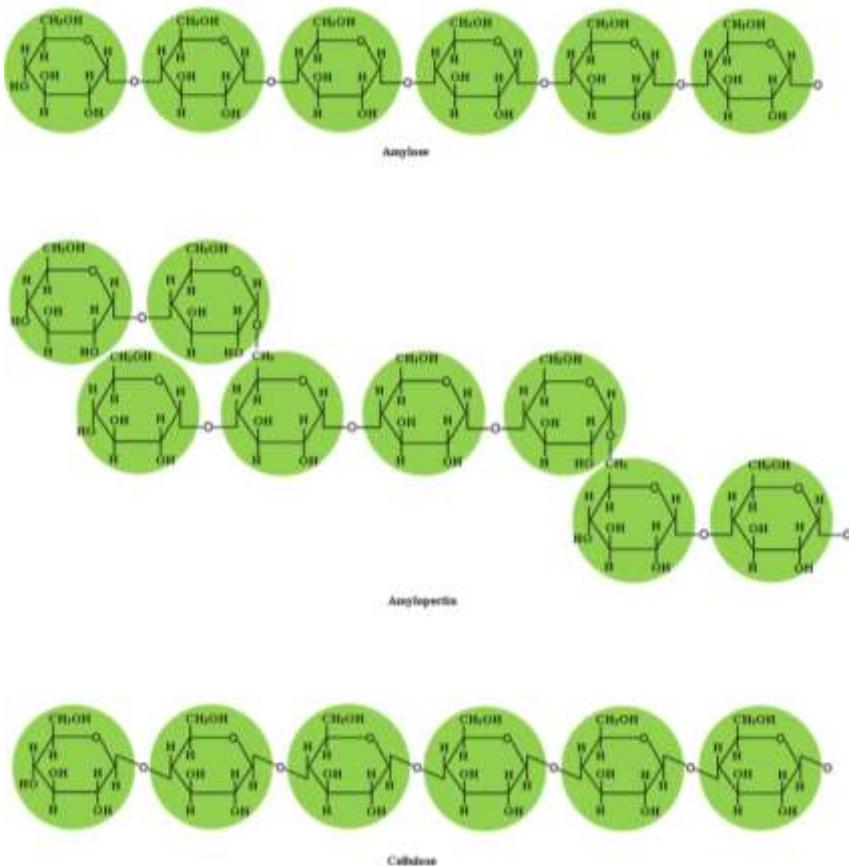


Gambar 1.3. Struktur Kimia Oligosakarida
Sumber : (Bach Knudsen KE & Jørgensen H, 2013).

4. Polisakarida

Polisakarida adalah karbohidrat dengan berat molekul tinggi yang merupakan polimer dari monosakarida. Polisakarida terdiri dari polimer gula yang ukurannya bervariasi dan dapat berbentuk linier atau bercabang. Polisakarida dapat diklasifikasikan sebagai homopolisakarida jika hanya mengandung satu jenis residu gula (misalnya, pati, glikogen, dan selulosa) atau sebagai heteropolisakarida jika mengandung dua atau lebih jenis residu gula yang berbeda dalam strukturnya (misalnya, arabinoksilan, glukomanan, dan asam hialuronat; 2).

Pati dapat berbentuk linier atau bercabang dan merupakan bentuk penyimpanan karbohidrat pada tumbuhan, sedangkan glikogen sangat bercabang dan hanya terdapat pada jaringan hewan, terutama pada otot dan hati (NL, Kiem NL, Levin RJ, & Havel PJ, 2014). Pati merupakan salah satu karbohidrat yang paling melimpah di alam. Itu disintesis untuk menyimpan energi untuk pertumbuhan tanaman dan disimpan dalam biji, umbi, akar, batang, daun, dan beberapa buah (Dar, 2014). Pati merupakan polimer D-glukosa yang terdiri dari dua jenis molekul, amilosa dan amilopektin (Gambar 1.4).



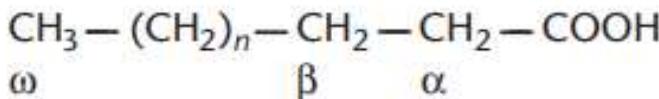
Gambar 1.4. Struktur Kimia Amilosa, Amilopektin, dan Selulosa
 Sumber : (Bach Knudsen KE & Jørgensen H, 2013)

1.2.2 Lemak

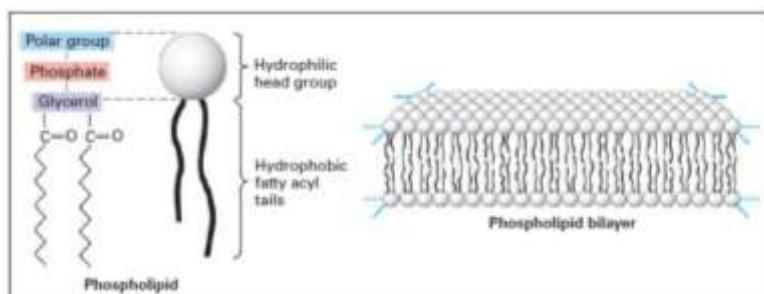
Lemak atau lipid terdiri dari unsur karbon, hidrogen, dan oksigen, lemak dibentuk oleh gliserol dan asam lemak. Penguraian lemak secara kimiawi menghasilkan energi yang jumlahnya lebih besar dibandingkan dengan yang dihasilkan karbohidrat (Hidayat, 1995).

Setiap molekul lipid bersifat *amfifatik*. Lipid *amfifatik* mengandung komponen ekor yang bersifat *hidrofobik* (tidak suka air) dan komponen kepala yang bersifat *hidrofilik* (suka air). Lipid membran terdiri dari 3 kelas utama yaitu : *fosfolipid*, *glikospingolipid*, dan *sterol*

Lipid atau asam lemak adalah rantai karbon dengan gugus metil di salah satu ujung molekul (ditunjuk omega, ω) dan gugus karboksil di ujung lainnya (Gambar 1.5). Atom karbon di sebelah gugus karboksil disebut karbon α , dan yang berikutnya disebut karbon β . Huruf ω juga sering digunakan sebagai pengganti bahasa Yunani ω untuk menunjukkan posisi ikatan rangkap yang paling dekat dengan ujung metil. Tata nama sistematis untuk asam lemak juga dapat menunjukkan lokasi ikatan rangkap dengan mengacu pada gugus karboksil (D). Gambar 1.5 menguraikan struktur berbagai jenis asam lemak alami.



Gambar 1.5. Struktur Asam Lemak (Lipid)
Sumber: (Arild, 2005)



Gambar 1.6. Struktur Pembangun Fosfolipid
Sumber: (Lodish, 2016)

Blok bangunan kimiawi yang menyusun sel—asam amino, nukleotida, gula, dan fosfolipid. Struktur, fungsi, dan perakitan protein, asam nukleat, polisakarida, dan biomembran.

1.2.3 Protein

Sekitar 15% protoplasma terdiri dari protein. Selain unsur karbon, hydrogen, dan oksigen dan nitrogen. Protein dibentuk oleh asam amino (Hidayat, 1995).

Asam amino adalah blok bangunan protein. Asam amino merupakan senyawa organik penting yang mengandung gugus fungsi amino (-NH₂) dan Karboksil (-COOH), serta rantai samping (gugus R) yang spesifik untuk setiap asam amino. Dua puluh asam amino berbeda umumnya ditemukan dalam protein. Semua 20 asam amino umum ini adalah asam α -amino kecuali prolin dan struktur umumnya ditunjukkan di bawah ini. Mereka memiliki gugus karboksil dan gugus amino yang terikat secara kovalen dengan atom α -karbon. Mereka berbeda satu sama lain dalam kelompok R rantai samping mereka. Karena, struktur yang tersisa adalah sama sehingga sifat asam amino ini terutama ditentukan oleh gugus rantai samping. Sifat rantai samping ini mungkin polar, nonpolar (alifatik), hidrofilik, hidrofobik, asam, basa dan aromatik. Asam amino ini telah disingkat menggunakan kata tiga huruf atau kata satu huruf (Rizwan, Mohammad Khursheed Siddiqi , & Parveen, 2017).

Berdasarkan posisinya pada membran, terdapat dua macam protein yaitu: **protein integral: globular, amfipatik** dengan dua ujung hidrofil yang dipisahkan **region hidrofob** dalam lapisan **bilayer lipid** dan **protein perifer:** terikat lemah pada bagian **hidrofilprotein integral.**

Molekul protein di permukaan luar memberi setiap sel sifat uniknya, dan jenis protein dapat bervariasi tergantung pada diferensiasi sel.

Protein perifer tidak berinteraksi dengan inti hidrofobik membran tetapi berikanan langsung melalui pengikatan pada protein membran integral atau berinteraksi langsung dengan bagian polar lipid membran.

Misalnya, protein sitoskeletal, protein kinase (pada permukaan sitoplasma membran) dan protein matriks ekstraseluler (permukaan eksoplasma). Protein transmembran mengandung asam amino hidrofobik panjang yang tertanam dalam lapisan ganda lipid. Ada dua jenis interaksi yang menstabilkan protein membran integral, yaitu interaksi ionik dengan daerah kepala polar dan interaksi hidrofobik dengan intermediet hidrofobik seperti glikoforin. Beberapa protein tetap berikanan dengan membran melalui ikatan kovalen dalam rantai hidrokarbon. Tiga jenis protein integral dikenal berdasarkan perlekatananya pada rantai karbohidrat, yaitu:

Glycosylphosphatidylinositol -

Protein, protein myristate dan protein farnesyl. Posisi dan orientasi protein dalam membran bervariasi tergantung pada jenis membran, sel dan jaringan. Ini bisa berupa protein integral atau protein periferal.

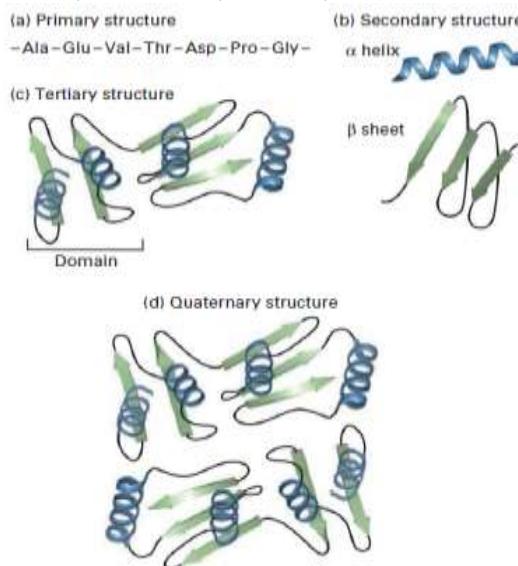
Glikoprotein membran eritrosit adalah protein yang menembus membran sel. Protein membran integral terdiri dari empat kelas yaitu protein Tipe A, protein Tipe B, protein Tipe C dan protein Tipe D. Protein tipe A dan C secara struktural sama, tetapi tertanam dalam lapisan membran yang berbeda. Contoh protein tipe A adalah sitokrom b5 di retikulum endoplasma. Protein B merupakan protein kompleks yang berperan dalam sistem transportasi. Protein D adalah protein transmembran. Protein tipe B adalah sekumpulan molekul yang strukturnya terdiri dari Na⁺, K⁺, ATPase, dan protein transpor anion. Contoh protein tipe-D adalah glikoforin dalam membran sel darah merah. Protein membran plasma dapat berfungsi sebagai enzim. Enzim

membran plasma dapat dibagi menjadi dua kategori berdasarkan tempat aktivitas katalitiknya, yaitu:

- Ektoenzim, yaitu enzim yang aktivitas katalitiknya terjadi pada permukaan luar membran plasma.
- Endoenzim, yaitu enzim yang aktivitas katalitiknya terjadi pada permukaan dalam membran plasma (Silaen, 2021).

Dalam banyak protein, rantai polimer terlipat menjadi berbeda bentuk tiga dimensi yang distabilkan terutama oleh interaksi nonkovalen antar daerah dalam urutan linier asam amino. Konsep kunci dalam memahami cara kerja protein adalah bahwa fungsi sering diturunkan dari struktur tiga dimensi, dan struktur tiga dimensi ditentukan oleh urutan asam amino protein dan interaksi nonkovalen intramolekul.

Struktur protein terbagi menjadi empat tingkat organisasi: primer, sekunder, tersier, dan kuaterner.



Gambar 1.7. Empat Pembagian Protein.
Sumber: (Lodish, 2016).

1.2.4 Asam Nukleat

Urutan asam amino polipeptida diprogram oleh gen, yang merupakan unit pewarisan genetik berupa potongan-potongan DNA yang merupakan senyawa polimer yang dikenal sebagai asam nukleat. Dua jenis asam nukleat adalah asam deoksiribonukleat (DNA) dan asam ribonukleat (RNA). Keberadaan asam nukleat ini memungkinkan organisme hidup mereproduksi komponen kompleksnya dari generasi ke generasi. DNA adalah materi genetik yang diwariskan organisme dengan ratusan atau bahkan ribuan gen dari orang tuanya. DNA berisi semua informasi yang dibutuhkan untuk membangun sel dan jaringan dalam organisme. Reproduksi yang akurat dan tepat dari informasi yang terkandung dalam DNA diwariskan dari generasi ke generasi untuk perkembangan individu. Pesan genetik DNA melewati proses yang disebut transkripsi, di mana pesan ditransmisikan dalam bentuk kode triplet dasar yang disebut kodon, dan RNA mentransmisikannya melalui mekanisme translasi. Kedua fungsi penting ini merupakan mekanisme penting dalam sintesis protein.

DAFTAR PUSTAKA

- A, L., & Brot-Laroche E. 2013. *Digestion and Absorption of Carbohydrates*. St. Louis: Elsevier.
- Albersheim, P., Darvill, A., Roberts, K., Sederoff, R., & Staehelin, A. 2011. *Plant Cell Walls*. New York: Garland Science, Taylor & Francis Group, LLC.
- Arild. 2005. Fatty Acids: Structures and Properties. *Encyclopedia of Life Sciences*, 1-7.
- Asif, H., Akram, M., Saeed, T., Khan, I., Akhtar, N., & etc. 2011. Carbohydrates. *International Research Journal of Biochemistry and Bioinformatics*, 1(1), 001-005.
- Bach Knudsen KE, L. H., & Jørgensen H. (2013). Carbohydrates and Carbohydrate Utilization in Swine. In L. I. Chiba, *Sustainable Swine Nutrition* (pp. 109–137.). Wiley.
- BeMiller. 2007. *Carbohydrate Chemistry for Food Scientists*. 2nd ed. St. Paul: AACC International.
- BeMiller, J. 2014. *Essentials of Carbohydrate Chemistry*. Lancaster: DEStech Publications.
- Dar, Y. 2014. *Starches as food texturizing systems*. In: Embuscado ME, editor. *Functionalizing carbohydrates for food applications: texturizing and bioactive/flavor delivery systems*. Lancaster: DEStech Publications.
- DR, F. 2014. *Biochemistry*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Hidayat, E. B. 1995. *Anatomi Tumbuhan Berbiji*. Bandung : ITB Bandung .
- Lodish, e. 2016. *Molecular Cell Biology*. America: W. H. Freeman and Company.
- Lukitasari, M. 2015. *Biologi Sel*. Malang : Universitas Negeri Malang.
- Maders, S. S. 2005. *Human Understanding Anatomy & Physiology* . USA: McGraw-Hill Higher Education.

- NL, K., Kiem NL, Levin RJ, & Havel PJ. 2014. *Carbohydrates*. In: Ross AC, Caballero B, Cousins RJ, Tucker KL, Ziegler TR, editors. *Modern nutrition in health and disease*. 11th Ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins.
- NRC. 2012. *Nutrient Requirements of Swine 11th Ed*. Washington, DC: Natl. Acad. Press.
- Rizwan, H., Mohammad Khursheed Siddiqi , & Parveen. 2017. *Protein Structure and Function*. India: Aligarh.
- Silaen, S. 2021. *Biologi Sel dan Molekuler*. Tasikmalaya: Perkumpulan Rumah Cemerlang Indonesia.
- Sinnott, M. 2013. *Carbohydrate Chemistry and Biochemistry: Structure and Mechanism*. 2nd Ed. Cambridge: The Royal Society of Chemistry.
- Slavin, J. 2013. *Structure, Nomenclature, and Properties of Carbohydrates*. St. Louis: Elsevier.
- Soemarwoto. 2004. *Biologi Umum*. Jakarta: Gramedia.
- Vaclavik, & EW, C. 2014. *Essentials of food science*. New York: Springer.

BAB 2

KONSEP DASAR SEL DAN FUNGSI ORGANEL

Oleh Adriani

2.1 Konsep Tentang Sel

Sel merupakan unit terkecil, struktural dan fungsional bagi setiap makhluk hidup. Sebagai unit struktural, sel menyusun tubuh makhluk hidup. Sebagai unit terkecil dari makhluk hidup, sel berada dalam tingkatan paling rendah dalam penyusunan tubuh makhluk hidup. Adapun urutan susunan tubuh makhluk hidup yaitu sel, jaringan, organ, sistem organ dan individu. Sebagai unit fungsional, sel memiliki organel-organel dengan fungsi berbeda dalam menyokong aktivitas sel. Sebagai contoh, mitokondria berfungsi sebagai penghasil energi sel karena menghasilkan energi melalui respirasi. Sel juga merupakan kesatuan herediter, yang berarti sel memiliki materi genetic berupa kromoson yang dapat diwariskan ke generasi berikutnya.

Organisme yang tubuhnya tersusun atas sel tunggal disebut organisme uniseluler. Meskipun hanya terdiri atas satu sel, namun tetap mampu melakukan aktivitas kehidupan dan beberapa reaksi kimia untuk metabolism. Contoh organisme uniseluler adalah bakteri dan amoeba. Organisme yang tersusun atas banyak sel disebut sebagai organisme multiseluler. Berbagai tipe sel yang dimiliki oleh organisme multiseluler akan terspesialisasi sesuai dengan fungsinya masing-masing. Sel dengan tipe yang sama akan membentuk jaringan. Kumpulan jaringan dengan bentuk dan fungsi yang sama membentuk organ berbagai organ. Kumpulan organ akan membentuk sistem organ. Dengan konsep seperti ini

tidak mengherankan apabila organisme multiseluler struktur tubuhnya lebih kompleks dibandingkan organisme uniseluler. Contoh organisme multiseluler adalah tumbuhan, hewan dan manusia.

2.2 Sejarah Perkembangan Sel

Pemahaman tentang sel dimulai secara bertahap dan membutuhkan waktu yang panjang untuk memperoleh definisi yang tepat seperti saat ini. Sel berasal dari bahasa Yunani *kytos* : sel dan *cella* : ruang kosong. Istilah tersebut diperkenalkan pertama kali oleh Robert Hooke (1665) yang mengamati irisan gabus menggunakan mikroskop sederhana. Beliau menemukan bahwa di dalam potongan gabus tersebut terdapat ruang-ruang kecil yang disebutnya sebagai *cellula*. (rongga). Beberapa tahun setelahnya (1674) Anthonie Van Leeuwenhoek melihat benda yang bergerak (protozoa) pada setetes air rendaman jerami menggunakan mikroskop dengan perbesaran 300 kali. Tahun 1831 Robert Brown berhasil menemukan inti sel dalam jaringan tumbuhan dan tahun 1836 Felix Dujardin mengemukakan bahwa terdapat cairan di dalam sel. Peneliti lainnya, Johannes Purkinje (1839), menemukan bahwa di dalam *cellula* terdapat zat yang mengalir dan disebut proplasma. Teori ini diperkuat oleh Mathias Schleiden dan Theodor Schwan yang menyatakan bahwa sel tumbuhan dan hewan juga memiliki protoplasma. Berdasarkan temuan tersebut, keduanya sepakat mencetuskan teori sel yang berbunyi sel merupakan unit terkecil dari makhluk hidup. Seorang ahli patologi, Rudolf Virchow (1858) mendukung teori sel tersebut dengan menyebutkan bahwa sel merupakan unit pertumbuhan pada makhluk hidup dan berasal dari kehidupan sebelumnya (*omne cellula e cellulae*). Teori yang dikemukakan oleh Rudolf Virchow berhasil mematahkan teori *generatio spontanea* (makhluk hidup terbentuk secara spontan) yang dikemukakan oleh Aristoteles. Max Schultze (1863) menyebutkan bahwa sel merupakan unit kesatuan fungsional dari

makhluk hidup. Teori tentang sel terus bermunculan demikian juga dengan penemuan organel sel dan fungsinya masing-masing (Adrianto, 2018).

2.3 Organel Sel (Atmaji, 2019; Akmalia dkk, 2020;)

2.3.1 Dinding sel

Bagian terluar dari suatu sel adalah dinding sel. Komponen penyusun dinding sel pada makhluk hidup berbeda antara satu dengan yang lainnya. Dinding sel bakteri tersusun atas peptidoglikan dan lipopolisakarida. Pada jamur, dinding selnya tersusun atas senyawa kitin, glukan dan protein. Dinding sel pada tumbuhan tersusun atas selulosa, hemiselulosa dan lignin. Pada sel hewan dinding sel tidak ditemukan. Hal inilah yang menjadi salah satu pembeda antara sel hewan dengan sel tumbuhan yaitu keberadaan dinding sel.

Fungsi dinding sel adalah sebagai berikut :

1. Melindungi sel dari kerusakan fisik dan serangan patogen.
2. Memberi bentuk sel dan mempertahankan kekuatan sel.
Dinding sel pada tumbuhan cenderung kaku dan keras. Hal ini disebabkan karena tersusun atas beragam molekul glukosa dan lignin yang menyebabkan dinding sel tumbuhan kuat dan kokoh
3. Transportasi

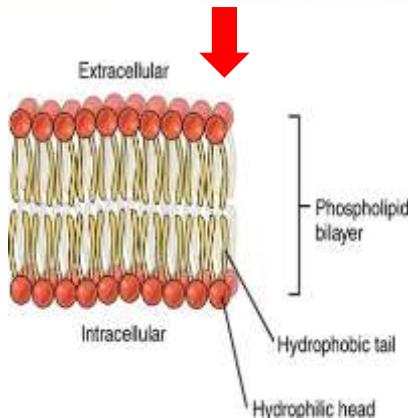
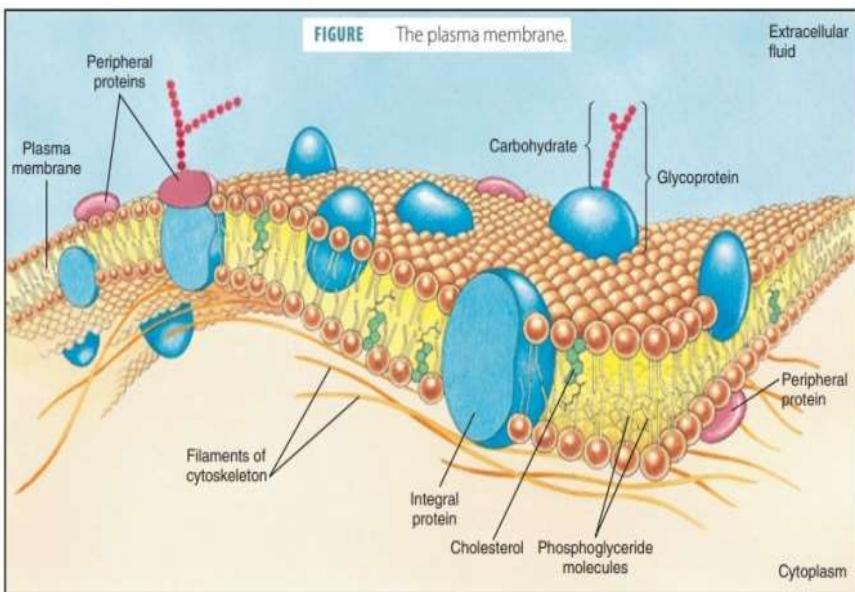
Pada dinding sel tumbuhan terdapat plasmodesmata, yaitu saluran terbuka pada dinding sel yang memungkinkan pertukaran zat, pertukaran gas maupun komunikasi antar sel.

2.3.2 Membran sel

Membran sel merupakan pembatas/*barier* antara bagian dalam sel dengan bagian luar sel. Komponen penyusun membran sel terdiri atas 20% air dan 80% sisanya adalah lipid, sterol, protein, karbohidrat dan ion.

1. Lipid

Lipid berikatan dengan gugus fosfat sehingga dikenal dengan nama fosfolipid. Lipid bersifat amfifilik yang artinya memiliki sifat polar (hidrofilik) dan non polar (hidrofobik). Lipid hidrofilik terletak pada bagian kepala membran sel sedangkan lipid hidrofobik terletak pada bagian bawah membran (ekor). Tidak semua molekul mampu melewati ekor membran sel, karena tidak semua molekul bersifat nonpolar. Hanya beberapa molekul tertentu saja yang mampu melewati lapisan tersebut sehingga membran sel dikatakan bersifat *selective permiable*.



Gambar 2.1. Struktur membran sel Membran---Stru-0h0.jpg
 Sumber : <https://www.pharmacy180.com/media/article/article-Cell>

2. Protein

Berdasarkan letaknya protein penyusun membran sel dibedakan menjadi 3 yaitu :

- a. Protein integral, protein yang tertanam di dalam membran dan mampu menembus sebagian permukaan membran.
- b. Protein peripheral, protein yang terletak pada permukaan dalam maupun permukaan luar membran dan tidak berinteraksi dengan bagian hidrofobik lipid
- c. Protein terjangkar, protein yang terikat pada lipid melalui suatu ikatan yang berbentuk jangkar.

Fungsi membran sel :

1. Jalur transportasi

Membran sel berperan sebagai jalur transport zat-zat yang akan masuk maupun keluar dari sel. Mekanisme transportasi yang terjadi pada membran sel yaitu

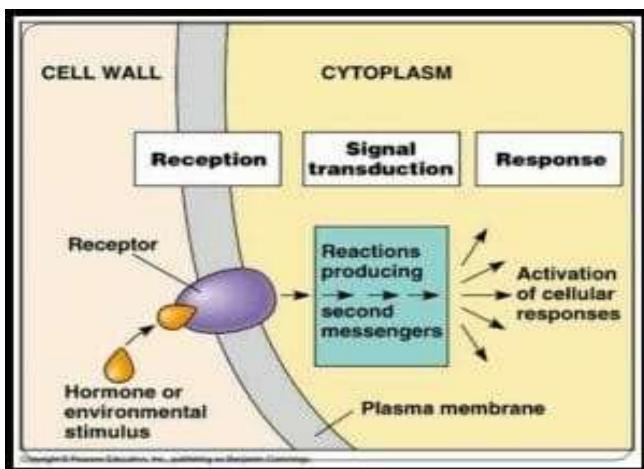
- a. Transport pasif, transportasi melewati membran sel yang tidak melibatkan energi. Jenis transport pasif yaitu:
 - 1) Difusi sederhana, merupakan perpindahan zat terlarut dari konsentrasi tinggi (hipertonis) ke kondisi rendah (hipotonis) sehingga diperoleh konsentrasi yang sama (isotonis).
Contoh : penyemprotan parfum ke seluruh ruangan
 - 2) Difusi terfasilitasi, merupakan perpindahan molekul ke dalam sel yang membutuhkan protein membran untuk melewati membran sel.
Contoh : perpindahan glukosa yang membutuhkan protein transporter
 - 3) Osmosis, merupakan perpindahan pelarut/air dari konsentrasi hipertonis ke konsentrasi hipotonis
Contoh : krenasi pada sel darah merah

b. Transport aktif

Transport aktif adalah transport melalui membran sel yang memerlukan energi berupa ATP untuk memompa molekul melawan grandien konsentrasi. Transpor aktif dibedakan menjadi 2 yaitu :

- 1) Endositosis, mekanisme masuknya molekul seperti protein, cairan elektrolit, dan juga patogen ke dalam sel. Peristiwa endositosis diawali dengan pelipatan membran sel membentuk vakuola endositik. Vakuola kemudian terisi dengan zat-zat yang akan dimasukkan ke dalam sel. Setelah semua zat masuk maka membran sel akan menutup. Proses pencernaan selanjutnya akan diambil alih oleh lisosom. Proses endositosis pada sel meliputi :
 - a) Fagositosis, proses "menelan" partikel asing ke dalam sel dengan bantuan membran plasma. Tahap awal fagositosis adalah membran plasma mengelilingi partikel asing ($> 0,5 \mu\text{m}$) yang akan ditelan dan membentuk fagosom. Lisosom kemudian menyatu dengan fagosom dan mensekresikan enzim lizozim untuk mencerna partikel tersebut. Setelah dicerna, partikel tersebut dikeluarkan melalui eksositosis. Contoh : *Amoeba sp* ketika mencerna makanan. makrofag yang mencerna virus/bakteri
 - b) Pinositosis, proses "meminum" partikel asing yang sifatnya *liquid* oleh sel. Partikel yang mengalami pinositosis meliputi ion, glukosa, asam amino.
Contoh : pinositosis pada lapisan sel kapiler darah dan sel akar tanaman.

- c) Endositosis yang diperantara oleh reseptor
Endositosis yang diperantara reseptor lebih efisien dibandingkan pinositosis untuk memperoleh partikel asing atau makromolekul. Hal ini disebabkan karena adanya kompleks protein beserta reseptornya yang terlibat dalam proses endositosis.
 - 2) Eksositosis, mekanisme keluarnya zat-zat dari dalam sel yang telah terbungkus oleh vesikel berbentuk kantung. Vesikel selanjutnya menyatu dengan membran. Hal ini menyebabkan membran sel terbuka sehingga molekul zat dikeluarkan dari sel.
2. Komunikasi antar sel
- Membran sel memiliki reseptor pada bagian permukaan yang memungkinkan komunikasi antar sel. Sinyal yang diterima oleh reseptor berupa hormon, senyawa peptide, toksin, maupun sinyal dari lingkungan akan diterima oleh reseptor permukaan membran. Sinyal kemudian diteruskan ke dalam sel dan memicu aktivasi gen tertentu yang sesuai dengan sinyal yang diterima. Hal ini menyebabkan respon imun selular menjadi aktif. Sebagai contoh, mikroba patogen yang menginfeksi tanaman akan melepaskan molekul sinyal (elisitor). Sinyal tersebut akan dikenali oleh reseptor permukaan membran yang terdapat pada sel tanaman. Interaksi antara elisitor dengan reseptor menyebabkan aktivasi gen pembentuk fitoaleksin (senyawa antimikroba pada tanaman). Fitoaleksin akan dilepaskan oleh tanaman pada sekitar daerah terinfeksi maupun daerah yang jauh dari sumber infeksi. Salah satu contoh fitoaleksin pada tanaman adalah senyawa scopoletin (Sun *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2017).



Gambar 2.2. Mekanisme transduksi sinyal yang melibatkan membran sel

Sumber : <https://biologydictionary.net/signal-transduction/#foobox-1/0/Signal-Transduction-Pathways-Model.jpg>

2.3.3 Sitoplasma

Cairan yang terdapat di dalam sel dan terletak di luar ini sel disebut sebagai sitoplasma. Komponen penyusun sitoplasma berupa padatan dan cairan. Padatan pada sitoplasma berupa organel-organel sel seperti ribosom, mitokondria, retikulum endoplasma dan lain sebagainya. Cairan sitoplasma/sitosol berisi 90% air dan 10% sisanya adalah ion maupun molekul pembentuk gula, asam amino, asam lemak dan vitamin. Fungsi sitoplasma adalah tempat berlangsungnya beberapa reaksi kimia pada sel.

2.3.4 Ribosom

Ribosom termasuk organel yang tidak bermembran, ditemukan tersebar dalam sitoplasma dan juga melekat pada retikulum endoplasma. Peranan ribosom adalah tempat sintesis asam amino menjadi polipeptida. Tahapan sintesis protein meliputi

penerjemahan DNA menjadi RNA (transkripsi), perubahan RNA menjadi asam amino (translasi). Transkripsi berlangsung di dalam nukleus sedangkan translasi berlangsung di dalam ribosom. Asam amino yang dihasilkan dari proses translasi selanjutnya saling berikatan membentuk polipeptida yang nantinya akan membentuk protein.

2.3.5 Mitokondria

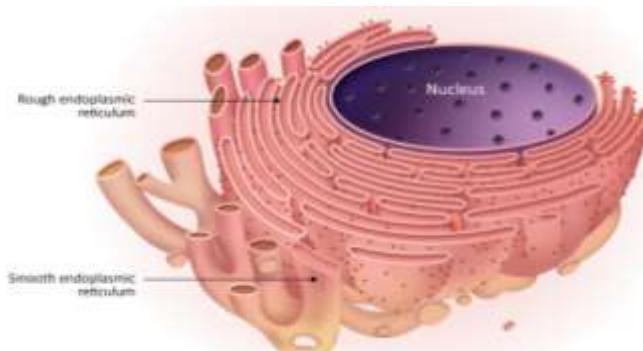
Mitokondria memiliki membran ganda dan berfungsi untuk respirasi sel. Mitokondria seringkali disebut sebagai “the power of cell” karena kemampuannya menghasilkan energi untuk aktifitas sel melalui respirasi. Mitokondria memiliki 2 membran yaitu membran luar (krista) dan membran dalam (matriks). Respirasi seluler terjadi melalui 4 tahap yaitu glikolisis, dekarboksilasi oksidatif, siklus krebs dan transpor electron.

1. Glikolisis merupakan proses penguraian glukosa yang terjadi di dalam sitoplasma dan menghasilkan energi sebesar 2 ATP, 2 molekul asam piruvat dan 2 NADH.
2. Dekarboksilasi oksidatif (DO) merupakan tahap respirasi antara siklus glikolisis dan siklus krebs. Pada tahap ini asam piruvat yang dihasilkan pada proses glikolisis diubah menjadi asetyl Co-A, CO₂ dan NADH. Peristiwa DO berlangsung di dalam matriks mitokondria.
3. Siklus krebs merupakan tahap respirasi seluler setelah DO. Asetyl co-A yang dihasilkan pada proses DO akan mengalami sejumlah reaksi enzimatis dan menghasilkan ATP, CO₂, NADH, FADH₂. Siklus krebs sendiri terjadi di dalam matriks mitokondria, sama seperti DO.
4. Transpor electron (TE), merupakan tahap terakhir dalam siklus respirasi seluler. Tahap ini menghasilkan H₂O dan ATP dalam jumlah besar yaitu 34 ATP. Tempat berlangsungnya TE adalah krista mitokondria.

Sama halnya dengan nukleus, mitokondria juga mengandung DNA. Terdapat perbedaan antara DNA yang ditemukan pada nukleus dan mitokondria. Kandungan basa guanine (G) dan sitokin (C) lebih tinggi pada mitokondria sehingga densitas DNA mitokondria lebih tinggi dibandingkan DNA nukleus (Akmalia, 2021)

2.3.6 Retikulum endoplasma

Saluran yang berkelok-kelok yang menghubungkan antara nukleus dengan sitoplasma disebut retikulum endoplasma (RE). Berdasarkan strukturnya, RE dibedakan menjadi RE kasar dan RE halus. RE kasar memiliki ribosom yang melekat pada permukaannya berfungsi untuk mengumpulkan protein yang dihasilkan oleh ribosom. RE halus tidak memiliki ribosom yang melekat pada permukaannya, dan fungsinya adalah sintesis lipid, kolesterol, hormon dan metabolism mineral.



Gambar 2.3. Struktur reticulum endoplasma

Sumber :

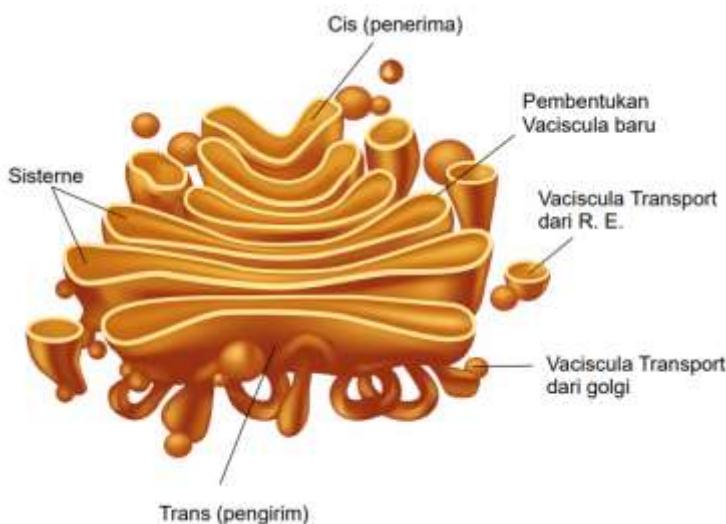
<https://www.genetex.com/upload/media/research/Organelle%20Markers/Endoplasmic%20Reticulum/Endoplasmic%20Reticulum->

2.3.7 Lisosom

Lisosom merupakan organel yang ditemukan hanya pada sel hewan. Sebagai organel berlapis membran, lisosom mengandung banyak enzim lisozim untuk mencerna zat yang masuk ke dalam sel. Aktivitas pencernaan yang dilakukan oleh lisosom yaitu fagositosis, pinositosis dan autolisis. Aktivitas autolisis terjadi pada ekor katak yang mengalami perubahan. Ketika masih berupa berudu, ekor katak panjang, namun setelah bermetamorfosis menjadi katak dewasa maka ekornya sudah tidak ditemukan. Hal ini disebabkan oleh aktivitas lisosom yang mencerna sendiri selnya (autofagi) sebagai bentuk adaptasi lingkungan.

2.3.8 Aparatus golgi

Apparatus golgi disebut juga dengan badan golgi, merupakan organel bermembran yang mengandung banyak enzim dan strukturnya menyerupai kantung. Badan golgi tersusun atas kumpulan kantung pipih berbatas membran dan disebut dengan sisterna. Umumnya organisme memiliki lebih dari satu badan golgi tergantung jenis dan aktivitas metabolism sel tersebut. Badan golgi yang berdekatan dengan nukleus disebut sisi *cis* sedangkan sisi yang menjauhi nukleus dinamakan sisi *trans*. Badan golgi pada sel tumbuhan disebut dengan diktiosom. Fungsi badan golgi yaitu membentuk organel seperti vesikula sekretori, membran plasma, dinding sel dan akrosom pada sperma.



Gambar 2.4. Struktur badan golgi

Sumber : https://sinotif.com/userfiles/image_ck/images/Badan%20golgi.PNG

2.3.9 Nukleus

Nukleus atau inti sel merupakan organel terbesar yang terdapat di dalam sel (diameter $\pm 5 \mu\text{m}$) dan memiliki membran ganda. Sebagai komponen vital, nukleus berperan dalam mengatur segala aktifitas organel sel. Nukleus mengandung kromosom yang berisikan DNA (struktur pembawa informasi genetik) yang akan diwariskan kepada generasi berikutnya melalui proses reproduksi. Karena memiliki DNA, maka secara tidak langsung nukleus terlibat dalam sintesis protein. Sebagaimana diketahui sebelumnya bahwa sintesis protein membutuhkan DNA sebagai bahan baku. Molekul DNA akan ditranskripsi menjadi RNA di dalam sitoplasma, RNA yang terbentuk akan dikeluarkan dari sitoplasma dan diangkut menuju ribosom untuk sintesis protein.

2.3.10 Vakuola

Vakuola merupakan organel terbesar berlapis membran yang terdapat pada sel tumbuhan dan sel hewan. Pada sel tumbuhan, vakuola yang ditemukan hanya satu namun memiliki ukuran yang besar. Berbeda dengan sel hewan yang memiliki banyak vakuola namun ukurannya kecil. Fungsi vakuola yaitu :

1. Tempat penyimpanan berbagai molekul organik dan anorganik (air, ion, nutrisi, enzim dan juga pigmen tumbuhan)
2. Sumber cadangan makanan bagi embrio tanaman yang sedang tumbuh
3. Tempat menyimpan sisa metabolism yang tidak terpakai
4. Menjaga tekanan turgor sel tumbuhan. Tekanan turgor adalah tekanan untuk mempertahankan bentuk dan keseimbangan sel.

Pada organisme prokariotik terdapat 2 jenis vakuola , yaitu vakuola makanan dan vakuola kontraktil. Vakuola makanan berfungsi untuk mencerna makanan secara intraseluler sedangkan vakuola kontraktil berfungsi untuk menjaga tekanan osmotik sel (osmoregulator).

2.3.11 Peroksisom

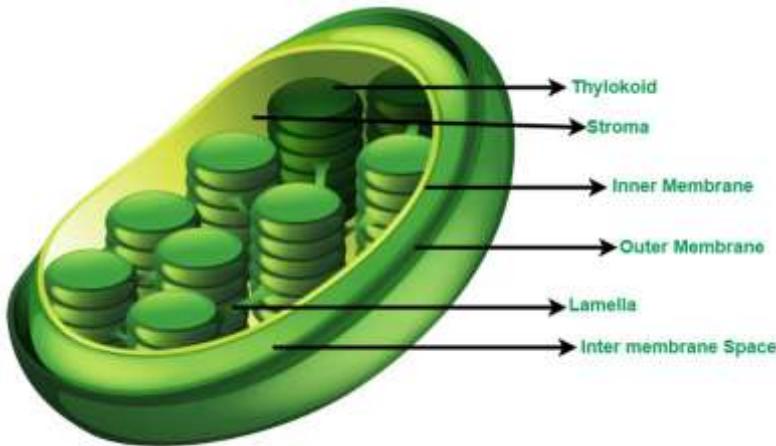
Peroxisom disebut juga sebagai badan mikro karena ukurannya yang kecil. Meskipun berukuran kecil namun fungsi peroksisom sangat penting. Ketika cahaya matahari yang diterima oleh tumbuhan berlebih maka akan terjadi fotorespirasi, yaitu respirasi tumbuhan yang dipicu oleh cahaya. Aktivitas fotorespirasi dilakukan oleh peroksisom dan mitokondria, dengan demikian tumbuhan terhindar dari kerusakan akibat cahaya matahari berlebih. Selain itu peroksisom juga mampu menguraikan racun peroksidida menjadi H_2O dan O_2 .

2.3.12 Plastida

Plastida merupakan organel yang bermembran ganda yang ditemukan pada sel tumbuhan dan alga.

Jenis plastida yaitu :

1. Kloroplas, plastid yang mengandung pigmen yang berwarna hijau (klorofil) dan berfungsi untuk fotosintesis. Banyak ditemukan pada daun dan batang tumbuhan lumut, paku, dan tumbuhan tingkat tinggi. Plastida terdiri atas membran dalam, membran luar, tilakoid dan stroma (Gambar 3). Tilakoid berasal dari pelipatan membran dalam kloroplas dan membentuk lempengan pipih menyerupai cakram. Fungsi tilakoid adalah sebagai tempat berlangsungnya reaksi terang fotosintesis. Tilakoid mampu menangkap energi cahaya matahari dan mengubahnya menjadi energi kimia dengan bantuan klorofil. Stroma merupakan cairan yang terdapat di dalam kloroplas yang mengelilingi grana. Stroma berfungsi sebagai tempat terjadinya reaksi gelap/siklus calvin. Reaksi gelap pada fotosintesis tidak memerlukan energi cahaya matahari namun memerlukan enzim rubisco untuk menghasilkan karbohidrat.,



Gambar 2.5. Plastida pada tumbuhan.

<https://media.geeksforgeeks.org/wp-content/uploads/20220527144221/plastid1.jpg>

2. Kromoplas, pigmen yang berwarna selain hijau. Contoh kromoplas adalah sebagai berikut:
 - a. Karoten (warna merah kekuningan). Ditemukan pada wortel
 - b. Xanthofil (warna coklat/kuning). Ditemukan pada bunga dan buah
 - c. Likopen (warna merah). Ditemukan pada tomat
3. Leukoplas, tidak mengandung pimen sehingga tidak terlibat dalam fotosintesis. Fungsi utama leukoplas adalah sebagai tempat menyimpan cadangan makanan pada tumbuhan. Jenis leukoplas meliputi :
 - a. Amiloplas, menyimpan cadangan makanan berupa pati. Ditemukan pada empulur batang, biji dan umbi
 - b. Elaioplas, untuk menyimpan cadangan makanan berupa lemak. Ditemukan pada biji

- c. Proteoplas, untuk menyimpan cadangan makanan berupa protein. Ditemukan pada biji.

2.3.13 Sentriol

Sentriol ditemukan hanya pada sel hewan dan berjumlah sepasang. Dalam pembelahan sel, sentriol akan menghasilkan benang spindel (benang-benang sitoplasmik) yang nantinya menarik kromosom ke kutub yang berbeda sehingga memicu pembelahan sitoplasma.

2.4 Penggolongan sel

Berdasarkan ada tidaknya membran inti, sel dibedakan menjadi 2 yaitu sel prokariotik dan sel eukariotik.

2.4.1 Sel prokariotik

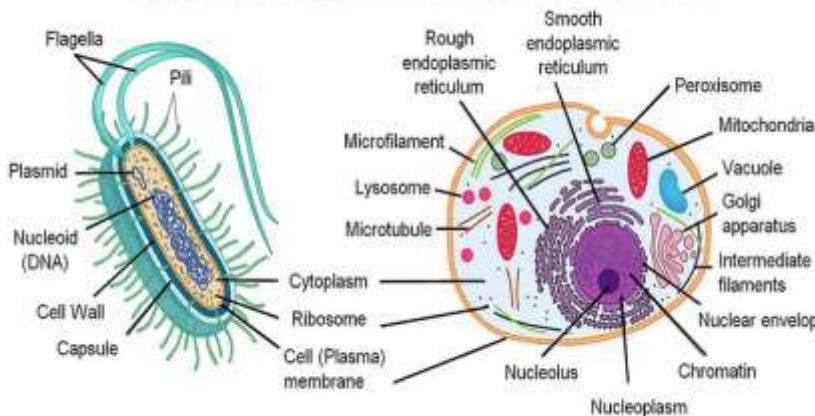
Sel prokariotik adalah sel yang belum memiliki membran inti, sehingga DNA terkonsentrasi pada nukleoid. Organel pada sel prokariotik masih sederhana dibandingkan sel eukariotik dengan ukuran sel yang lebih kecil (diameter 0,7-2 μm). Jenis organel yang umum ditemukan pada sel prokariotik adalah dinding sel, membran sel, sitoplasma, nukleoid, ribosom, flagel dan pili.

1. Flagel, merupakan organel sel yang tersusun atas protein, bentuknya panjang menyerupai cambuk dan melekat pada dinding sel. Fungsi flagel adalah mendukung motilitas sel
2. Kapsul, merupakan selaput lendir yang melapisi dinding sel. Fungsi kapsul adalah melindungi sel dari stress lingkungan dan juga sebagai faktor virulensi. Hanya beberapa organisme prokariotik yang memiliki kapsul.
3. Pili, merupakan rambut-rambut halus yang terdapat pada permukaan dinding sel. Struktur pili menyerupai flagel, namun ukurannya lebih pendek. Fungsi pili adalah untuk melekat pada substrat (adhesi) dan untuk reproduksi (konyugasi).

4. Plasmid, merupakan DNA ekstrakromosomal yang ditemukan pada bakteri. Meskipun berada di luar kromosom dan memiliki sedikit DNA, namun plasmid dapat bereplikasi sendiri sehingga banyak dimanfaatkan sebagai vector dalam rekombinasi DNA. Secara umum

Contoh organisme prokariotik adalah bakteri, archaebacteria, protozoa, beberapa jenis fungi dan alga.

EUKARYOTES Vs PROKARYOTES



Gambar 2.6. Perbedaan struktur sel eukariotik dengan sel prokariotik

Sumber : <https://www.teachoo.com/10005/3010/NCERT-Question-6/category/NCERT-Questions/>

Dalam kehidupan manusia, sel prokariotik memiliki peranan yang menguntungkan dan merugikan. Contoh sel prokariotik yang menguntungkan adalah bakteri. Kelebihan bakteri adalah mampu menghasilkan produk dari bahan makanan yang sederhana yang bernilai gizi tinggi. Contohnya adalah susu yang difermentasi menjadi yogurt dan kedelai yang difermentasi

menjadi tempe. Selain itu bakteri juga menghasilkan obat-obatan seperti antibiotik, antikanker, antidiabetes dan antiimalaria. Dalam bidang pertanian, bakteri mampu mengolah limbah organic menjadi kompos (Adriani, 2013; Taskirah, 2017; Winarsih et al., 2022; Adriani dkk, 2023). Kerugian bakteri adalah yaitu menyebabkan penyakit dan kontaminasi yang menyebabkan kerusakan pada bahan pangan (Adriani, 2014).

2.4.2 Sel eukariotik

Sel eukariotik adalah sel dengan membran inti yang jelas. Adanya membran inti menyebabkan DNA tersimpan di dalam nukleus. Sel eukariotik memiliki organel yang lebih kompleks dengan ukuran yang lebih besar dibandingkan sel prokariotik. Salah satu organel yang dimiliki oleh sel prokariotik dan eukariotik adalah ribosom. Meskipun fungsinya sama namun ternyata strukturnya berbeda. Ribosom pada sel prokariotik termasuk ukuran 70S sedangkan pada sel eukariotik ukuran ribosomnya adalah 80S. Perbedaan ukuran ribosom menunjukkan fungsi yang lebih kompleks pada sel eukariotik dibandingkan sel prokariotik. Selain itu beberapa organel sel eukariotik memiliki DNA, seperti nukleus, mitokondria dan plastida. Pada sel prokariotik, DNA hanya ditemukan pada nukleoid dan plasmid. Contoh organisme eukariotik adalah jamur, hewan dan tumbuhan. Perbedaan antara sel prokariotik dengan sel eukariotik dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1. Perbedaan antara sel prokariotik dan sel eukariotik

Pembeda	Prokariotik	Eukariotik
Jenis sel	Uniseluler	Multiseluler
Ukuran sel	1-10 μm	10-100 μm
Membran inti	Tidak ada	Ada
Kromosom	Tunggal	Banyak
Bentuk DNA	Sirkuler	DNA untai ganda
Mitokondria	Tidak ada	Ada
Jenis ribosom	70S	80S
Mesosom	Ada	Tidak ada
Retikulum endoplasma	Tidak ada	Ada
Badan golgi	Tidak ada	Ada
Vakuola	Tidak ada	Ada
Sitoskeleton	Tidak ada	Ada
Lisosom	Tidak ada	Ada
Kloroplas	Tidak ada	Ada
Sentriol	Tidak ada	Ada
Nukleolus	Ada	Tidak ada
Reproduksi	Pembelahan secara amitosis	Pembelahan secara mitosis/meiosis

Sumber : Wiwik dkk, 2022; Cicilia, 2023

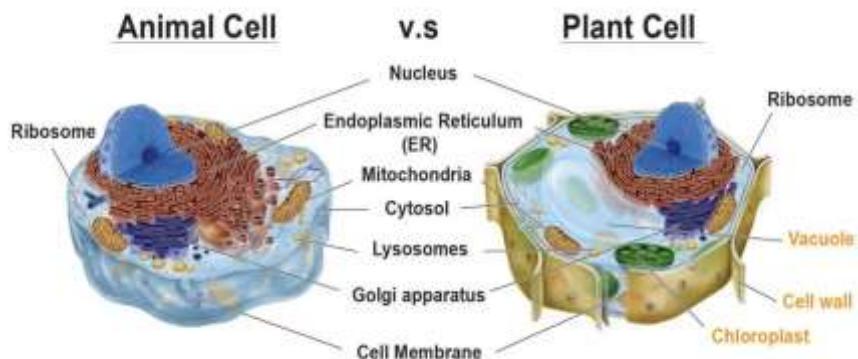
2.5 Sel hewan dan sel tumbuhan

Sel hewan dan sel tumbuhan berbeda baik secara tempat maupun struktur penyusun selnya. Berdasarkan tempat sudah sangat jelas, sel hewan ditemukan pada hewan sedangkan sel tumbuhan terdapat pada tanaman. Perbedaan lainnya adalah dari segi komponen penyusun selnya. Beberapa organel ada yang ditemukan pada sel tumbuhan namun tidak ditemukan pada sel

hewan. Organel tersebut adalah dinding sel, dan kloroplas (Gambar 4).

Keberadaan kloroplas pada tanaman sangatlah penting, karena digunakan untuk mensintesis makanan. Dalam hal ini organisme yang memiliki kloroplas disebut sebagai organisme autotroph (*auto* = sendiri; *trof* = makanan) yaitu organisme yang mampu membuat makanannya sendiri. Organisme yang tidak memiliki kloroplas dan tidak mampu membuat makanannya sendiri dinamakan organisme heterotroph. Contohnya adalah hewan.

Vakuola ditemukan pada sel hewan namun jumlahnya ada beberapa dan ukurannya kecil. Berbeda dengan sel tumbuhan, yang memiliki satu vakuola namun ukurannya besar (hampir memenuhi 90% volume sel tanaman). Vakuola pada tanaman berfungsi sebagai tempat penyimpanan makanan dan mempertahankan tekanan turgor sel, sebagaimana yang telah dijelaskan sebelumnya.



Gambar 2.7. Perbedaan antara sel hewan dengan sel tumbuhan

Sumber : <https://rsscience.com/wp-content/uploads/2020/08/Animal-cell-vs-plant-cell-organelle-comparison-orange-1024x428.jpg?ezimgfmt=ng:webp/ngcb1>

Tabel 2.2. Perbedaan antara sel hewan dan sel tumbuhan

Pembeda	Sel hewan	Sel tumbuhan
Dinding sel	Tidak ada	Ada
Bentuk	Bentuk tidak tetap	Bentuk tetap
Vakuola	1 atau lebih vakuola yang kecil	1 vakuola yang besar
Sentriol	Ada	Ada pada tumbuhan tingkat rendah, contoh <i>Chlamydomonas sp</i>
Kloroplas	Tidak ada	Ada
Plastida	Tidak ada	Ada
Silia	Ada	Tidak ada
Letak nukleus	Tengah sel	Tepi sel

DAFTAR PUSTAKA

- Adriani, Yessika. F. T. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Actinomycetes Sebagai Penghasil Antibiotik Dari Sampel Tanah Pada Peternakan Sapi di Kecamatan Galesong Kabupaten Takalar. *Biogenesis* Vol.1 No.2
- Adriani, A. 2014. Identifikasi Keberadaan *Staphylococcus sp* Pada Santan Kelapa Kemasan Yang Di Perdagangkan Di Kota Makassar. *Jurnal Biotek*, 1(1), 31-34.
- Adriani, A., Pratiwi, E. R., Samsi, A. N., Muthmainnah, M., & Dagonala, U. 2023. Edukasi Kesehatan: Pemanfaatan Bakteri Dalam Berbagai Aspek Kehidupan. *Setawar Abdimas*, 2(1), 28-33.
- Adrianto, H. 2018. *Buku Ajar Biologi Sel dan Molekuler*. Deepublish, Sleman, Yogyakarta
- Akmalia, H. A., & Pranatami, D. A. 2021. *Biologi Umum untuk Mahasiswa*. Alinea Media Dipantara.
- Akmalia, H.A., dkk. 2020. Biologi Sel, Alinea Media Dipantara, Semarang.
- Atmaji, Y. 2019. *Ketakjuban Sebutir Sel*. CV Kekata Group. Surakarta, Jawa Tengah
- Cicilia, A., 2023. Biologi Radiasi. Deepublish, Yogyakarta
- Fried, G. H., & Hademenos, G. J. 2013. *Schaum's Outline of Biology*. McGraw-Hill Education.
- Irawan, B. 2021. *Genetika Molekuler-Edisi 2*. Airlangga University Press.
- Sun, H., Lei, W., Baoqin, Z., Junhong, M., Christian, H., Guoyan,C, Guiling, S., Jiangqiang W., dan Jinsong, W., 2014. Scopoletin Is a Phytoalexin Agants *Alternaria alternate* In Wild Tobacco Dependent On Jasmonate Signalling. *Journal of Experimental Botany*. 65(15); 4305-4315

- Taskirah, A. 2017. Pemanfaatan Bakteri Selulolitik Dan Bakteri Penambat Nitrogen Untuk Dekomposisi Limbah Pertanian. *Jurnal Ilmiah Pena: Sains dan Ilmu Pendidikan*, 6(1), 17-23.
- Wang X., Junjie L., Jing G., Qian Q., Xinfeng G., Yan M., 2017. The WRKY Transcription Factor PIWRKY65 Enhances The Resistance of *Paeonia lactiflora* (Herbaceous peony) to *Alternaria tenuissima*. *Horticulture Research* 7:57. 1-12
- Winarsih, S., Noorhamdani, N., Ardyati, T., & Adriani, A. (2022, November). Isolation and screening endophytic bacteria producing α -glucosidase inhibitor from Sanrego plant (*Lunasia amara* Blanco). In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 2513, No. 1, p. 020015). AIP Publishing LLC.

BAB 3

ENZIM DAN KINETIKA ENZIM

Oleh Afika Herma Wardani

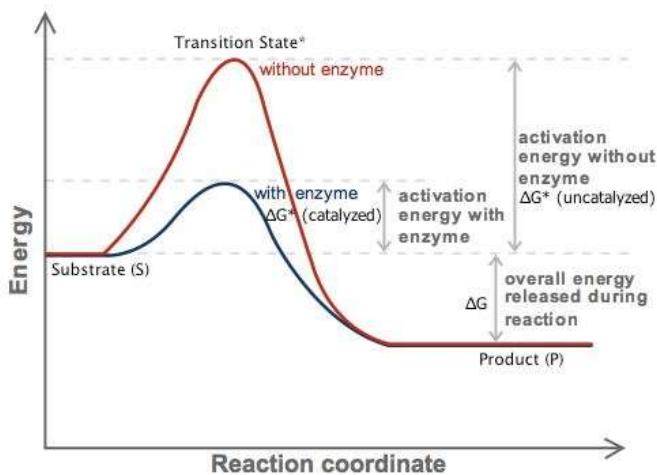
3.1 Pendahuluan

Enzim merupakan komponen penting dalam kehidupan. Proses metabolisme dalam tubuh organisme tidak bisa terlepas dari peran enzim. Sebagai contoh, setiap makanan berbahan karbohidrat memerlukan pemecahan baik secara fisik maupun kimiawi dalam proses pencernaan. Pemecahan kimiawi melibatkan peran enzim, misalnya dalam hal ini karbohidrat, akan membutuhkan enzim amilase pada awal pemecahan. Semua aktivitas seluler melibatkan enzim. Kajian biologi molekular tidak terlepas dari enzim.

Enzim adalah biokatalisator. Hampir semua enzim adalah protein. Enzim bekerja dengan mempercepat reaksi kimia di dalam tubuh dengan cara menurunkan energi aktivasi serta tidak mengubah kesetimbangan reaksi. Semua reaksi kimia dalam sistem biologi memiliki penghalang energi yang mencegah terjadinya reaksi spontan. Sehingga masukan energi diperlukan untuk memulai reaksi. Misalnya, campuran hidrogen dan oksigen tidak akan bereaksi satu sama lain sampai mereka menerima energi yang cukup dari sumber panas untuk mencapai energi aktivasi. Energi aktivasi adalah energi untuk memulai reaksi. Jika dikatalis oleh enzim, energi aktivasi yang dibutuhkan rendah. Sebaliknya jika tidak ada enzim, energi aktivasi yang diperlukan tinggi, reaksi akan menjadi lambat atau bahkan tidak terjadi (gambar 1). Reaksi kimia yang terjadi pada organisme hidup juga membutuhkan energi aktivasi. Dalam sistem biologis, enzim merupakan komponen penting yang meningkatkan reaksi kimia dengan

menurunkan energi aktivasi dan membantu terjadinya reaksi pada tingkat yang sesuai dengan kebutuhan sel. Enzim bergabung dengan substrat sedemikian rupa kemudian mengurangi jumlah energi yang dibutuhkan untuk sebuah reaksi. Mekanisme aksi enzim dijelaskan melalui persamaan **Michaelis-Menten**. Enzim (E) bekerja pada substrat (S) yang akan membentuk kompleks Enzim-Substrat (ES), lalu akan dihasilkan produk (P) (Gambar 2). Enzim juga bekerja secara spesifik. Enzim hanya bekerja pada substrat yang sesuai. Substrat yang berbeda dikatalisis oleh enzim yang berbeda pula.

Di dalam bab ini, anda juga akan mempelajari tata nama dan klasifikasi enzim, komponen enzim, mekanisme kerja enzim, beberapa faktor-faktor yang dapat mempengaruhi kerja enzim, dan terakhir kinetika enzim.



Gambar 3.1. Penurunan energi aktivasi karena enzim
(Sumber: LibreTexts Biology, 2019)

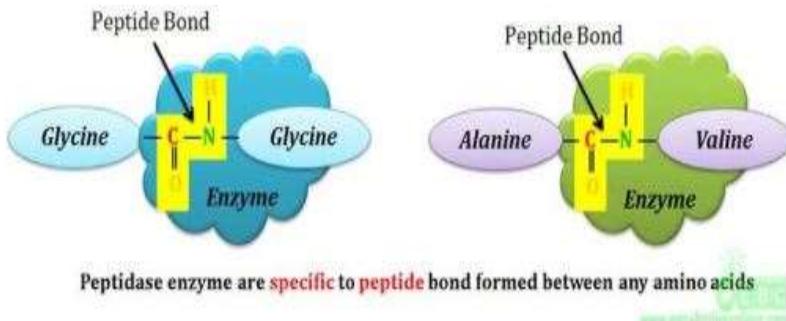


Gambar 3.2. Reaksi enzim-substrat

3.2 Kespesifikasi Enzim

3.2.1 Kespesifikasi Ikatan

Kerja enzim pada substratnya memiliki kespesifikasi ikatan. Artinya, enzim spesifik untuk substrat yang memiliki ikatan dan struktur serupa, misalnya spesifik untuk jenis ikatan peptida, ikatan glikosidik. Contohnya, enzim α -amilase menghidrolisis α -1,4 glikosidik pada pati. Contoh lainnya, enzim lipase menghidrolisis ikatan ester antara glicerol dan asam lemak (gambar 3).



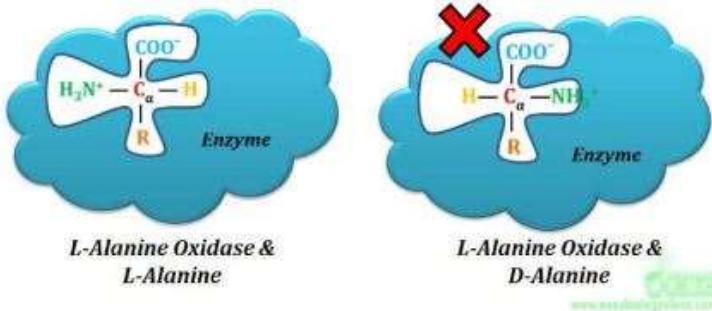
Gambar 3.3. Kespesifikasi ikatan: enzim peptidase spesifik untuk ikatan peptida di antara asam amino

(Sumber: <https://www.easybiologyclass.com/enzyme-substrate-specificity-types-classification/>)

3.2.2 Kespesifikasi Optik

Enzim spesifik untuk konfigurasi optiknya. Contohnya, oksidase asam amino-L hanya bekerja pada asam amino L (gambar 4), sedangkan oksidase asam amino-D hanya bekerja pada sam amino D. Begitu juga pada enzim amilase, α -glikosidik pati dan glikogen hanya dihidrolisis oleh α -glikosidase (α -amilase). Ikatan β -

glikosidik dari selulosa hanya dihidrolisis oleh β -glikosidase (β -amilase).



Gambar 3.4. Kespesifikasi optic: Oksidase asam amino -L hanya bekerja pada asam amino L.

(Sumber: <https://www.easybiologyclass.com/enzyme-substrate-specificity-types-classification/>)

3.2.3 Kespesifikasi Gugus

Enzim spesifik untuk ikatan dan gugus yang mengelilingi ikatan. Contoh, enzim pepsin menghidrolisis ikatan peptide dimana gugus amino disumbangkan oleh asam amino aromatic seperti fenilalanin, tirosin, dan triptofan (Gambar 3.5). Enzim tripsin menghirolisis ikatan peptide yang disumbangkan oleh gugus amino basa apa saja, seperti arginin, lisin, dan histidine.



Gambar 3.5. Lokasi pemotongan enzim pepsin pada ikatan peptide dengan asam amino aromatic (fenilalanin, tirosin, dan triptofan)

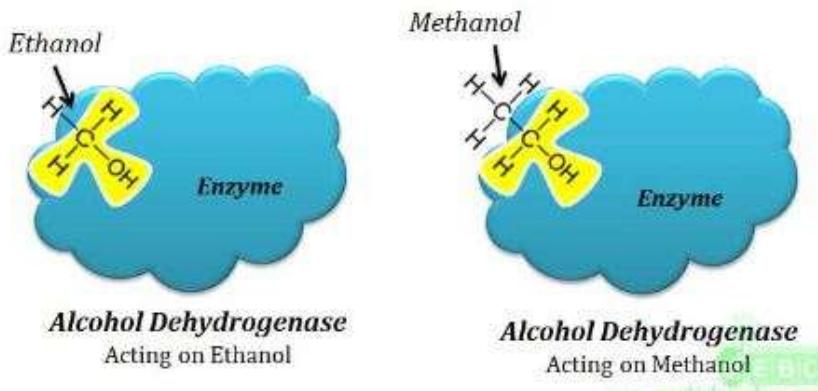
(Sumber: <https://www.easybiologyclass.com/enzyme-substrate-specificity-types-classification/>)

3.2.4 Kespesifikasi Substrat

Kerja enzim juga spesifik untuk satu substrat dan satu reaksi. Contohnya, enzim laktase hanya menghidrolisis ikatan β -1,4 glikosidik laktosa untuk menghasilkan galaktosa dan glukosa.

3.2.5 Kespesifikasi Geometri

Enzim tunggal dapat bekerja pada substrat berbeda yang memiliki geometri molekul serupa, sehingga spesifitas sangat kurang. Contohnya, enzim alcohol dehydrogenase dapat mengoksidasi etanol dan methanol untuk menghasilkan aldehida yang sesuai karena kedua alcohol ini memiliki geometri molekul yang serupa.



Gambar 3.6. Kespesifikasi geometri: enzim dehydrogenase dapat (sumber : <https://www.easyybiologyclass.com/enzyme-substrate-specificity-types-classification/>)

3.2.6 Kespesifikasi Kofaktor

Enzim memiliki kofaktor yang spesifik. Kofaktor adalah bagian non-protein dari enzim. Hanya kombinasi enzim dan kofaktor yang tepat yang memungkinkan terjadinya reaksi enzimatis.

3.3 Tata Nama dan Klasifikasi Enim

Enzim umumnya memiliki dua nama, nama umum dengan akhiran -ase yang merupakan penamaan tradisional dan nama sistematis. Nama umum enzim dengan akhiran -ase menggambarkan substrat dan jenis reaksi yang dikatalisisnya, misalnya enzim protease menghidrolisis protein, enzim dehydrogenase menghilangkan atom hydrogen. Jika diperlukan, pemakaian alfanumerik ditambahkan untuk mengidentifikasi beberapa bentuk enzim, misalnya enzim RNA polymerase III. Nama enzim umum ini masih sering digunakan karena lebih singkat. Karena semakin banyak ditemukan jenis enzim baru maka penggolongan enzim secara sistematis telah disepakati secara internasional. Sistem nomenklatur enzim ini membuat setiap enzim memiliki nama unik dan nomor kode yang mengidentifikasi jenis reaksi yang dikatalisis dan substrat yang terlibat. Penamaan sistematis mengklasifikasikan enzim menjadi 6 kelas, berdasarkan atas jenis reaksi yang dikatalisisnya dengan masing-masing subkelas (tabel 3.1). Penamaan enzim disepakati menurut system IUB (*International Union of Biochemistry*).

Tabel 3.1. Klasifikasi enam kelas enzim dan tipe reaksinya

No	Kelas Enzim	Tipe Reaksi yang Dikatalisis	Contoh
1	Oksidoreduktase	Reaksi oksidasi-reduksi	Alkohol dehydrogenase
2	Transferase	Transfer gugus fungsi C-, N-, P-	Serin hidroksimet yil transferase
3	Hydrolase	Reaksi hidrolisis	Tripsin, urease
4.	Liase	Penambahan	Piruvat

No	Kelas Enzim	Tipe Reaksi yang Dikatalisis	Contoh
		gugus ke ikatan rangkap atau pemutusan ikatan rangkap	dekarboksilase
5	Isomerase	Pemindahan gugus dalam molekul itu sendiri untuk menghasilkan isomer	Methylmalonyl CoA mutase
6	Ligase	Pembentukan ikatan dengan hidrolisis ATP	Piruvat karboksilase

(Sumber: Harvey R. A & Ferrier D.R., 2011)

Masing-masing enzim dikelompokkan ke dalam kelas lalu diberikan suatu nama yang sistematis. Nama sistematis ini mengindektifikasi reaksi yang dikatalisis. Contohnya pada enzim yang mengkatalisis reaksi di bawah ini :



Nama sistemika enzim ini fosfotransferase-ATP: glukosa. Menggambarkan bahwa enzim ini mengkatalisis pemindahan fosfat dari ATP ke glukosa. Enzim ini ada di kelas 2 pada table 1 di atas. Nomor klasifikasi enzim ini adalah 2.7.1.1. Bilangan pertama yaitu (2) merupakan nama kelas (transferase). Bilangan kedua (7) adalah subkelas (fosfotransferase). Bilangan ketiga (1) bagi sub-sub kelas (fosfotransferase dengan gugus hidroksil sebagai penerima). Bilangan keempat (1) adalah bagi D-glukosa sebagai

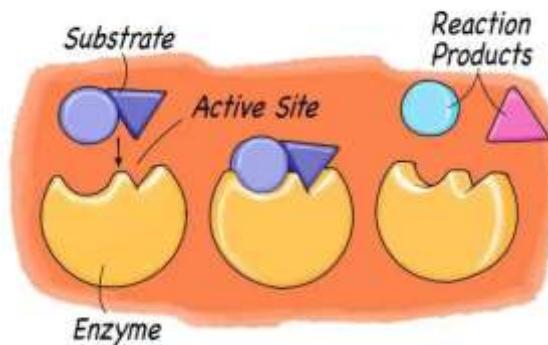
penerima gugus fosfat. Nama biasa dari enzim ini adalah heksokinase (Murray R. K et al., 2009).

3.4 Komponen Enzim

Komponen enzim terdiri dari (1) **Apoenzim**, adalah bagian enzim aktif yang terdiri protein yang labil terhadap faktor lingkungan; (2) **kofaktor**, adalah komponen bukan protein berupa: a) **ion-ion anorganik (activator)** merupakan logam yang berikatan lemah dengan enzim, misalnya Fe, Ca, Mn, Zn, K, Co ; b) **gugus prostetik** merupakan senyawa organik yang berikatan kuat dengan enzim, contoh: FAD (Flavin Adenin Dinucleotide), biotin, dan heme ; c) **Koenzim**, merupakan molekul organik non protein kompleks, yang berfungsi dalam memindahkan gugus kimia, atom, atau electron dari satu enzim ke enzim lain. Contoh NAD, Koenzim-A, Vitamin. Enzim yang terikat dengan kofaktor dinamakan **holoenzim** (enzim lengkap) (Gambar 3.7).

3.5 Mekanisme Kerja Enzim

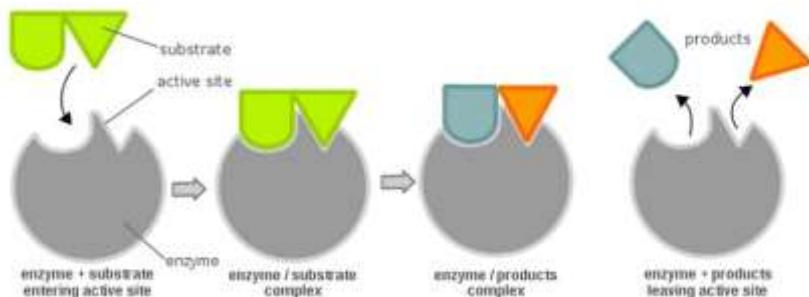
Secara umum mekanisme kerja enzim terjadi melalui pembentukan kompleks enzim-substrat, kemudian produk terbentuk dan enzim menjadi bebas, selanjutnya bereaksi kembali dengan substrat. Bagian enzim sendiri memiliki sisi katalitik/sisi aktif, yaitu tempat berikatannya substrat. Sisi katalitik berbentuk tiga dimensi, berupa lekukan pada permukaan protein enzim (gambar 3.7). Substrat berikatan dengan sisi aktif suatu enzim melalui beberapa bentuk ikatan kimia yang lemah. Terdapat dua teori mekanisme kerja enzim, *lock and key* (kunci gembok) dan *induced fit* (kecocokan induksi).



Gambar 3.7. Komponen enzim
(Sumber : Lohner S., 2016).

3.5.1 Teori Lock and Key

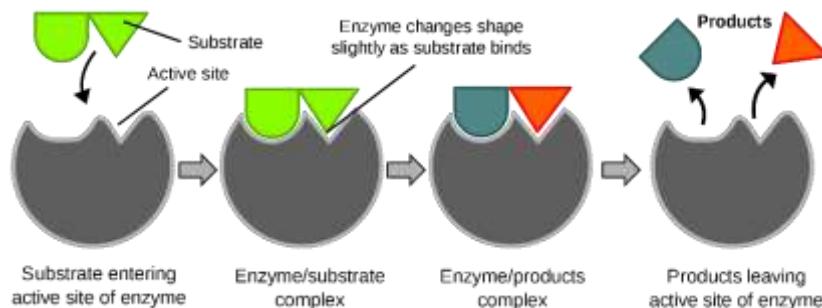
Berdasarkan teori *lock and key*, terjadinya reaksi antara substrat dan enzim disebabkan adanya kesesuaian bentuk ruang diantara substrat dengan sisi aktif (*active site*) enzim (gambar 3.8). Dalam hal ini, sisi aktif enzim kaku.



Gambar 3.8. Teori mekanisme kerja enzim *lock and key*
(Sumber: Patterson R & Ambramson J., 2021)

3.5.1 Teori Kecocokan Induksi

Berdasarkan teori kecocokan induksi, reaksi antara enzim dengan substrat terjadi karena induksi substrat terhadap sisi aktif enzim. Keduanya merupakan struktur yang komplemen (gambar 3.9). Dalam hal ini, sisi aktif enzim lebih fleksibel.



Gambar 3.9. Teori mekanisme kerja enzim kecocokan induksi
(Sumber: Patterson R & Ambramson J., 2021)

3.6 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Kerja Enzim

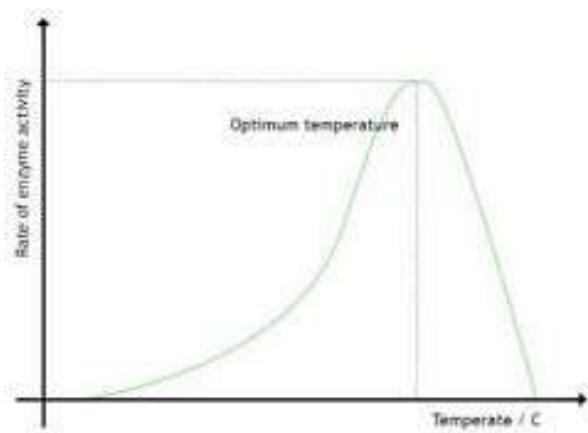
1. pH

Kerja enzim sangat dipengaruhi oleh pH. pH ekstrem, sangat tinggi atau sangat rendah, akan menyebbakan aktivitas enzim hilang. Enzim dapat mengalami denaturasi sehingga enzim maupun substrat dapat mengalami perubahan muatan listrik sebagai akibat dari perubahan aktivitas enzim. Setiap enzim memiliki pH optimum sendiri. Untuk Sebagian besar enzim di dalam tubuh akan menunjukkan aktivitas optimum antara pH 5,0-9,0.

2. Suhu

Mengingat sebagian besar enzim merupakan protein, aktivitas enzim dipengaruhi oleh suhu. Pada suhu rendah mendekati titik beku umumnya enim tidak rusak. Pada suhu saat enzim masih aktif, kenaikan suhu sebanyak 10°C, menyebabkan

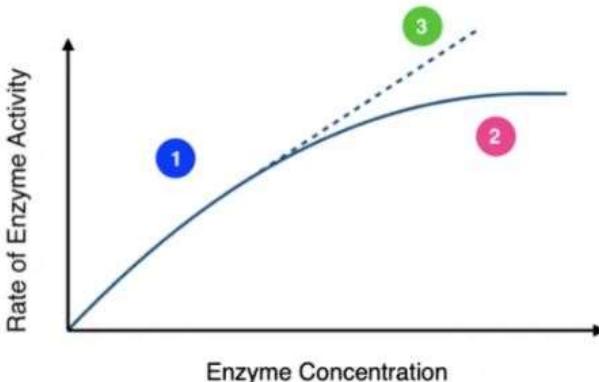
keaktifan enzim menjadi 2 kali lebih besar ($Q_{10}=2$). Pada suhu optimum reaksi akan berlangsung paling cepat (Gambar 10). Jika suhu dinaikkan terus, jumlah enzim yang aktif akan berkurang karena disebabkan oleh denaturasi. Enzim di dalam tubuh manusia memiliki suhu optimum sekitar 37°C .



Gambar 3.10. Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim
(Sumber: <https://studymind.co.uk/notes/enzymes-rates-of-reaction/>)

3. Konsentrasi Enzim

Kecepatan reaksi enzim (V) berbanding lurus dengan konsentrasi enzim (Enz). Jika konsentrasi enzim semakin tinggi maka reaksi semakin cepat pula. Jika konsentrasi substrat tetap, maka penambahan konsentrasi enzim tidak akan mempercepat reaksi karena substrat sudah jenuh dengan enzim.

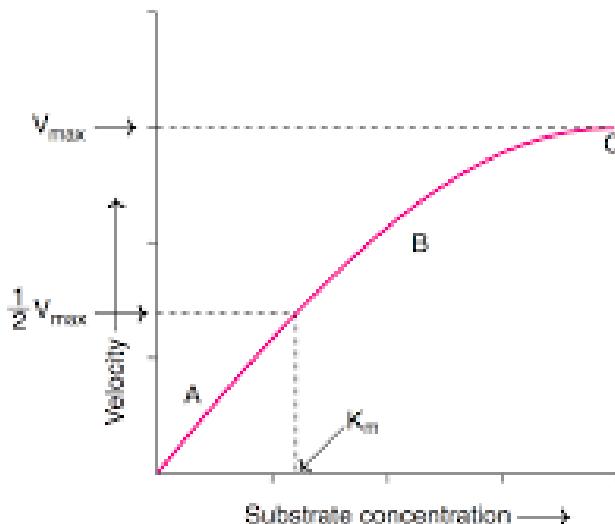


Gambar 3.11. Pengaruh konsentrasi enzim terhadap aktivitas enzim

(sumber : <https://studymind.co.uk/notes/enzymes-rates-of-reaction/>)

4. Konsentrasi Substrat

Jika konsentrasi substrat (S) bertambah, sementara keadaan lainnya tetap sama, maka kecepatan reaksi juga akan meningkat hingga suatu batas maksimum V . Pada titik maksimum, enzim sudah jenuh terhadap substrat. Pada titik-titik A dan B menunjukkan belum semua enzim bereaksi dengan substrat, sehingga pada A dan B penambahan substrat S mengakibatkan jumlah $EnzS$ bertambah lalu kecepatan reaksi v bertambah, sesuai dengan penambahan S . Pada titik C menunjukkan semua enzim telah bereaksi dengan substrat, maka penambahan S tidak akan menambah kecepatan reaksi, karena tidak ada lagi enzim bebas (Gambar 12). Pada titik B kecepatan reaksi tepat setengah kecepatan maksimum. Konsentrasi substrat yang menghasilkan setengah kecepatan maksimum disebut dengan harga K_m (konstanta Michaelis).



Gambar 3.12. Pengaruh konsentrasi substrat terhadap aktivitas enzim

(Sumber:

<https://biology.stackexchange.com/questions/62642/understanding-enzyme-saturation-curve>)

5. Inhibitor

Inhibitor adalah zat yang dapat menghambat aktivitas enzim. Inhibisi enzim merupakan proses dimana reaksi enzim dan substrat terhenti. Secara keseluruhan ada dua jenis inhibitor yaitu *reversible* inhibitor dan *irreversible* inhibitor. *Reversible* inhibitor dapat kembali semula. Ada empat jenis reversible inhibitor,

a. Inhibitor kompetitif

Inhibitor kompetitif mengikat pada sisi aktif enzim. Inhibitor ini hanya dapat mengikat pada enzim bebas. Inhibitor ini juga berebut sisi aktif dengan substrat, sehingga mengurangi jumlah enzim yang akan

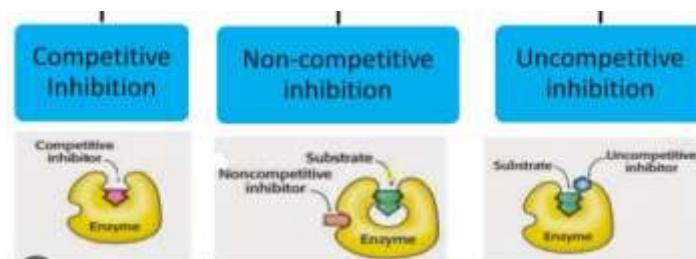
bergabung dengan substrat. Inhibitor ini tidak menganggu kecepatan pemecahan ES kompleks menjadi produk serta dapat diatasi dengan penambahan substrat (Gambar 3.13).

b. Inhibitor unkompetitif

Inhibitor unkompetitif mengikat enzim-substrat kompleks, tidak dapat mengikat enzim bebas. Inhibitor ini menganggu kecepatan pemecahan kompleks Enzim-Substrat menjadi produk (Gambar 3.13). Jika ada penambahan substrat mempertinggi penghambatan.

c. Inhibitor nonkompetitif

Inhibitor nonkompetitif mengikat sisi lain selain sisi aktif. Inhibitor ini dapat mengikat baik enzim-substrat kompleks maupun enzim bebas (Gambar 3.13).



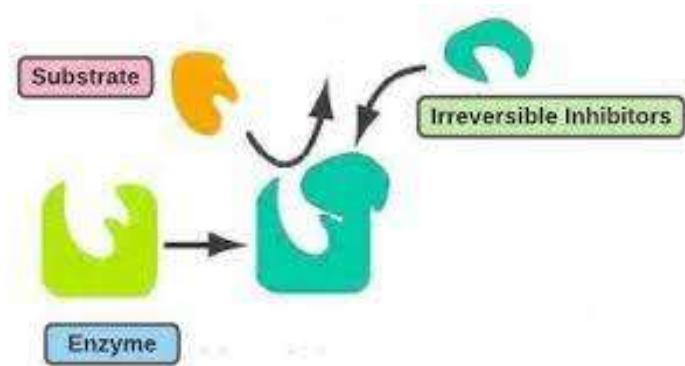
Gambar 3.13. Mekanisme inhibitor enzim
(Sumber:

<https://www.youtube.com/watch?v=MN73RrG0x0U>)

d. Inhibitor campuran

Inhibitor campuran merupakan kombinasi dari berbagai penghambatan di atas.

Irreversible inhibitor mengikat enzim secara permanen sehingga mencegah substrat mengikat pada enzim (Gambar 3.14).

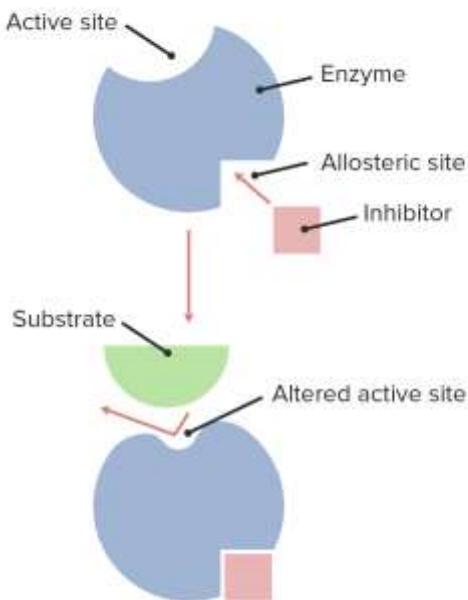


Gambar 3.14. Mekanisme inhibitor irreversible
(Sumber : Sapkota A., 2022)

6. Hambatan alosterik

Hambatan alosterik adalah hambatan yang terjadi pada enzim alosterik. Enzim alosterik merupakan enzim yang memiliki sisi lain selain sisi aktif, yaitu sisi alosterik. Inhibitor yang menghambat enzim alosterik disebut inhibitor alosterik (gambar 3.15). Terbentuknya ikatan antara enzim alosterik dengan inhibitor alosterik akan mempengaruhi enzim, sehingga bagian aktif mengalami perubahan bentuk, sehingga menyebabkan penggabungan substrat pada bagian sisi aktif enzim menjadi terhambat.

Allosteric inhibition



Gambar 3.15. Mekanisme inhibitor allosteric
(Sumber: Oiseth S et al., 2022)

3.7 Kinetika Enzim

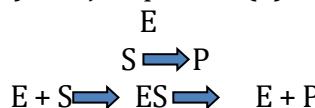
Kinetika enzim didefinisikan kecapatan enzim dalam mengkatalisis suatu reaksi. Meliputi seberapa baik enzim mengenali susbtrat yang berbeda, bagaimana aktivitasnya dipengaruhi oleh senyawa-senyawa lain. Persamaan matematika digunakan untuk mengkuantifikasi katalitik enzim dan afinitas substratnya, dan respon enzim terhadap inhibitor.

Pada reaksi sederhana yang dikatalisis oleh enzim, reaktan disebut substrat (S), hasil reaksi disebut produk (P). Kecepatan reaksi digambarkan oleh kecepatan hilangnya reaktan atau terbentuknya produk terhadap waktu. Selama proses berlangsung,

reaksi kebalikannya mulai berlangsung, terjadi kompetisi hingga kecepatan sama dan ekuilibrium tercapai.

Semakin banyak enzim, semakin cepat reaksi berjalan. Ketika konsentrasi substrat rendah, enzim akan secara cepat mengubah menjadi produk. Penambahan jumlah substrat yang terus berlangsung membuat enzim menjadi jenuh karena jumlah substrat lebih banyak dari jumlah enzim. Pada konsentrasi substrat yang sangat tinggi, aktivitas enzim akan menurun karena telah mencapai nilai optimum.

Kurva kecepatan versus substrat berbentuk hiperbola. Kurva tersebut menunjukkan bahwa enzim berkombinasi dengan substrat membentuk kompleks enzim-substrat (ES), kemudian mengubah substrat (S) menjadi produk (P).



Bentuk kurva yang tepat bergantung pada konsentrasi enzim, konsentrasi inhibitor enzim, pH, dan suhu.

3.7.1 Persamaan Michaelis

Persamaan ini diusulkan oleh Leonor Michaelis dan Maude Menten.



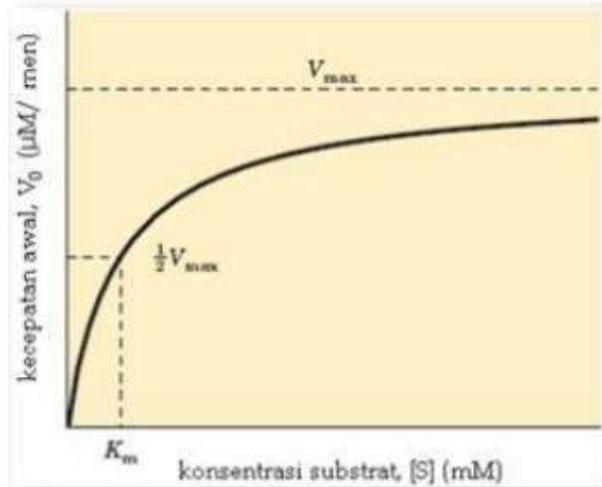
$$V_0 = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

V_0 = Laju/kecepatan awal enzim

V_{\max} = Laju/kecepatan maksimum enzim

K_m = Konstanta Michaelis-Menten (Konsentrasi substrat pada saat kecepatan setengah dari V_{\max})

[S] = Konsentrasi substrat



Gambar 3.16. Grafik kecepatan enzim
(Sumber: <https://openstax.org/books/biology/pages/1-introduction>)

Jika $[S] \ll K_m$, maka V berbanding lurus dengan (S)

Jika $[S] = K_m$, maka $V = \frac{1}{2} V_{max}$

Jika $[S] \gg K_m$, maka $V = V_{max}$

3.7.2 Plot Lineweaver-Burk

Persamaan Michaelis-Menten dari kurva kecepatan versus substrat dapat ditransformasikan menjadi bentuk linier yang dikenal Plot Lineweaver-Burk. Persamaan Lineweaver-Burk mengikuti persamaan garis linier $y=mx+b$, dengan:

X-intercept $-1/K_m$

Y-intercept $1/V_{max}$

Persamaan:

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{max}} \times \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

DAFTAR PUSTAKA

- Harvey Richard A. & Ferrier D. 2011. *Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry Fifth Edition*. Philadelphia:Wolters Kluwer.
- Lohner S. 2016. Exploring Enzymes. Available at <https://www.scientificamerican.com/article/exploring-enzymes/>
- Murray R.K., Bender K. M., Kennelly P.J., Rodwell V.W., & Weil P. A. 2009. *Harper's Illustrated Biochemistry 28th Edition*. New York: Mc Graw Hill.
- Oiseth S., Jones L., and Maza E. 2022. Enzyme Inhibition. Diakses dari <https://www.lecturio.com/concepts/enzyme-inhibition/>
- Patterson Randen & Abramson J. 2021. What is Induced Fit? Diakses dari <https://study.com/learn/lesson/induced-fit-enzyme-model-theory.html>
- Sapkota A. 2022. Enzyme Inhibitors- Competitive, Noncompetitive, End-product inhibition. Diakses dari <https://thebiologynotes.com/enzyme-inhibitors/>

BAB 4

METABOLISME KARBOHIDRAT, GLIKOLISIS, GLIKOGENESIS DAN GLUKONEOGENESIS

Oleh Indra Taufik Sahli

4.1 Pendahuluan

Karbohidrat adalah molekul organik yang paling banyak terdapat di alam. Karbohidrat mempunyai beberapa fungsi diantaranya menyediakan sebagian besar kalori makanan untuk sebagian besar organisme, bertindak sebagai bentuk penyimpanan energi dalam tubuh, dan berfungsi sebagai komponen membran sel yang memediasi beberapa bentuk komunikasi antar sel. Karbohidrat juga berfungsi sebagai komponen struktural banyak organisme, termasuk dinding sel bakteri, kerangka luar banyak serangga, dan selulosa tanaman berserat. Karbohidrat merupakan polihidroksi aldehida atau keton, atau zat yang menghasilkan senyawa tersebut pada proses hidrolisis. Karbohidrat memiliki rumus empiris $(CH_2O)_n$ (Harvey & Ferrier, 2011; Nelson & Cox, 2008).

Karbohidrat diklasifikasikan dalam beberapa golongan yaitu 1). Monosakarida adalah karbohidrat yang tidak dapat dihidrolisis menjadi karbohidrat yang lebih sederhana, contohnya glukosa. 2). Disakarida adalah produk kondensasi dua unit monosakarida, contohnya laktosa, maltosa dan sukrosa. 3). Oligosakarida adalah produk kondensasi tiga sampai sepuluh monosakarida. 4). Polisakarida adalah produk kondensasi lebih dari sepuluh unit monosakarida, contohnya pati dan dekstrin yang

mungkin merupakan polimer linier atau bercabang (Murray, 2012).

4.2 Metabolisme Karbohidrat

Glukosa adalah karbohidrat terpenting, kebanyakan karbohidrat dalam makanan diserap dalam aliran darah sebagai glukosa yang dibentuk melalui hidrolisis pati dan disakarida dalam makanan dan gula lain diubah menjadi glukosa di hati. Glukosa merupakan bahan bakar metabolismik utama pada mamalia (kecuali pemamah biak) dan bahan bakar universal bagi janin (Murray, 2012).

Metabolisme adalah istilah yang digunakan untuk menjelaskan interkonversi senyawa kimia di dalam tubuh. Jalur yang diambil tiap molekul, hubungan antar molekul, dan mekanisme yang mengatur aliran metabolit melalui jalur-jalur metabolisme. Jalur metabolismik digolongkan menjadi tiga kategori yaitu 1). Jalur anabolik yaitu jalur yang berperan dalam sintesis senyawa yang lebih besar dan lebih kompleks dari prekursor yang lebih kecil, misalnya sintesis protein dari asam amino. Jalur anabolik bersifat endotermik. 2). Jalur katabolik yaitu jalur yang berperan dalam penguraian molekul besar, sering melibatkan reaksi oksidatif, jalur ini bersifat eksotermik yang menghasilkan ekivalen pereduksi dan terutama melalui rantai respiratorik yaitu ATP. 3). Jalur amfibolik yaitu jalur yang berlangsung di persimpangan metabolisme, bekerja sebagai penghubung antara jalur katabolik dan anabolik misalnya siklus krebs (Rodwel, 2018).

4.3 Glikolisis

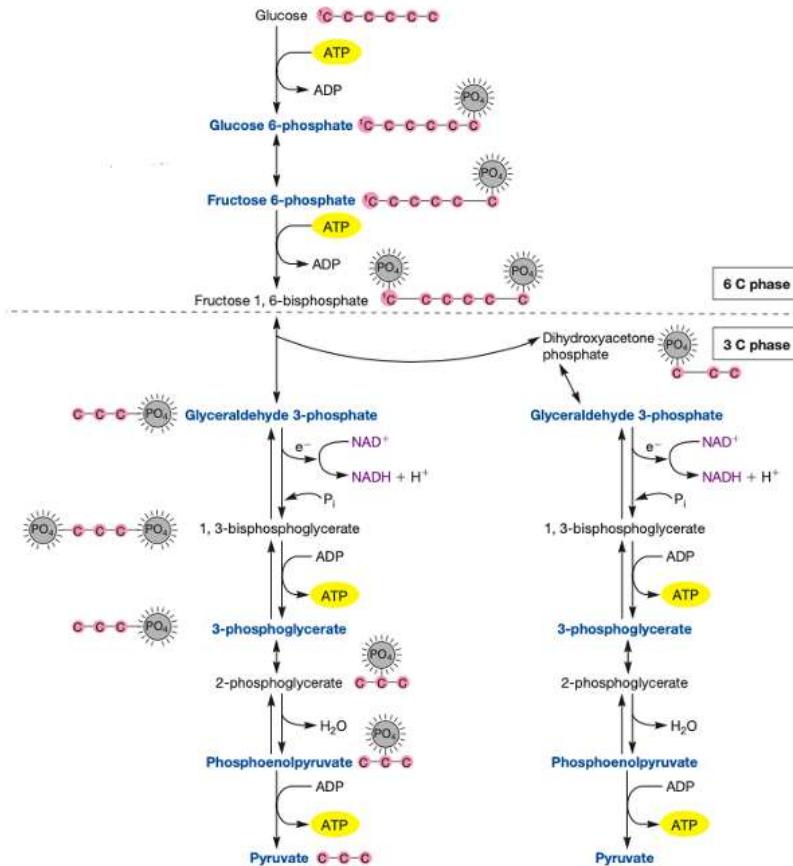
Glikolisis juga disebut jalur Embden Meyerhof adalah jalur metabolisme yang digunakan oleh sebagian besar organisme autotrofik dan heterotrofik, baik aerob maupun anaerob, untuk mulai memecah glukosa. Nama glikolisis secara harfiah berarti

gliko artinya gula sedangkan lisis artinya pemecahan (Black & Black, 2015).

Glikolisis adalah jalur metabolisme dan merupakan sumber energi anaerobik yang digunakan oleh hampir semua jenis organisme. Proses ini memerlukan oksidasi molekul glukosa, satu-satunya bahan bakar organik terpenting pada tumbuhan, mikroba, dan hewan. Sebagian besar sel lebih menyukai glukosa (ada pengecualian, seperti bakteri asam asetat yang lebih menyukai etanol). Dalam glikolisis per molekul glukosa akan menggunakan 2 molekul ATP dan menghasilkan 4 ATP, 2 NADH, dan 2 piruvat. Piruvat dapat digunakan dalam siklus krebs, atau berfungsi sebagai prekursor untuk reaksi lainnya (Chaudhry & Varacallo, 2018).

Langkah – Langkah jalur glikolisis Embden-Meyerhof dalam (Ian, 2012) pada (gambar 4.1) terdiri dari ;

1. Perubahan glukosa menjadi glukosa 6-fosfat (G6-P)
 - a. Reaksi ini dikatalisis oleh enzim heksokinase menggunakan ATP
 - b. Reaksinya bersifat ireversibel dan glukosa terperangkap dengan efisien di dalam sel, karena senyawa antara yang terfosforilasi tidak mudah menembus membrane sel
2. G6-P menjadi fruktosa 6-fosfat (F6-P)
 - a. Reaksi ini dikatalisis oleh fosfoisoglukoisomerase
 - b. Tahap enzimatik ini menyiapkan atom C-1 untuk fosforilasi
 - c. Merupakan reaksi bolak balik, diatur oleh kadar substrat-produk (pengaturan stikiometri)
3. F6-P menjadi fruktosa 1,6-difosfat (F1,6-DP)
 - a. Reaksi ini dikatalisis oleh fosfosruktokinase
 - b. Reaksinya bersifat ireversibel
 - c. Fosfosruktokinase pada Sebagian jaringan merupakan enzim pembatas laju glikolisis. Enzim ini merupakan enzim pengatur utama jalur glikolisis.



Gambar 4.5. Jalur Glikolisis Embden-Meyerhof
Sumber ; (Willey, 2020)

4. F1,6-DP menjadi dihidroksiaseton fosfat (DHAP) dan gliseraldehid 3-fosfat (G3-P).
 - a. Tahap pertama glikolisis (heksosa menjadi triosa fosfat) berakhir pada reaksi ini yang dikatalisis oleh suatu aldolase.

- b. Fruktosa 1,6 difosfat dipecah menjadi dua molekul 3-karbon, salah satunya adalah metabolit prekursor.
 - c. Seluruh atom C glukosa dapat berakhir sebagai piruvat, karena ada keseimbangan antara DHAP dan G3P, dikatalisis oleh triosa fosfat isomerase. Dengan digunakannya G3P untuk reaksi glikolisis lebih lanjut, maka atom C DHAP diubah menjadi G3P.
5. G3-P menjadi 1,3 difosfogliserat (1,3-DPG).
- a. Reaksi ini dikatalisis oleh gliseraldehid 3 fosfat degidrogenase (G3PD), memerlukan nikotinamid adenin dinukleotida (NAD) sebagai pengembangan electron.
 - b. Pada reaksi ini fosforilasi terjadi atas penggunaan fosfat inorganic (P_i) dan merupakan contoh fosforilasi oksidatif tingkat substrat.
6. 1,3-DPG menjadi 3-fosfogliserat (3-PG)
- a. Reaksi ini dikatalisis oleh fosfogliserat kinase
 - b. Reaksi ini merupakan pembentukan ATP pertama kali dalam glikolisis. Ini adalah contoh lain dari fosforilasi oksidasi tingkat substrat.
7. 3-PG menjadi 2-fosfogliserat (2-PG)
- a. Reaksi ini dikatalisis oleh fosfogliserat mutase
 - b. Reaksi ini memerlukan 2,3 difosfogliserat (2,3 DPG) dalam kadar rendah sebagai kofaktor.
 - c. Dalam hampir semua sel 2,3 DPG terdapat dalam kadar yang rendah
 - d. Sebaliknya dalam sel darah merah kadar 2,3 DPG kira-kira 4mM (sama dengan molaritas hemoglobin) dalam sel darah merah, dimana 2,3 DPG bertindak sebagai pengatur transport oksigen, memantapkan bentuk deoksigenasi hemoglobin
8. 2-PG menjadi fosfoenolpiruvat [PEP].
- a. Reaksi ini dikatalisis oleh enolase
 - b. Ikatan fosfoenol adalah ikatan fosfat energi tinggi

9. PEP menjadi piruvat
- Reaksi ini dikatalisis oleh piruvat kinase
 - Pembentukan ATP dari ADP dengan menggunakan ikatan fosfoenol energi tinggi dari PEP merupakan contoh lain dari fosforilasi oksidatif tingkat substrat
 - Terbentuk 2 molekul piruvat per molekul glukosa awal. Jadi ATP yang bersih yang terbentuk per molekul glukosa pada pembentukan piruvat adalah +2 (-2+2+2)

4.4 Reaksi Siklus Kreb

Siklus Krebs diambil dari nama ahli biokimia Jerman Hans Krebs, yang mengidentifikasi langkah-langkahnya pada akhir tahun 1930-an, memetabolisme unit dua karbon yang disebut gugus asetil menjadi CO_2 dan H_2O . Ini juga disebut siklus asam trikarboksilat, karena beberapa molekul dalam siklus tersebut memiliki tiga gugus karboksil (COOH), atau siklus asam sitrat, karena asam sitrat merupakan zat antara yang penting. Sebelum asam piruvat (hasil glikolisis) dapat memasuki siklus Krebs, asam piruvat harus terlebih dahulu diubah menjadi asetil-KoA. Reaksi kompleks ini melibatkan penghilangan satu molekul CO_2 , transfer elektron ke NAD, dan penambahan koenzim A (KoA). Pada prokariota, reaksi ini terjadi di sitoplasma; pada eukariota, mereka terjadi dalam matriks mitokondria (Black & Black, 2015).

4.4.1 Dekarboksilasi Oksidatif

Asam piruvat merupakan produk akhir glikolisis aerob harus di transport ke dalam mitokondria sebelum dapat memasuki siklus krebs. Hal ini dapat dilakukan oleh pengangkut piruvat spesifik yang akan membantu piruvat melewati membran mitokondria bagian dalam. Begitu piruvat sudah mencapai matriks, piruvat akan diubah menjadi asetil KoA oleh kompleks piruvat dehidrogenase yang merupakan kompleks multienzim. Kompleks piruvat dehidrogenase sebenarnya bukan merupakan bagian siklus krebs, tetapi merupakan sumber utama KoA-substrat yang

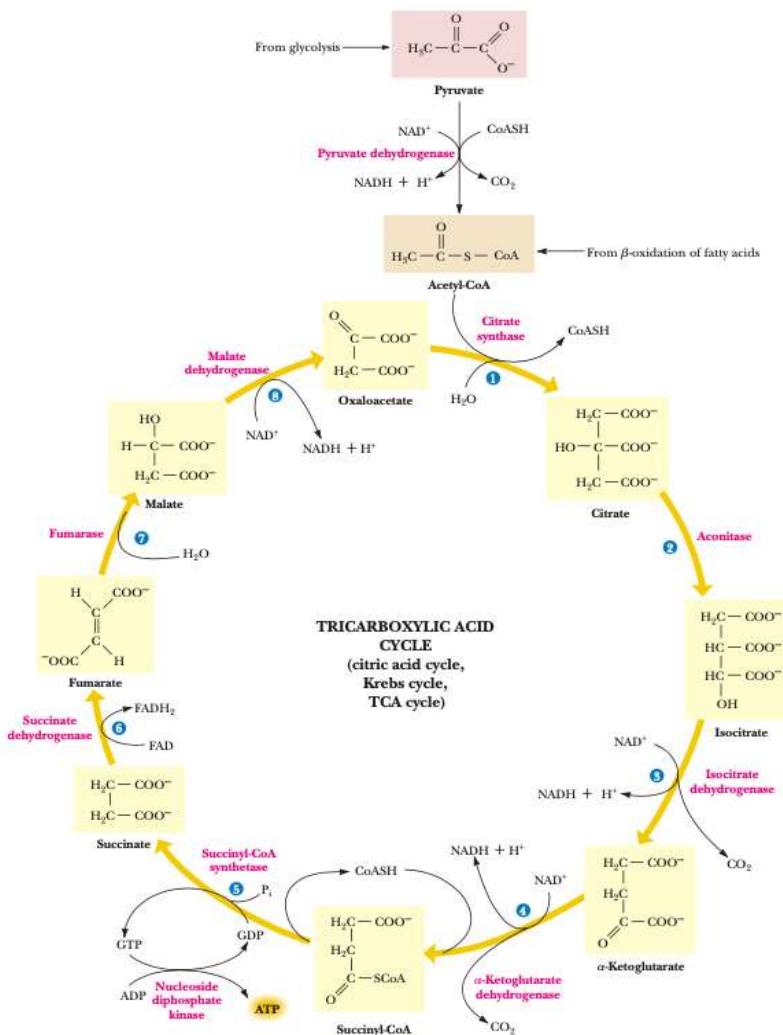
mengandung dua karbon untuk siklus. Kompleks piruvat dehidrogenase merupakan kumpulan multimolekul yang terdiri dari tiga enzim dan lima koenzim. Tiga enzim yakni piruvat dehidrogenase (E_1) disebut juga dekarboksilase, dihidrolipoat transasetilase (E_2), dan dihidrolipoat dehidrogenase (E_3). Lima koenzim bekerja sebagai pembawa atau oksidan untuk reaksi zat antara. E_1 membutuhkan tiamin pirofosfat, E_2 membutuhkan asam lipoat dan koenzim A dan E_3 membutuhkan FAD dan NAD^+ .

4.4.2 Siklus Krebs

Siklus krebs berperan pada proses metabolisme. Siklus ini merupakan jalur terakhir tempat metabolisme oksidatif karbohidrat, pertemuan asam amino dan asam lemak dan pengubahan rangka karbonnya menjadi CO_2 dan H_2O . proses oksidasi ini menyediakan energi untuk pembentukan sebagian besar ATP dikebanyakan hewan termasuk manusia (Harvey & Ferrier, 2011).

Langkah - langkah jalur siklus Krebs seperti pada gambar 4.2 terdiri dari ;

1. Sintesis sitrat dari asetil KoA dan oksaloasetat
 - a. Siklus krebs dimulai dari kondensasi asetil KoA dan oksaloasetat untuk membentuk sitrat, dikatalisis oleh sitrat sintase
 - b. Sitrat sintase dapat bereaksi dengan monofluoroasetil KoA membentuk monofluorositrat, suatu inhibitor kuat dari langkah berikutnya pada siklus Kreb.
2. Isomerasi sitrat
 - a. Sitrat diisomerisasi menjadi isositrat oleh akonitase
 - b. Pemindahan isositrat pada langkah selanjutnya dari siklus krebs, menarik reaksi ke arah kanan
 - c. Enzim ini memerlukan Fe^{2+}



Gambar 4.2. Siklus Kreb

Sumber ; (Garrett & Grisham, 2013)

3. Dekarboksilasi oksidatif isositrat
 - a. Isositrat dehidrogenase mengkatalisis dekarboksilase isositrat yang bersifat ireversibel
 - b. Reaksi ini merupakan langkah pertama dari empat reaksi oksidasi-reduksi, pada reaksi ini dua atom C yang pertama dilepaskan sebagai CO_2 dan terbentuk molekul NADH.
 - c. Karena enzim mitokondria terlibat dalam siklus krebs dalam jaringan mamalia, bentuk isositrat dehidrogenase ini memerlukan NAD^+ sebagai akseptor equivalen pereduksi.
 - d. Jenis isositrat dehydrogenase lain, dari jaringan mamalia, memerlukan NADP^+ sebagai akseptor; terdapat di dalam mitokondria dan sitosol, berperan pada proses biosintesis membantu siklus krebs.
 - e. Enzim yang terikat NAD^+ dirangsang oleh adenosin difosfat (ADP) dan dihambat oleh ATP dan NADH.
4. Dekarboksilasi oksidatif α -ketoglutarat
 - a. Pengubahan α -ketoglutarat menjadi suksinil KoA dikatalisis oleh kompleks α -ketoglutarat dehidrogenase
 - b. Reaksi oksidasi-reduksi yang kedua menunjukkan kedua dari dua atom C dilepas sebagai CO_2 dan terbentuk molekul NADH
 - c. Dengan bergabungnya tiamin pirofosfat, asam lipoat, KoASH, FAD dan NAD^+ dalam reaksi, kompleks enzim ini sangat mirip dengan kompleks piruvat dehidrogenase, tetapi dengan beberapa perbedaan
 - d. Kompleks ini dihambat oleh ATP, GTP, NADH, suksinil KoA dan Ca^{2+} .
 - e. Produknya suksinil KoA merupakan senyawa tioester energi tinggi serupa dengan asetil KoA.

5. Pemecahan suksinil KoA

- a. Suksinil KoA sintase memecah suksinil KoA menjadi suksinat dengan sifat energi tinggi dari tioester dipertahankan melalui forforilasi tingkat substrat dari genosin difosfat (GDP) menjadi GTP.
- b. Reaksi bersifat reversibel bebas
- c. GTP yang terbentuk diubah menjadi ATP oleh nukleotida difosfat kinase.

6. Oksidasi suksinat

- a. Suksinat dioksidasi menjadi fumarat oleh suksinat dehidrogenase.
- b. Reaksi ini merupakan reaksi oksidasi-reduksi ketiga dan tempat terbentuknya FADH_2 dalam siklus krebs.
- c. Suksinat merupakan molekul simetrik, dan tidak diketahui lagi karbon karboksil mana yang berasal dari asetil KoA.

7. Hidrasi fumarat

Fumarat hidratase mengkatalisis hidrasi reversibel fumarat menjadi L-malat.

8. Oksidasi malat

Malat dioksidasi menjadi oksaloasetat oleh malat dehidrogenase. Reaksi ini adalah reaksi terakhir dari siklus krebs merupakan reaksi oksidasi-reduksi keempat dan pembentukan NADH yang ketiga.

4.5 Glukoneogenesis

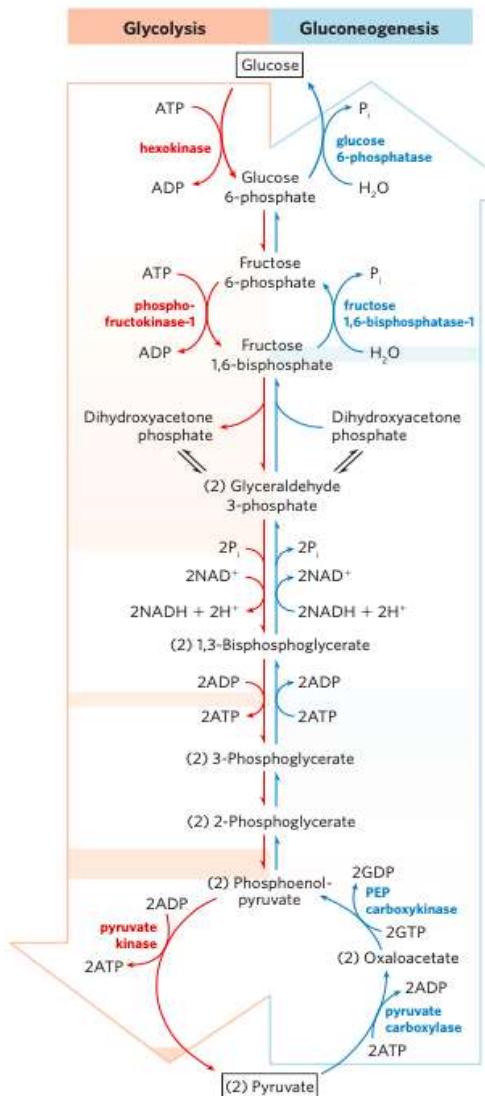
Glukoneogenesis adalah proses sintesis glukosa dari prekursor non karbohidrat. Substrat utama adalah asam amino glukogenik, laktat, gliserol, dan propionat (Rodwel, 2018). Glukoneogenesis terjadi pada saat tubuh kelaparan (>18 jam) dan diabetes melitus pada jaringan terutama di hati dan ginjal. Terjadi terutama di sitosol, tetapi beberapa reaksi terjadi di mitokondria (Shantaram, 2011).

Peran sentral glukosa dalam metabolisme muncul pada awal evolusi, dan gula ini tetap menjadi bahan bakar utama dan bahan penyusun yang umum dalam organisme modern, dari mikroba hingga manusia. Pada mamalia, beberapa jaringan hampir sepenuhnya bergantung pada glukosa untuk energi metabolismenya. Untuk otak manusia dan sistem saraf, serta eritrosit, testis, medula ginjal, dan jaringan embrionik, glukosa dari darah merupakan satu-satunya atau sumber bahan bakar utama. Otak sendiri membutuhkan sekitar 120 g glukosa setiap hari, lebih dari separuh glukosa disimpan sebagai glikogen di otot dan hati. Namun suplai glukosa dari simpanan ini tidak selalu mencukupi karena antara waktu makan dan selama puasa yang lebih lama, atau setelah olahraga berat glikogen akan habis. Untuk itu organisme memerlukan metode untuk mensintesis glukosa dari prekursor nonkarbohidrat yang disebut glukoneogenesis (Nelson & Cox, 2008).

Langkah - langkah jalur glukoneogenesis seperti pada gambar 4.3 terdiri dari ;

1. Perubahan piruvat menjadi fosfofenol piruvat [PEP]. Piruvat akan dikarboksilasi oleh piruvat karboksilase menjadi oksaloasetat yang kemudian diubah menjadi PEP melalui kerja PEP karboksikinase.
2. PEP menjadi F1,6-DP. Perubahan PEP menjadi F1,6-DP terjadi melalui jalan kebalikan dari enzim glikolisis, yang diatur secara ketat oleh kadar substrat dan produk.
 - a. PEP diubah menjadi 2-fosfoglisidat (2-PG) oleh enolase
 - b. 2-PG diubah menjadi 3-fosfoglisidat (3-PG) oleh fosfoglisidat 2,3-mutase
 - c. 3-PG diubah menjadi 1,3 difosfoglisidat (1,3-DPG) oleh 1,3-fosfoglisidat kinase, dengan menggunakan satu ikatan fosfat energi tinggi.
 - d. 1,3-DPG diubah menjadi gliseraldehid 3-fosfat (G3-P) oleh gliseraldehid 3 fosfat dehydrogenase (G3-PD)

- Langkah ini memerlukan NADH dan menghasilkan NAD⁺ dan fosfat inorganik (P_i) sebagai produk
$$1,3 \text{ DPG} + \text{NADH} + \text{H}^- \rightleftharpoons \text{G3P} + \text{NAD}^+ + \text{P}_i$$
 - NADH dapat berasal dari reaksi perubahan laktat menjadi piruvat, bila laktat merupakan substrat untuk glukoneogenesis
- e. G3P berada dalam keseimbangan dengan dihidroksiaseton fosfat (DHAP) melalui kerja triosa isomerase dan aldolase, akan diubah menjadi F1,6-DP.
3. F1,6-DP menjadi fruktosa 6-fosfat (F6-P).
- Perubahan ini tidak bisa dikatalisis oleh fosfofruktokinase yang merupakan reaksi yang reversible pada kondisi dalam sel
 - Sel hati, ginjal dan epitel usus mengandung fruktosa 1,6 difosfatase (F1,6-DPase), yang dapat memecah F1,6-DP menjadi F6-P dan Pi. Reaksi ini merupakan tahap yang lambat dalam urutan reaksi glukoneogenesis, tetapi bukan merupakan tahap pengatur laju yang utama.
 - FDPase merupakan enzim alosterik dengan ATP sebagai modulator positif dan AMP sebagai modulator negatif
4. F6-P menjadi Glukosa
- F6P diubah menjadi glukosa 6 fosfat (G6-P) oleh fosfoglukoisomerase yang reversible
 - Pembentukan glukosa bebas dari G6-P tidak dapat terjadi melalui reaksi kebalikan dari glukokinase atau heksokinase



Gambar 4.6. Jalur Glukoneogenesis
 Sumber ; (Nelson & Cox, 2008).

4.5.1 Glukoneogenesis dari Asam Amino

Kerangka karbon asam amino glukogenik menghasilkan pembentukan piruvat atau perantara siklus krebs yang pada akhirnya menghasilkan sintesis glukosa (Shantaram, 2011).

4.5.2 Glukoneogenesis dari Laktat

Asam laktat adalah produk akhir utama dalam otot dalam glikolisis anaerobik. Jaringan otot tidak mampu mensintesis ulang glukosa dari laktat. Konversi terjadi seluruhnya di hati. Laktat otot diangkut ke hati oleh darah. Di hati, itu diubah menjadi glukosa dan glikogen oleh enzim yang terlibat dalam glukoneogenesis. Glikogen hati diubah menjadi glukosa yang dibawa kembali ke otot oleh darah. Konversi laktat otot menjadi glukosa di hati dan masuk kembali ke otot disebut "Siklus Cori" (Shantaram, 2011).

4.5.3 Glukoneogenesis dari Gliserol

Dengan hidrolisis lemak, gliserol dibebaskan di jaringan adiposa. Enzim gliserol kinase yang terdapat di hati dan ginjal mengaktifkan gliserol menjadi gliserol 3-fosfat yang diubah menjadi dihidroksi aseton fosfat oleh gliserol 3-fosfat dehidrogenase. Dihidroksi aseton fosfat adalah perantara dalam glikolisis dan dapat dengan mudah digunakan untuk produksi glukosa (Shantaram, 2011).

4.5.4 Glukoneogenesis dari Propionat

Tiga karbon propionil KoA diproduksi oleh oksidasi asam lemak rantai ganjil dan pemecahan beberapa asam amino seperti metionin dan isoleusin. Propionil KoA karboksilase bekerja pada hal ini dengan adanya ATP dan biotin dan mengubahnya menjadi metil malonil KoA yang kemudian diubah menjadi suksinil KoA dengan adanya vit. koenzim B12. Suksinil KoA yang terbentuk dari propionil KoA memasuki glukoneogenesis melalui siklus asam sitrat (Shantaram, 2011)

4.6 Glikogenesis

Glikogenesis adalah proses pembentukan glikogen dari molekul α -D-glukosa. Prosesnya terjadi di sitosol, dan membutuhkan energi yang disuplai oleh ATP (untuk fosforilasi glukosa) dan uridin trifosfat (UTP) (Harvey & Ferrier, 2011).

Langkah-langkah sintesis glikogen dalam (Harvey & Ferrier, 2011) seperti pada gambar 4.4 terdiri dari ;

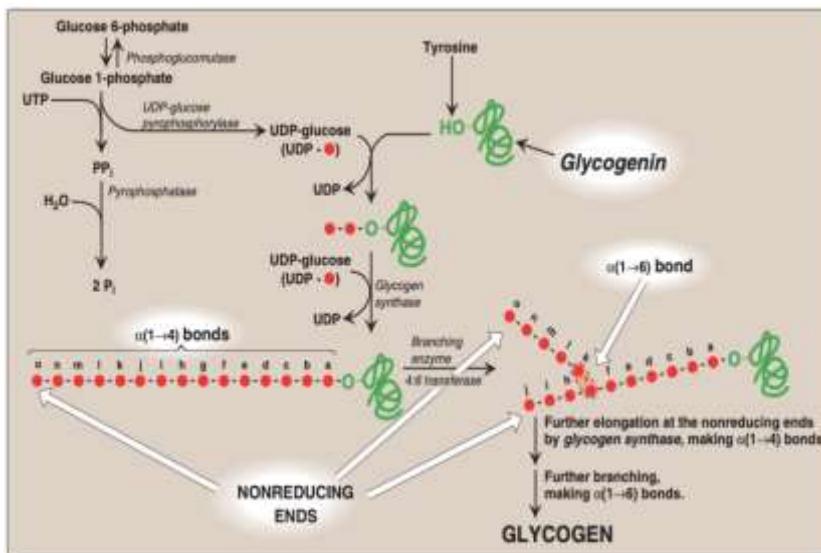
1. Sintesis UDP-glukosa

α -D-Glukosa yang melekat pada uridin difosfat (UDP) adalah sumber dari semua residu glukosil yang ditambahkan ke molekul glikogen yang sedang tumbuh. UDP-glukosa disintesis dari glukosa 1-fosfat dan UTP oleh UDP-glukosa pirofosforilase. Ikatan berenergi tinggi dalam pirofosfat (PPi), produk kedua dari reaksi, dihidrolisis menjadi dua fosfat anorganik (Pi) oleh pirofosfatase, yang memastikan bahwa reaksi pirofosforilase UDP-glukosa berlanjut ke arah produksi UDP-glukosa. Glukosa 6-fosfat diubah menjadi glukosa 1-fosfat oleh fosfoglukomutase. Glukosa 1,6-bifosfat adalah perantara wajib dalam reaksi ini.

2. Sintesis primer untuk memulai sintesis glikogen

Glikogen sintase bertanggung jawab untuk membuat ikatan $\alpha(1 \rightarrow 4)$ dalam glikogen. Enzim ini tidak dapat memulai sintesis rantai menggunakan glukosa bebas sebagai akseptor molekul glukosa dari UDP-glukosa. Sebaliknya, itu hanya dapat memperpanjang rantai glukosa yang sudah ada. Oleh karena itu, sebuah fragmen glikogen dapat berfungsi sebagai primer dalam sel yang simpanan glikogenya tidak habis sama sekali. Dengan tidak adanya fragmen glikogen, protein yang disebut glikogenin dapat berfungsi sebagai akseptor residu glukosa dari UDP-glukosa. Gugus hidroksil rantai samping dari tirosin tertentu berfungsi sebagai tempat di mana unit glukosil awal terpasang. Reaksi dikatalisis oleh glikogenin itu sendiri melalui autoglukosilasi. Dengan demikian glikogenin adalah enzim. Glikogenin kemudian mengkatalisis transfer beberapa molekul

glukosa berikutnya dari UDP-glukosa, menghasilkan rantai glukosil pendek yang terhubung dengan $\alpha(1 \rightarrow 4)$. Rantai pendek ini berfungsi sebagai primer yang dapat diperpanjang oleh glikogen sintase.



Gambar 4.7. Sintesis Glikogen
Sumber ; (Harvey & Ferrier, 2011)

3. Pemanjangan rantai glikogen

Pemanjangan rantai glikogen melibatkan transfer glukosa dari UDP-glukosa ke ujung rantai pertumbuhan yang tidak mereduksi, membentuk ikatan glikosidik baru antara hidroksil anomerik karbon 1 dari glukosa aktif dan karbon 4 dari residu glukosil penerima.

4. Pembentukan cabang-cabang dalam glikogen

Sintesis cabang-cabang dilakukan oleh enzim percabangan amilo $\alpha(1 \rightarrow 4) \rightarrow \alpha(1 \rightarrow 6)$ -trans glucosidase.

4.7 Glikogenolisis

Glikogenolisis adalah proses pemecahan glikogen, terjadi di hati ketika kadar glukosa darah menurun dan di otot selama kontraksi. Prosesnya terjadi di sitosol dan ini bukan kebalikan dari glikogenesis (Shantaram, 2011)

Langkah - langkah jalur glikogenolisis dalam (Harvey & Ferrier, 2011) terdiri dari ;

1. Pemendekan rantai

Glikogen fosforilase membelah ikatan $\alpha(1 \rightarrow 4)$ glikosidat antara residu glukosil pada ujung nonpereduksi rantai glikogen dengan dengan fosforolisis sederhana sehingga keempat unit glukosil tetap tinggal disetiap rantai didepan titik percabangan.

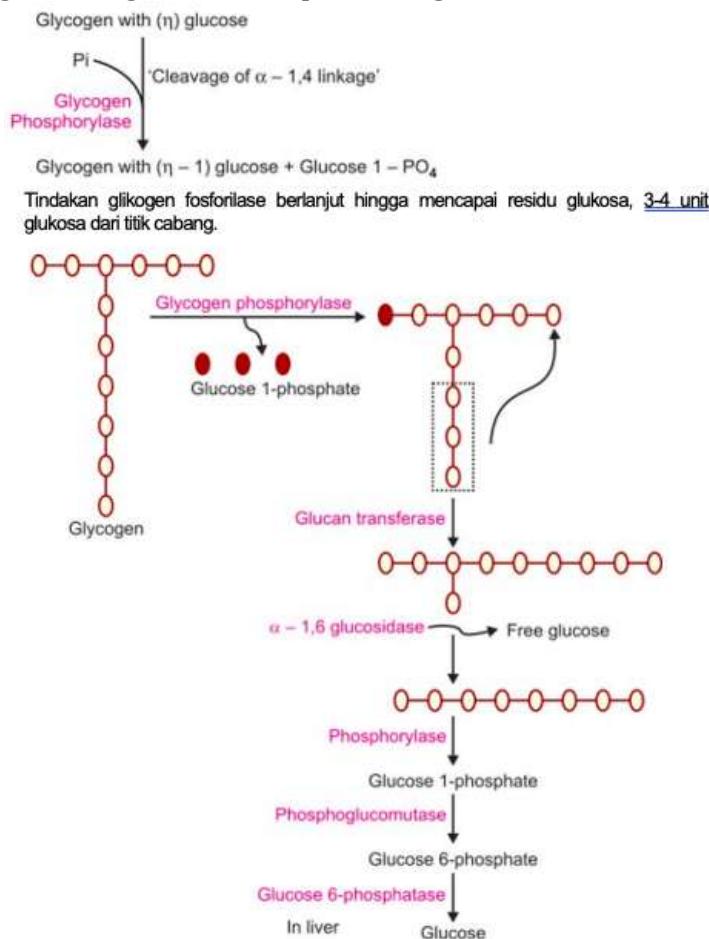
2. Pembuangan cabang

Cabang-cabang dibuang oleh dua aktivitas enzim. Pertama oligo- $\alpha(1 \rightarrow 4) \rightarrow \alpha(1 \rightarrow 4)$ -glukan transferase membuang tiga residu glukosil terluar dari empat residu glukosil yang menempel pada sebuah cabang. Selanjutnya enzim tersebut mentransfer tiga residu glukosil terluar itu ke ujung akhir nonpereduksi rantai lain dan memanjangkannya dengan sesuai. Hasilnya ikatan $\alpha(1 \rightarrow 4)$ terputus dan sebuah ikatan $\alpha(1 \rightarrow 4)$ terbentuk. Selanjutnya residu glikosa tunggal yang tertinggal yang tersambung pada sebuah ikatan $\alpha(1 \rightarrow 6)$ dihilangkan secara hidrolitik oleh aktivitas amilo- $\alpha(1 \rightarrow 6)$ -glucosidase, yang melepaskan glukosa bebas.

3. Glukosa 1 fosfat menjadi glukosa 6 fosfat

Glukosa 1 fosfat yang diproduksi oleh glikogen fosforilase diubah didalam sitosol menjadi glukosa 6 fosfat oleh fosfoglukomutase. Sebuah reaksi yang menghasilkan glukosa 1,6 bifosfat sebagai zat antara yang bersifat sementara tetapi esensial. Di dalam hati glukosa 6-fosfat di translokasikan ke dalam retikulum endoplasma (RE) oleh

glukosa 6-fosfat translocase. Glukosa yang dihasilkan kemudian dipindahkan keluar dari RE menuju sitosol. Hepatosit mengeluarkan glukosa yang berasal dari glikogen kedalam darah untuk membantu mempertahankan tingkat glukosa darah sampai jalur glukoneogenesis memproduksi glukosa secara aktif.



Gambar 4.8. Glikogenolisis
Sumber ; (Shantaram, 2011)

DAFTAR PUSTAKA

- Black, J. G., & Black, L. J. 2015. *Microbiology: Principles and Explorations* (Ninth ed.). John Wiley & Sons.
- Chaudhry, R., & Varacallo, M. 2018. Biochemistry, Glycolysis. In. StatPearls Publishin.
- Garrett, R. H., & Grisham, C. M. 2013. *Biochemistry* (Fifth ed.). Mary Finch.
- Harvey, R. A., & Ferrier, D. R. 2011. *Biochemistry (Lippincott's Illustrated Reviews Series)* (Fifth ed.). Lippincott Williams & Wilkins.
- Ian, D. K. H. 2012. *Sinopsis Biokimia*. Binarupa Aksara.
- Murray, R. K. B., David A; Botham Kathleen M; Kennelly, Peter J; Rodwel, Victor W; Weil P. Anthony. 2012. *Biokimia Harper*. EGC.
- Nelson, D. L., & Cox, M. M. 2008. *Lehninger Principles of Biochemistry*. W.H. Freeman and Company.
- Rodwel, V. W. B., David A; Botham Kathleen M; Kennelly, Peter J; Weil P. Anthony. 2018. *Hapers's Illustrated Biochemistry*. McGraw-Hill Education.
- Shantaram, M. 2011. *Biochemistry and Nutrition for BSc (Nursing)*. Jaypee Brothers Medical Publishers.
- Willey, J. M. S., Kathleen. M; Wood, Dorothy. H. 2020. *Prescott's Microbiology* (Eleventh ed.). McGraw-Hill Education.

BAB 5

PEMBELAHAN SEL DAN REGULASINYA

Oleh Reni Yunus

5.1 Pendahuluan

Semua sel muncul dari pembelahan sel yang ada. Kehidupan sel sejak dihasilkan oleh pembelahan sel progenitor hingga saat sel membelah disebut siklus pembelahan sel atau disingkat siklus sel saja. Durasi siklus sel bervariasi dari 2 hingga 3 jam dalam organisme bersel tunggal seperti ragi pemula *Saccharomyces cerevisiae* hingga sekitar 24 jam dalam sel manusia yang tumbuh di cawan kultur. Selama periode ini massa sel berlipat ganda, menduplikasi genom dan organelnya, dan membaginya di antara dua sel progeni baru. Peristiwa ini harus dilakukan dengan sangat presisi dan dalam urutan yang benar, dan sel telah menetapkan proses kontrol yang canggih untuk memastikan bahwa siklus sel berlangsung dengan akurasi yang diperlukan (Bolsover *et al.*, 2004).

Pada manusia sel-sel dari beberapa jaringan, seperti kulit, lapisan usus, dan sumsum tulang terus membelah sepanjang hidup. Lainnya, seperti sel peka cahaya mata dan sel otot rangka, hampir tidak menunjukkan penggantian. Yang terakhir, yang diletakkan pada masa bayi, harus bertahan seumur hidup. Pembelahan sel tidak hanya harus dikontrol dengan tepat dalam hal kapan sel membelah, seluruh proses harus tahu kapan harus berhenti. Manusia lebih besar dari tikus dan lebih kecil dari gajah. Membatasi beberapa perbedaan kecil dalam desain dasar, ini karena manusia terdiri dari lebih banyak sel daripada tikus (dan,

karenanya, merupakan hasil dari lebih banyak siklus sel) dan lebih sedikit dari gajah. Bagaimana perbedaan ini dicapai? Mengapa manusia tidak tumbuh seukuran gajah atau paus? Apa yang menjadi semakin jelas selama beberapa tahun terakhir adalah bahwa sel mengandung apa yang kemudian dikenal sebagai "gen pengatur siklus sel". Berfungsinya gen tersebut tidak hanya menentukan seberapa besar kita, tetapi juga mencegah pembelahan sel menjadi "di luar kendali" dan menyebabkan kanker (Glover, 2010)

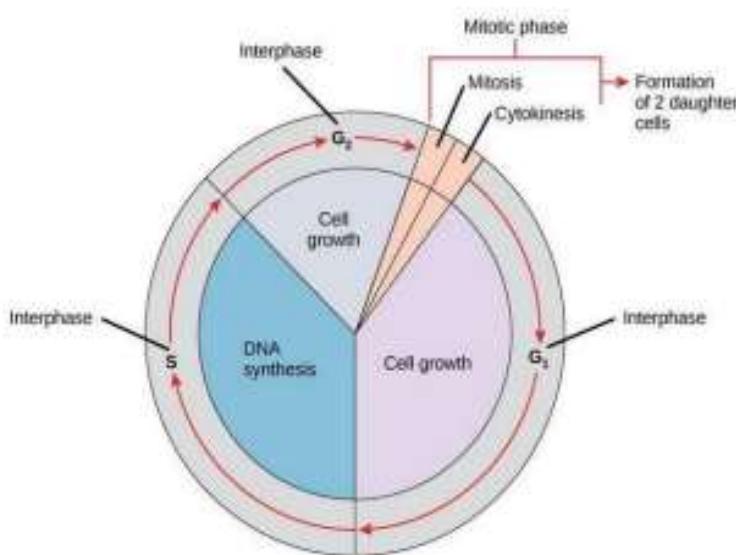
Pada Siklus sel terjadi pertumbuhan sel dan pembelahan sel yang menghasilkan dua sel anak baru dari satu sel induk. Sel-sel pada jalur pembelahan sel melanjutkan melalui serangkaian tahap pertumbuhan, replikasi DNA, dan pembelahan inti dan sitoplasma yang diatur dengan tepat waktu dan diatur dengan hati-hati yang pada akhirnya menghasilkan dua sel (klon) yang identik (Alberts *et al.*, 2014)

Frekuensi pembelahan sel bervariasi tergantung pada jenis sel dan tahap perkembangan. Misalnya, selama embriogenesis, sel membelah dengan cepat saat ukuran embrio tumbuh. Sebaliknya, pada tubuh manusia dewasa, hampir semua sel mengalami diferensiasi akhir dan tidak membelah (contoh: neuron) atau sangat jarang membelah (contoh: sel hati yang membelah sekitar sekali per tahun). Sel-sel yang tidak membelah ini disebut sel diam (Mereka berada di G₀ tahap, yang dibahas nanti di bab ini). Ada beberapa populasi sel manusia dewasa yang aktif membelah. Contohnya termasuk sel epitel usus dan sel punca yang berasal dari orang dewasa, seperti sel punca sumsum tulang,

5.2 Interfase

Siklus sel memiliki dua fase utama: interfase dan fase mitosis. Selama interfase, sel tumbuh, dan DNA direplikasi. Selama fase mitosis, replikasi DNA dan isi sitoplasma dipisahkan, dan sitoplasma sel biasanya dipartisi oleh proses ketiga dari siklus sel

yang disebut sitokinesis (Gambar 5-1). Selama interfase, sel mengalami proses pertumbuhan normal sambil mempersiapkan pembelahan sel. Agar sel berpindah dari interfase ke fase mitosis, banyak kondisi internal dan eksternal yang harus dipenuhi. Tiga tahap interfase disebut G_1 , S , dan G_2 (Nurhayati and Darmawati, 2017).



Gambar 5.1. Siklus sel eukariotik. Siklus sel pada organisme multisel terdiri dari interfase dan fase mitosis. Selama interfase, sel tumbuh dan DNA inti digandakan. Interfase diikuti oleh fase mitosis. Selama fase mitosis, kromosom yang digandakan dipisahkan dan didistribusikan ke dalam inti anak. Mengikuti mitosis, sitoplasma biasanya dibagi juga oleh sitokinesis, menghasilkan dua sel anak yang identik secara genetik (Bolsover *et al.*, 2004).

5.2.1 G₁Fase (Gap Pertama)

Tahap pertama interfase disebut G₁fase (kesenjangan pertama) karena, dari sudut pandang mikroskopis, sedikit perubahan terlihat. Namun, selama G₁tahap, sel cukup aktif pada tingkat biokimia. Sel sedang mengumpulkan blok bangunan DNA kromosom dan protein terkait serta mengumpulkan cadangan energi yang cukup untuk menyelesaikan tugas mereplikasi setiap kromosom dalam nukleus. Selanjutnya, selama G₁Pada tahap ini, DNA dinilai dari kerusakan dan diperbaiki, jika diperlukan, dan ukuran sel juga bertambah (Bolsover *et al.*, 2004)

5.2.2 Fase S (Sintesis DNA)

Sepanjang interfase, DNA inti tetap dalam konfigurasi kromatin semi-terkondensasi. Pada fase S, replikasi DNA dapat berlangsung melalui mekanisme yang menghasilkan pembentukan pasangan identik molekul DNA—kromatid bersaudara—yang melekat kuat pada wilayah sentromerik. Protein disebut cohesin melingkari kromatid saudara perempuan untuk menjaga mereka tetap terhubung. Sentrosom juga diduplikasi selama fase S. Dua sentrosom dari kromosom homolog akan memunculkan gelendong mitosis, alat yang mengatur pergerakan kromosom selama mitosis. Misalnya, sentrosom dikaitkan dengan sepasang objek seperti batang, sentriol, yang diposisikan tegak lurus satu sama lain. Sentriol membantu mengatur pembelahan sel. Akan tetapi, kita harus mencatat bahwa sentriol tidak terdapat pada sentrosom organisme eukariotik lain, seperti tumbuhan dan sebagian besar jamur.

5.2.3 G₂Fase (Gap Kedua)

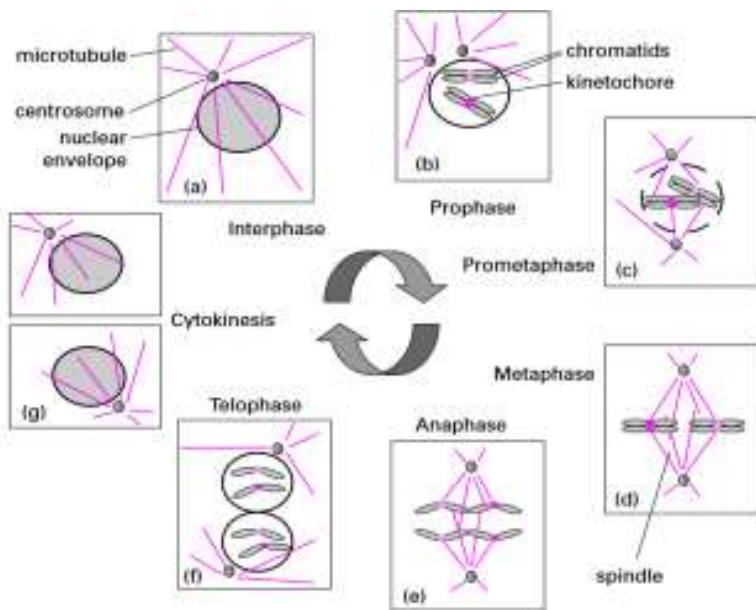
Di G₂fase, sel mengisi kembali simpanan energinya dan mensintesis protein yang diperlukan untuk manipulasi dan pergerakan kromosom. Beberapa organel sel digandakan, dan sitoskeleton dibongkar untuk menyediakan sumber daya bagi fase

mitosis. Seperti di G_1 tahap, selama G_2 , ukuran sel meningkat dan kerusakan DNA diperbaiki, jika diperlukan. Persiapan akhir untuk fase mitosis harus diselesaikan sebelum sel dapat memasuki tahap pertama mitosis (Campbell *et al.*, 2010).

5.3 Tahap Mitosis

Mitosis dirancang untuk menghasilkan dua sel keturunan yang masing-masing mengandung seperangkat kromosom sel neneh moyang yang identik. Untuk mencapai hal ini, kromosom melakukan tugas yang tepat.

urutan gerakan yang pertama kali dijelaskan lebih dari seabad yang lalu. Secara klasik, mitosis dibagi menjadi lima tahap, yang masing-masing ditandai dengan perubahan penampilan kromosom dan organisasinya sehubungan dengan struktur seluler, yang disebut gelendong mitosis, yang bertanggung jawab atas pemisahannya. Tahapan mitosis ditunjukkan secara diagram pada Gambar 5.1. Satu salinan genom kita dikodekan dalam 23 kromosom dan terdiri dari 3×10^9 pasangan basa. Sel manusia mengandung 46 kromosom, 23 diwariskan dari setiap orang tua. Keadaan ini, di mana setiap sel memiliki dua set kromosom lengkap, disebut diploid. Untuk penyederhanaan, Gambar 5.2 menunjukkan hanya satu pasang kromosom, yang berasal dari ayah (ditunjukkan dengan kinetokor hijau muda), dan pasangan yang cocok dari ibu (kinetokor hijau tua) (Alberts *et al.*, 2014)



Gambar 5.2. Tahapan mitosis. Sepasang kromosom ditampilkan, satu kromosom berasal dari ayah (kinetokor hijau muda), dan yang cocok dari ibu (kinetokor hijau tua) (Bolsover *et al.*, 2004).

5.3.1 Profase

Bukti pertama mitosis pada sebagian besar sel adalah pemanjangan benang kromatin yang ada melalui interfase menjadi kromosom kompak yang terlihat di mikroskop cahaya. Saat kromosom memadat, masing-masing dapat dilihat sebagai struktur berpasangan yang terdiri dari dua kromatid. Ini adalah efek yang terlihat dari molekul DNA yang telah direplikasi dalam interfase. Kondensasi kromosom mengurangi kemungkinan molekul DNA panjang menjadi kusut dan rusak. Setiap kromosom memiliki penyempitan yang disebut kinetokor, sebuah struktur yang terbentuk di sekitar wilayah yang kaya akan DNA satelit yang disebut sentromer. Kinetokor adalah titik perlekatan kromosom ke

gelendong. Pada saat yang sama ketika kromosom memadat di dalam nukleus, sentrosom, yang terletak di sisi sitoplasma selubung nukleus, mulai memisah. cuntuk membangun gelendong mitosis (Bolsover *et al.*, 2004).

5.3.2 Prometafase

Pada pemecahan selubung nukleus, kromosom menjadi bebas untuk berinteraksi dengan gelendong pembentuk. Rakitan mikrotubulus dari sentrosom bersifat acak dan dinamis. Ujung yang tumbuh dari mikrotubulus individu membuat kontak kebetulan dan ditangkap oleh kinetokor. Karena peristiwa ini bersifat acak, kinetokor pasangan kromatid pada awalnya dikaitkan dengan jumlah tubulus mikro yang berbeda, dan gaya yang bekerja pada setiap kromosom tidak seimbang. Oleh karena itu, pada awalnya spindel sangat tidak stabil dan kromosom sering melakukan perjalanan menuju dan menjauh dari kutub. Secara bertahap, keseimbangan kekuatan terbentuk dan kromosom menjadi sejajar di ekuator, dengan kinetokor dari setiap anggota pasangan kromatid berorientasi ke arah kutub yang berlawanan (Alberts *et al.*, 2014)

5.3.3 Metafase

Metafase adalah periode mitosis yang paling stabil. Sistem ini dapat dianggap stabil dengan kromosom berbaris seperti atlet pada awal perlombaan (walaupun setengah menghadap ke satu arah dan setengah lainnya). Gelendong metafase terdiri dari dua kelompok utama mikrotubulus: yang menghubungkan kromatid ke kutub dan kelompok kedua yang memanjang dari masing-masing kutub ke kutub lainnya. Kelompok kedua tumpang tindih di ekuator gelendong. Jika satu kromatid terlepas dari gelendong, kromatid mengirimkan sinyal yang memberi tahu kromosom lain untuk tidak memulai anafase tanpanya. Kromosom lain dengan patuh menunggu sampai kromatid yang hilang menempel kembali,

lalu semua kromosom memasuki anafase Bersama (Campbell *et al.*, 2010).

5.3.4 Anafase.

Pemicu pemisahan kromatid berpasangan dan awal perjalanan mereka ke kutub gelendong adalah degradasi protein kohesin, yang berfungsi sebagai perekat yang menyatukan pasangan kromatid. Dalam anafase A, mikrotubulus yang menahan kromosom memendek, menarik kromosom ke kutub gelendong. Kromosom bergerak sebagai "V" dengan kinetokor, di mana kekuatan gerakan kromosom diterapkan, memimpin jalan. Sebaliknya, dalam anafase B mikrotubulus yang tumpang tindih di ekuator gelendong memanjang, memperpanjang jarak antara kutub. Dibandingkan dengan bentuk motilitas sel lainnya, pergerakan kromosom pada anafase sangat lambat, kurang dari 1Mm per menit (Alberts *et al.*, 2014).

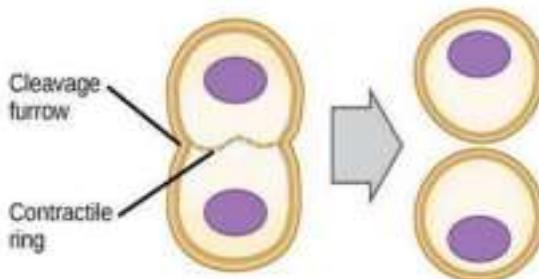
5.3.4 Telofase

Selama telofase, semua kejadian yang mengatur kromosom duplikat untuk mitosis selama tiga fase pertama dibalik. Kromosom mencapai kutub yang berlawanan dan mulai terurai (terurai). Kumparan mitosis dipecah menjadi monomer yang akan digunakan untuk merakit komponen sitoskeleton untuk setiap sel anak. Seperti disebutkan sebelumnya, lamin dan protein pori nukleus mengalami defosforilasi, yang mengarah pada reformasi kromosom selubung nucleus (Bolsover *et al.*, 2004).

5.3.5 Sitokinesis

Sitokinesis adalah bagian kedua dari fase mitosis di mana pembelahan sel diselesaikan dengan pemisahan fisik komponen sitoplasma menjadi dua sel anak. Meskipun tahapan mitosis serupa untuk kebanyakan eukariota, proses sitokinesis sangat berbeda untuk eukariota yang memiliki dinding sel, seperti sel tumbuhan.

Pada sel hewan, sitokinesis dimulai setelah permulaan anafase. cincin kontraktil terdiri dari filamen aktin yang terbentuk tepat di dalam membran plasma pada pelat metafase sebelumnya. Filamen aktin menarik ekuator sel ke dalam, membentuk celah. Celah ini, atau "retak", disebut pembelahan alur. Alur semakin dalam saat cincin aktin berkontraksi, dan akhirnya membran dan sel terbelah menjadi dua (Gambar 5.3)



Gambar 5.3. Sitokinesis. Di panel atas, alur pembelahan terbentuk di bekas lempeng metafase di sel hewan. Membran plasma ditarik oleh cincin serat aktin yang berkontraksi tepat di dalam membran. Alur pembelahan semakin dalam sampai sel terjepit menjadi dua (Bolsover *et al.*, 2004).

5.4 Meiosis

Pada organisme yang bereproduksi secara seksual, sel germinal yang menghasilkan sel telur dan sperma muncul melalui jenis pembelahan sel yang berbeda dari sel somatik yang menyusun sebagian besar tubuh. Pada pembelahan sel biasa sintesis DNA diikuti dengan mitosis sehingga kedua keturunannya berakhir dengan satu set identik kromosom sel asli. Untuk menghasilkan sel germinal, satu putaran sintesis DNA diikuti oleh dua pembelahan inti. Hasilnya adalah sperma atau sel telur individu bersifat haploid; yaitu, hanya berisi satu salinan dari setiap

kromosom. Fusi telur dan sperma saat pembuahan menciptakan sel diploid.

Setiap pembelahan meiosis (dikenal sebagai meiosis I dan II), melibatkan pembentukan putaran meiosis dan urutan profase, prometafase, metafase, anafase, dan telofase yang sama. Mitosis biasanya merupakan proses yang agak singkat, tetapi meiosis sering diperpanjang dan, pada organisme yang berbeda dapat bertahan selama berbulan-bulan atau bahkan bertahun-tahun. Sebagian besar ditempati oleh profase meiosis I yang panjang, profase I. Profase I berbeda dari profase mitosis karena kromosom ayah dan ibu (yang, karena sintesis DNA telah terjadi pada interfase sebelumnya, masing-masing terdiri dari dua kromatid) garis ke atas berdampingan. Saat sel berkembang ke metafase I, pasangan kromosom ibu/ayah berbaris di sepanjang pelat metafase. Pada anafase I, pasangan homolog terpisah tetapi, tidak seperti situasi pada mitosis, kromatid berpasangan tetap melekat dan berjalan bersama ke kutub. Dua nukleus progeni yang terbentuk selama telofase I segera memasuki meiosis II. Profase II seringkali sangat singkat sehingga tidak terdeteksi. Metafase II dan anafase II menyerupai mitra mitosisnya, kromatid akhirnya berpisah untuk menghasilkan gamet haploid (sperma atau telur). Untuk setiap bagian genom, setiap gamet hanya berisi satu salinan, yang berasal dari ayah atau ibu.

Meskipun meiosis jantan dan betina pada hewan mengikuti garis yang kira-kira sama, ada beberapa perbedaan penting. Pada laki-laki meiosis menghasilkan empat sel haploid berukuran sama yang disebut spermatid, masing-masing kemudian berkembang menjadi spermatozoa. Pada wanita, kedua pembelahan meiosis bersifat asimetris, menghasilkan satu sel besar yang bertahan, oosit, dan tiga sel kecil, yang disebut badan kutub, dibuang (Campbell *et al.*, 2010)

DAFTAR PUSTAKA

- Alberts *et al.* 2014. *Essential Cell Biology*. Fourth Edi. United States of America: Garland Science.
- Bolsover, S.R. *et al.* 2004. *Cell Biology A Short Course*.
- Campbell, N.A. *et al.* 2010. *Biologi Edisi Kedelapan Jilid 3*. Erlangga.
- Glover, M. 2010. 'Cell Division, Genetics, and Molecular Biology', in. Nurhayati, B. and Darmawati, S. 2017. Biologi Sel dan Molekuler. *Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medis*. PPSDM Kemenkes RI.

BAB 6

MUTASI, PERBAIKAN, DAN

MEKANISME PERKEMBANGAN

KANKER

Oleh Rondius Solfaine

6.1 Pendahuluan

Tumbuh ganda atau neoplasia atau tumor merupakan pertumbuhan sel-sel baru yang berproliferasi tidak terkendali tanpa mempunyai fungsi yang jelas dan tidak beraturan. Istilah tumor yang berarti pembengkakan berbeda sifatnya dengan bentuk kebengkakan yang lain seperti abses, keradangan kronis, nodul parasit. Pada bentuk pebengkakan non tumor proses perkembangan penyakit hanya terjadi beberapa waktu dan berakhir dengan kesembuhan. Sementara tumor mempunyai sifat pertumbuhan sel yang terus-menerus tidak terkendali. Sel tumor berasal dari sel dalam jaringan tubuh yang normal, yang dapat berkembang menjadi sel yang sama dan sel yang tidak serupa jumlahnya berlebihan dan tidak terkoordinasi dengan jaringan normal sekitarnya. Sifat tumor yang ganas biasa disebut malignant dan bentuk tumor yang tidak ganas disebut benigna. Proses terjadinya tumor melibatkan banyak faktor, sehingga penyebab terjadinya tumor dibagi menjadi faktor Intrinsik: keturunan, umur, pigmen, sex dan imunitas dan faktor ekstrinsik: bahan kimia, hormon, iritasi kronis, ultraviolet, radiasi, parasit, virus. Pada kasus tumbuh ganda maka mempunyai gambaran lesi sebagai berikut:

- a. Gambaran makroskopis ada beberapa faktor yang yang mempengaruhi yaitu lokasi, jenis/sifat, suplai darah dan lama waktu tumor tetapi tidak dapat dipastikan ukuran,

bentuk, warna dan konsistensinya. Ukuran tumor berkisar antara 1-2 mm sampai beberapa centimeter, bentuk tumor bervariasi antara bulat, lonjong, elips, atau multi lobus. Warna tumor bisa abu-abu, kuning, merah, coklat atau hitam. Konsistensi tumor tergantung lokasi jaringan atau organ yang terkena, misalnya pada tulang tumornya berkonsistensi keras, sedangkan pada jaringan ikat mempunyai konsistensi lunak atau elastis.

- b. Gambaran mikroskopisnya memperlihatkan sel tumor tidak berbeda dengan sel yang lain. Perbedaan sel tumor malignant lebih didominasi oleh sel-sel muda atau embrionik (anaplasia), sedangkan sel tumor yang benigna didominasi oleh sel-sel dewasa.

Sel-sel tumor dapat menyebar kejaringan lain dibagian tubuh hewan, yaitu dengan cara infiltrasi, metastasis dan implantasi. Proses penyebaran sel-sel tumor dengan cara infiltrasi merupakan cara yang paling umum yang digunakan sel malignan dengan jaringan ikat longgar, parenkim dan interstitial sel. Penyebaran juga bisa melalui pembuluh darah dan limfe sehingga sel-sel malignan dapat tumbuh di daerah lumen pembuluh darah. Penyebaran sel tumor dengan cara metastasis melalui pembuluh darah dan limfe dengan sel emboli (metastasis). Dan penyebaran sel tumor dengan cara transplantasi lebih dominan kontak langsung sel tumor pada permukaan lapisan mukosa atau serosa.

Klasifikasi tumor berdasarkan tingat ke ganasannya selnya dapat bersifat tidak ganas (benigna) dan ganas (malignan). Karakteristik sel tumor benigna antara lain tunggal, bulat, elips, bertangkai, berkapsul, tumbuh lambat, jarang ada nekrosis, mudah diambil, tidak toksik, tidak metastatic, tidak tumbuh lagi bila diangkat dan biasanya tidak menyebabkan kematian. Sementara pada sel tumor malignan bersifat multiple, ireguler, tidak berkapsul, Tumbuh cepat, sering nekrosis, sulit diangkat, toksik

bagi hewan, infiltratif, invasif, metastatic, cenderung tumbuh lagi dan menyebabkan kematian.

Klasifikasi tumor berdasarkan asal-usul selnya yaitu:

1. Sel tumor epithelial: sel tumor dari epithel squamus atau glanduler, antara lain yang bersifat benigna: papiloma, adenoma. Yang bersifat malignan: carcinoma.
2. Sel tumor non epithelia: sel tumor yang berasal dari jaringan ikat, contohnya yang bersifat benigna: fibroma, osteoma, chondroma, sel tumor yang bersifat malignan fibrosarcoma, osteosarcoma, chondrosarcoma (nama jaringan/organ + sarcoma).

Sel tumor sangat merugikan bagi tubuh hewan. Efek atau tingkat keparahan sel tumor terhadap jaringan atau organ tergantung pada letak sel tumor, jaringan asal sel tumor dan sifat sel tumor benigna atau maligna. Proses pertumbuhan sel tumor akan menyebabkan gangguan pada tubuh berupa:

- a. Menekan sel/jaringan disekitarnya: sel tumor mengalami kebengkakan yang menekan jaringan sekitarnya.
- b. Obstruksi lumen organ: adanya pertumbuhan sel-sel tumor yang menyumbat aliran ingesta, sekresi dan eksresi organ.
- c. Kerusakan pembuluh darah dan limfe: sel tumor yang masuk dinding endothelia menyebabkan kerusakan pembuluh darah/limfe.
- d. Kerusakan sistem syaraf: akibat sel-sel tumor yang menekan jaringan dan pembuluh darah.
- e. Infeksi kuman sekunder.
- f. Anemia: pada saat sel-sel tumor merusak pembuluh darah, maka mengakibatkan keluarnya darah ke dalam jaringan.
- g. Gangguan produksi hormone.

Kematian: sel-sel tumor yang menyerang organ-organ vital menyebabkan kegagalan fungsi-fungsi sistem tubuh.

6.2 Karsinogen

Karsinogenesis adalah salah satu proses biologis paling lambat yang diketahui. Kesamaan yang dimiliki semua sel neoplastik adalah gangguan pada DNA mereka. Gangguan ini menyebabkan proliferasi sel yang berlebihan. Setiap kasus kanker biasanya merupakan hasil dari rangkaian peristiwa — lingkungan, genetik, imunologi, dan faktor lainnya. Agen penyebab kanker utama (karsinogen) termasuk dalam tiga kelompok utama: kimiawi, virus, dan fisik. Perkembangan, bagaimanapun, juga menunjukkan bahwa tumor benar-benar terdiri dari populasi sel yang heterogen, karena sel tumor individu mengalami mutasi tambahan setelah inisiasi yang memilih klon sel yang.

Sebagian besar Neoplasia berasal dari monoklonal, yang berarti bahwa semua sel dalam Neoplasia tertentu berasal dari satu sel yang ditransformasikan dalam hal mutasi transformasinya. Karsinogenesis paling baik dilihat sebagai proses multi-langkah yang melibatkan konsep inisiasi, promosi, dan progresi. Berikut tahapan pembentukannya:

1. Inisiasi- peristiwa yang mengubah genom. Agen kimia, fisik, atau biologis yang menyebabkan kerusakan permanen (mutasi) pada DNA. Dalam model klasik karsinogenesis kimiawi, langkah ini dianggap dapat diwariskan dan tidak dapat diubah. Intinya, efeknya adalah genotoksitas (kerusakan pada mesin genetik sel).
2. Promosi - peristiwa yang menyebabkan proliferasi sel yang berubah. Proliferasi sel adalah efek khas promotor. Perubahan neoplastik mungkin atau mungkin tidak diekspresikan saat ini. Hormon seperti estrogen dan

- faktor proliferasi tertentu dapat bertindak sebagai promotor
3. Progresi - menyiratkan bahwa sel yang dimulai mengalami mutasi tambahan, melalui serangkaian pembelahan sel, dan transformasi lebih lanjut, pada akhirnya menghasilkan perkembangan neoplasia. Neoplasia adalah populasi sel yang berasal dari satu sel yang bermutasi. Mereka klonal tetapi heterogen.

Perubahan karakteristik sel saat populasi sel neoplastik berkembang disebut sebagai perkembangan tumor. Perkembangan dapat dilihat sebagai serangkaian langkah dimana sel bermutasi berevolusi menjadi Neoplasia. Pikirkan perkembangan sebagai sel tumor yang berubah dari buruk menjadi lebih buruk. Secara genotip, perkembangan tumor menyiratkan bahwa sel-sel neoplastik muncul dari banyak cacat genetik dan perbaikan DNA yang rusak mungkin mendukung proses ini. Sebagian besar Neoplasia berasal dari monoklonal, yang berarti bahwa semua sel dalam Neoplasia tertentu berasal dari satu sel yang ditransformasikan dalam hal mutasi transformasinya.

Perkembangan, bagaimanapun, juga menunjukkan bahwa tumor benar-benar terdiri dari populasi sel yang heterogen, karena sel tumor individu mengalami mutasi tambahan setelah inisiasi yang memilih klon sel yang Responsif yang bervariasi terhadap hormon tertentu, lebih agresif (dapat menginvasi dan bermetastasis, memiliki survivabilitas yang lebih besar (tingkat pertumbuhan yang lebih cepat; dapat menghindari respon imun). Hanya dalam kelompok tikus di mana promotor diterapkan pada waktu yang tepat setelah inisiasi, progresi menjadiproduksi tumor terjadi.dan bersifat abadi (terus bereplikasi tanpa batas waktu. Ada beberapa Neoplasia yang dapat berkembang dari hiperplasia menjadi

neoplasia; namun, tidak semua Neoplasia melakukan ini. Contoh Neoplasia yang berkembang dari hiperplasia melalui displasia menjadi neoplasia adalah neoplasia epitel skuamosa (misalnya papiloma skuamosa, karsinoma sel skuamosa).

Karsinogen kimia meliputi zat buatan manusia dan alami. Sebagian besar bahan kimia pemicu adalah mutagen – bahan kimia yang menyebabkan mutasi. Dalam model klasik karsinogenesis kimiawi, inisiasi dianggap dapat diwariskan dan tidak dapat diubah. Sejumlah besar mutagen ini terlibat dalam penyebab kanker pada manusia dan hewan laboratorium. Hasil transformasi ganas ketika mutagen kimia berinteraksi dengan gen pengatur sel (proto-onkogen, gen penekan kanker, dan gen yang mengatur apoptosis). Sifat karsinogen sebagian besar karsinogen kimia tidak aktif dalam keadaan asalnya. Bahan kimia ini harus mengalami aktivasi metabolismik menjadi bentuk yang sangat reaktif (dan elektrofil) dan Elektrofil berikatan dengan DNA, RNA, dan protein sel menyebabkan mutasi.

Karsinogen kimia kerja langsung - kelompok kecil karsinogen yang reaktif dalam keadaan aslinya. Bahankimia ini tidak memerlukan konversi metabolisme menjadi karsinogenik. Karsinogen kimiawi yang bekerja tidak langsung—sebagian besar karsinogen kimia termasuk dalam kelompok ini. Bahan kimia ini memang membutuhkan konversi metabolisme ke keadaan aktifnya. Aktivasi metabolismik terjadi pada retikulum endoplasma sel oleh sistem oksigenase sitokrom P-450. Organ dengan sejumlah besar enzim yang memetabolisme racun, seperti hati, sering menjadi sasaran karsinogen kimiawi. Juga, kandung kemih sering dipengaruhi oleh karsinogen yang metabolitnya diekskresikan dalam urin

Karsinogen fisik (radiasi-ultraviolet dan pengion)

Sinar ultraviolet (sinar matahari) adalah karsinogen lengkap tetapi paparan berulang diperlukan. Sinar UV merusak DNA dan juga cenderung menekan sistem kekebalan tubuh. Karsinoma sel skuamosa, tumor sel basal, dan melanoma ganas adalah tumor umum yang terkait dengan paparan sinar matahari berulang kali. Karsinoma sel skuamosa okular pada sapi Hereford (disebut kanker mata) dan karsinoma sel skuamosa pada telinga kucing putih adalah contoh klasik dari kanker akibat sinar UV.

Radiasi pengion termasuk paparan terhadap lingkungan alami kita (sinar kosmik dan radiasi terestrial) dan sumber medis dan industri (sinar-X dan sinar gamma). Tidak seperti sinar UV, paparan tunggal terhadap radiasi pengion sudah cukup untuk menyebabkan kanker. Radiasi pengion menyebabkan kerusakan pada DNA yang menyebabkan kematian sel dan peningkatan mutasi. Peradangan kronis dapat menyebabkan elaborasi enzim seperti siklo-oksigenase (COX 2) yang dapat meningkatkan faktor pertumbuhan, dan merangsang proliferasi sel. Di lingkungan yang tepat, hal ini dapat menyebabkan hiperplasia dan metaplasia, kemudian akhirnya menjadi displasia dan neoplasia. *Helicobacter pylori* telah dikaitkan dengan adenokarsinoma lambung pada manusia. Pada hewan, *Spirocerca lupi*, parasitesofagus telah dicurigai dalam kasus fibrosarkoma esofagus dan osteosarkoma.

Kelainan pada gen yang mengatur pertumbuhan sel, diferensiasi dan perbaikan DNA menjadi sentral transformasi neoplastik. Proto-onkogen (p-onc) adalah gen seluler normal yang mendorong pertumbuhan dan diferensiasi sel normal. Lebih dari 100 proto onkogen telah dikarakterisasi.

Onkogen- adalah gen seluler bermutasi yang mengganggu pertumbuhan sel dan menyebabkan kanker.

Onkogen awalnya diisolasi dari retrovirus RNA pembentuk tumor (v-oncs). Pengetahuan tentang onkogen virus selanjutnya mengarah pada penemuan urutan gen homolog (proto-onkogen) dalam sel normal. Proto-onkogen adalah gen yang biasanya dikaitkan dengan pertumbuhan sel. Mereka menghasilkan faktor pertumbuhan, faktor transduksi sinyal, reseptorn faktor pertumbuhan dan protein yang mengaktifkan RNA transkripsi. Ketika gen ini bermutasi, terjadi produksi berlebih atau produksi abnormal dari produk gen ini yang mengakibatkan pertumbuhan sel abnormal dan neoplasia. Gen yang bermutasi disebut onkogen.

Onkogen adalah proto-onkogen yang bermutasi. Onkogen dapat menyebabkan perkembangan neoplasia melalui tiga mekanisme: Dengan mutasi-enyebabkan produk protein abnormal, amplifikasi-menyebabkan kelebihan produk protein dan promosi gen abnormal-onkogen didorong (dikendalikan) oleh promoter abnormal (promotor dapat berasal dari inang atau turunan virus). Onkogen seluler (c-oncs)-adalah proto-onkogen yang telah diubah struktur atau fungsinya sehingga berperilaku seperti gen penyebab kanker yaitu onkogen. Onkogen seluler dinamai demikian untuk membedakan dari onkogen virus. Onkogen virus (v-oncs)- adalah urutan gen yang dibawa oleh virus yang dapat menginduksi transformasi sel. Gen yang mengatur apoptosis- gen ini mengendalikan kematian sel terprogram. Keluarga gen bcl-2 menghambat (bcl-2) atau mempromosikan (bax) apoptosis. Banyak sel kanker mengalami peningkatan jumlah protein bcl-2.

Produk onkogen (onkoprotein) pada dasarnya adalah versi yang diubah dari produk normalnya, Onkoprotein berbeda dari protein pengatur normal karena produksinya tidak diatur.

Onkoprotein pada dasarnya mengambil alih kendali transduksi sinyal dan pertumbuhan sel. Onkoprotein berfungsi memberikan keuntungan pertumbuhan pada sel yang

bermutasi. Perlu diingat, bagaimanapun, bahwa sebagian besar jenis neoplasia dihasilkan dari banyak mutasi, dan bahwa karsinogenesis adalah proses multi-langkah, dan perubahan genotip dan fenotipik merupakan bagian integral dari perkembangan tumor. Kerusakan genetik (atau mutasi) dapat diprakarsai oleh agen lingkungan seperti bahan kimia, virus, radiasi, atau mungkin diwariskan dalam sel germinal. Gen anti-onkogen atau penekan tumor adalah gen yang menghambat proliferasi sel normal dan dengan demikian mengimbangi efek proto-onkogen. Jika gen ini bermutasi, maka penghambatan proliferasi sel dihilangkan sehingga terjadi neoplasia. Contoh anti onkogen adalah gen p53. Gen ini mengkodekan protein yang mengirimkan sel dengan DNA yang rusak menjadi apoptosis (bunuh diri sel). Jika gen ini bermutasi, maka sel tidak disuruh mati, terus bereplikasi dan terjadilah kanker.

Telomer adalah urutan DNA berulang yang terletak di ujung kromosom. Sel germinal, sel induk, dan selembrioik mengekspresikan enzim yang disebut telomerase yang memungkinkan telomer direplikasi dan ini berkontribusi pada kemampuan sel untuk terusmembelah. Sel dewasa secara bertahap kehilangan kemampuan untuk mengekspresikan telomerase dan akibatnya telomer tidak lagi bereplikasi tetapi menjadi lebih pendek. Saat telomer tumbuh lebih pendek, akhirnya sel mencapai batas kapasitas replikasinya dan mati. Inidangan sebagai penyebab utama penuaan. Banyak sel neoplastik mendapatkan kembali kemampuannya untuk memproduksi telomerase, sehingga sel mendapatkan kemampuan untuk bereplikasi tanpa batas. Oleh karena itu, untuk meninjau, hasil neoplasia dari beberapa perubahan genetik dan epigenetik (karena faktor selain perubahan DNA). Perubahan ini dapat disebabkan oleh radiasi pengion, berbagai karsinogen kimiawi, onkogen, gen penekan tumor, virus, dan

aktivitas telomerase. Efek kumulatif dari semua perubahan ini dalam jangka waktu yang lama dapat mengakibatkan karsinogenesis.

6.3 Neoplasia

Neoplasia diberi nama berdasarkan jaringan yang pertama kali berkembang. Misalnya, Neoplasia ganas epitel di permukaan kulit yang menyebar ke hati tetap merupakan karsinoma sel skuamosa meskipun di hati. Demikian pula Neoplasia ganas hati yang menyebar ke kulit tetap merupakan adenokarsinoma hati meskipun berada di kulit.

Istilah adenoma diterapkan pada Neoplasia jinak yang berasal dari epitel yang membentuk pola kelenjar atau asinar serta tumor yang berasal dari kelenjar yang membentuk massa sel padat. Adenoma yang berisi rongga (kista) disebut kistadenoma. Adenoma papiler jinak yang muncul dari permukaan disebut polip atau papiloma. Bagian neoplastik hanyalah epitel penutup; inti jaringan ikat hanya menambah tingkat keparahan. Polip muncul sebagai pertumbuhan berdaging lunak yang menonjol dari permukaan epitel sekretorik.

Neoplasia epitel ganas disebut karsinoma yang memiliki pola pertumbuhan kelenjar secara mikroskopis disebut adenokarsinoma. Mereka dapat memiliki pola pertumbuhan yang mirip dengan yang terlihat pada adenoma tetapi terlihat jauh lebih berat. Karsinoma *in situ* adalah Neoplasia sel epitel yang memenuhi semua kriteria patologis untuk keganasan kecuali bahwa ia tidak menginvasi struktur pendukung organ di mana ia muncul. *In situ* adalah bahasa Latin, dan secara harfiah diterjemahkan ke dalam bahasa Inggris sebagai "di tempat.

Definisi teknis *in situ* adalah adanya sel ganas di dalam kelompok sel tempat asalnya. Tidak ada *penetrasi membran*

dasar jaringan dan tidak ada invasi stroma. Umumnya, Neoplasia dimulai pada sel-sel epitel organ yang membelah dengan cepat dan tumbuh dari dalam ke luar organ. Diagnosis *in situ* hanya dapat dilakukan secara mikroskopis. harus mengidentifikasi membran dasar dan menentukan bahwa membran tersebut belum ditembus. Jika membran basement telah diinvasi, kasus tidak lagi *in situ* dan setidaknya terlokalisasi. Organ dan jaringan yang tidak memiliki lapisan epitel tidak dapat ditunjukkan secara *in situ*, karena tidak memiliki membran dasar. Oleh karena itu, tidak dapat ada diagnosis *in situ* pada tumor jaringan ikat karena jaringan ikat tidak memiliki membran dasar.

Neoplasia jinak jaringan ikat (mesencyhmal) hanya diberi nama dengan menambahkan akhiran oma ke jenis sel yang berproliferasi. Tumor ganas jaringan ikat diberi nama dengan menambahkan akhiran, sarkoma: karenanya fibrosarcoma, liposarcoma, hemangiosarcoma, osteosarcoma, dan sebagainya.

Neoplasia yang terdiferensiasi dengan baik terdiri dari sel-sel yang sangat mirip dengan jaringan asal (lihat diagram di kiri atas di bawah). Neoplasia yang berdiferensiasi buruk hanya menunjukkan kemiripan sekilas dengan jaringan asalnya. Ini disebut anaplasia. Tumor anaplastik berasal dari sel yang tidak berdiferensiasi dan dengan demikian jaringan asalnya tidak dapat diidentifikasi hanya dengan ciri morfologis. Mereka menunjukkan ciri-ciri seperti pleomorfisme anisositosis, dan anisokaryosis (berbagai ukuran dan bentuk sel dan nukleus), angka mitosis abnormal, peningkatan inti dan basofilia sitoplasma, peningkatan rasio inti terhadap sitoplasma, banyak nukleolus, dan multinukleasi. Kriteria ini disebut "kriteria keganasan".

Anaplasia hanya terlihat pada Neoplasia ganas; itu tidak terlihat pada Neoplasia jinak. Anaplasia ada dalam derajat; itu

mewakili spektrum perubahan dan mungkin parah atau ringan, Oleh karena itu, secara patologi tidak hanya mengamati tidak adanya atau adanya anaplasia (jinak vs ganas), mereka juga menilai tingkat anaplasia (berat atau ringan). Dengan demikian mereka membantu mengembangkan prognosis (seberapa buruk penyakit yang disebabkan oleh Neoplasia). Anaplasia parah memperburuk prognosis sementara anaplasia ringan memperbaikinya. Semakin banyak anaplasia yang diamati, semakin ganas Neoplasia tersebut; semakin sedikit anaplasia yang diamati, semakin tidak ganas neoplasia tersebut.

Saat sel menjadi lebih terspesialisasi selama perkembangan normal, mereka membentuk hubungan yang sangat terorganisir dengan sel serupa. Membran lapisan epitel kolumnar sederhana adalah salah satu contoh jaringan yang sangat terorganisir. Selaput ini selalu setebal satu sel, nukleusnya selalu terletak di ujung sel yang bersandar pada jaringan ikat di bawahnya, dan organel intraseluler selalu terletak di lokasi tertentu di dalam sel - mereka adalah sel terpolarisasi. Di perut, sel-sel kolumnar sederhana membentuk kelenjar kompleks, mengeluarkan enzim pencernaan penting, dan membentuk bahan berlendir tebal (lendir) untuk Melindungi sitoplasma dan kelenjar terdistorsi (kehilangan polaritas) dan tidak adanya enzim dan sekresi lendir (kehilangan fungsi khusus).

Jaringan yang tidak berdiferensiasi tidak menunjukkan tingkat organisasi yang tinggi; polarisasi dan fungsi khusus tidak ada. Karena sel anaplastik tidak terdiferensiasi seperti sel normal, sel anaplastik kurang terpolarisasi dan memiliki fungsi khusus yang lebih sedikit. Semakin parah anaplasia, semakin banyak polaritas dan fungsi yang terganggu. Semakin ringan anaplasia, semakin menonjol polaritas dan fungsinya. Keganasan neoplasia lambung mungkin menunjukkan campur

aduk dan kelenjar terdistorsi (kehilangan polaritas) dan tidak adanya enzim dan sekresi lendir (kehilangan fungsi khusus).

Setidaknya ada enam fitur anaplasia yang dapat diidentifikasi dengan mempelajari sel-sel individual baik yang diambil dari permukaan atau dilihat dalam spesimen biopsi. Beberapa kriteria keganasan:

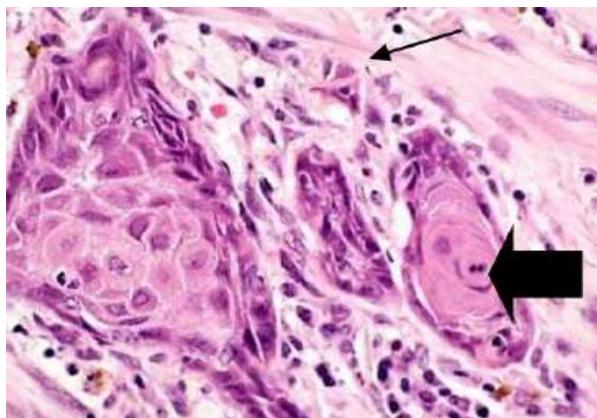
1. Anisocytosis dan anisokaryosis (variabel bentuk dan ukuran sitoplasma dan nucleus)
2. Angka mitosis abnormal (mitosis tinggi) berupa peningkatan basofil nuklir dan sitoplasma (inti dan sitoplasma terlihat lebih biru), peningkatan rasio nukleoli terhadap sitoplasma (inti sangat besar dan sejumlah kecil).
3. Banyak nukleolus (bukan satu atau dua nukleolus ada banyak), multinukleasi (bukan satu atau dua inti, ada banyak)

6.4 Struktur neoplasia

Semua Neoplasia terdiri dari dua komponen dasar: (a) populasi sel neoplastik, atau parenkim (b) jaringan ikat dan pembuluh darah, atau stroma .

Secara mikroskopis, komposisi ganda ini paling baik divisualisasikan pada tumor epitel (seperti adenoma dan karsinoma) di mana epitel menonjol dengan jelas terhadap stroma. Tumor epitel ganas dengan jumlah jaringan ikat yang tidak proporsional disebut sebagai karsinoma skirrhous (keras, keras).

Pertumbuhan berlebih kolagen oleh fibroblas karsinoma skirrhous mungkin merupakan respons terhadap produk sel tumor seperti faktor pertumbuhan epidermal (EGF). Gambar ini menunjukkan karsinoma sel skuamosa (panah besar) dan reaksi skirrhous. Sebaliknya karsinoma dengan sedikit jaringan ikat bersifat lunak atau meduler (yang berarti seperti sumsum) dan dengan demikian disebut sebagai karsinoma meduler



Kanker yang tumbuh dengan cepat, terutama karsinoma cenderung mengalami ulserasi dan permukaan nodul tumor dapat menjadi umbilikasi (cekung seperti pusar) akibat nekrosis iskemik.

Secara fungsional, pembuluh darah tumor tidak normal dan banyak yang bocor sehingga terjadi perdarahan dan edema. Setelah sel neoplastik diidentifikasi, penting untuk menentukan dari mana sel berasal (dari organ atau jaringan apa) dan seberapa agresif sel tersebut.

Dalam banyak kasus, garis keturunan sel neoplastik seringkali cukup jelas karena Neoplasia cenderung mereproduksi sel dan jaringan asli (hal ini berlaku untuk Neoplasia yang berdiferensiasi baik). Namun, proses ini bisa sangat menantang ketika tumor berdiferensiasi lebih cepat. Neoplasia yang terdiri dari sel-sel yang berdiferensiasi buruk sering disebut sebagai karsinoma atau sarkoma yang tidak berdiferensiasi, berdiferensiasi buruk, atau anaplastik. Anaplasia menyiratkan hilangnya fitur struktural dan sitologi normal, tingkat keganasan yang lebih tinggi, dan seringkali prognosis yang lebih buruk. Bahkan jika Neoplasia adalah

anaplastik, ia sering mempertahankan beberapa hal khusus sel internal yang dapat digunakan untuk mengungkapkan identitasnya.

Neoplasia tidak dapat tumbuh melebihi ukuran kepala peniti (1-2mm) kecuali menjadi vaskularisasi, Faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF) disekresikan oleh banyak jenis sel dan bekerja pada reseptor pada sel endotel untuk menginduksi pertumbuhan, migrasi, dan pembentukan pembuluh endotel dan Faktor pertumbuhan fibroblast dasar (bFGF) juga menginduksi pertumbuhan dan migrasi endotel.

Pertumbuhan pembuluh darah baru bergantung pada keseimbangan antara faktor perangsang dan penghambat. Tulang rawan, misalnya, menghasilkan faktor penghambat angiogenesis dan dengan demikian biasanya tidak diinvasi oleh tumor yang berkembang. Untuk alasan ini, osteosarkoma cenderung tidak melewati sendi.

Sifat pertumbuhan neoplastik tanpa henti. Begitu sebuah sel diubah menjadi sel neoplastik, sel itu tidak akan pernah normal lagi. Mekanisme pengendalian pertumbuhan yang ada pada sel normal terganggu secara permanen pada sel neoplastik.

Istilah "pertumbuhan aktif dan progresif" berlaku untuk neoplasia jinak dan ganas. Itu tidak berlaku untuk hiperplasia atau metaplasia karena sementara keduanya menunjukkan proliferasi sel yang abnormal, pertumbuhannya tidak progresif dan berhenti ketika stimulus yang memicu dihilangkan. Sebaliknya, sel-sel neoplastik terus membelah bahkan ketika penyebabnya dihilangkan. Neoplasia muncul dari sel yang berubah. Ini adalah sel-sel yang telah mengalami perubahan dalam susunan genetiknya yang mengakibatkan cacat pada jalur pengaturan yang mengontrol proliferasi sel, homeostasis dan diferensiasi sel normal. Akibatnya, morfologi jaringan normal hilang dan sejumlah kecil sel yang berubah menjadi sel

tumor yang berkembang biak dengan cepat. Setelah sel yang berubah membelah, mereka meneruskan warisan kepada keturunannya. Satu sel menjadi dua, dua sel menjadi empat, empat menjadi delapan, dan seterusnya, membentuk massa sel-sel yang identik secara identik – klon.

Beberapa sel ini mati karena apoptosis dan beberapa mungkin menjadi satu untuk berdiferensiasi dan berkembang biak secara perlahan, sementara yang lain berkembang biak dengan cepat. Tingkat penggandaan sel jinak relatif lambat. Namun, jika tidak diangkat, Neoplasia, bahkan yang jinak sekalipun, berpotensi menjadi sangat besar. Tingkat pertumbuhan jauh lebih cepat pada Neoplasia ganas. Keganasan menjadi besar lebih cepat daripada Neoplasia jinak. Ahli patologi mencari sel-sel yang membelah untuk menilai kecepatan pertumbuhan. Mereka menyebut sel-sel pembagi ini "figur mitosis". Banyak angka mitosis dapat dihitung dalam Neoplasia ganas; pada kebanyakan Neoplasia jinak mereka jauh lebih jarang. Saat Neoplasia jinak berkembang, mereka menekan jaringan di sekitarnya. Neoplasia jinak tidak menembus (menyerang) jaringan yang berdekatan saat tumbuh; mereka menekan ke jaringan sekitar. Pola pertumbuhan ini dikenal sebagai pertumbuhan ekspansil, seperti pemuaian balon. Saat kompresi terjadi, demarkasi terbentuk antara jaringan di sekitarnya dan Neoplasia. Kadang-kadang pita jaringan ikat berserat yang mengelilingi Neoplasia - sebuah kapsul - meningkatkan demarkasi. Pada operasi demarkasi memungkinkan pengangkatan lesi tanpa banyak kerusakan sekitarnya. Ketika mereka muncul dari beberapa permukaan (misalnya lapisan mulut), Neoplasia jinak sering tumbuh keluar dari permukaan, sebuah pola yang dikenal sebagai pertumbuhan exophytic.

Neoplasia jinak hampir tidak pernah menyerang jaringan di sekitarnya; mereka tidak pernah bermetastasis.

Ketika diperiksa di bawah mikroskop, Neoplasia jinak terdiri dari sel-sel neoplastik yang berdiferensiasi baik yang menyerupai jaringan asalnya; tidak ada anaplasia. Sel-sel Neoplasia jinak tetap menempel satu sama lain, mereka tidak berkeliaran. Karena kekompakannya, mereka tidak memasuki pembuluh darah atau limfistik untuk menyebar ke tempat lain. Karena sel mereka tidak bergerak, Neoplasia jinak bukanlah pembunuh hospes, sebaliknya Neoplasia ganas tumbuh dengan cepat dan memiliki kapasitas untuk menyerang jaringan di sekitarnya. Karena pola pertumbuhan invasif ini, mereka tidak dibatasi dengan baik dari jaringan sekitarnya - tidak ada bidang pembelahan dan tidak ada kapsul. Jika mereka muncul dari suatu permukaan.

Neoplasia ganas tumbuh kedalam menyerang jaringan di bawahnya, suatu pola yang disebut pertumbuhan endofit. Hampir semua Neoplasia memiliki kapasitas untuk bermetastasis. Pada pemeriksaan mikroskopis, Neoplasia ganas terdiri dari sel-sel yang tidak terdiferensiasi dengan baik anaplasia selalu ada. Neoplasia jinak hampir tidak pernah menyerang jaringan di sekitarnya; mereka tidak pernah bermetastasis. Ketika diperiksa di bawah mikroskop, Neoplasia jinak terdiri dari sel-sel neoplastik yang berdiferensiasi baik yang menyerupai jaringan asalnya; tidak ada anaplasia. Sel-sel Neoplasia jinak tetap menempel satu sama lain, mereka tidak berkeliaran. Karena kekompakannya, mereka tidak memasuki pembuluh darah atau limfistik untuk menyebar ke tempat lain. Karena sel mereka tidak bergerak, Neoplasia jinak tidak mematikan.

6.4 Metastasis

Metastasis adalah proses dimana Neoplasia primer menyebar untuk membentuk Neoplasia sekunder. Neoplasia sekunder ini tumbuh terpisah dari Neoplasia primer dan muncul dari sel-sel neoplastik yang terlepas dan diangkut. Metastasis mewakili ekspresi keganasan yang paling mematikan dan perhatian paling penting.

Kecenderungan Neoplasia ganas untuk menyebar jauh disebut metastasis (meta- = perubahan, -stasis = lokasi). Ingat, istilah tersebut tidak hanya mengacu pada proses penyebaran ke tempat yang jauh, tetapi juga pada Neoplasia sekunder itu sendiri. Metastasis tidak semudah kelihatannya. Sel-sel penyerang harus melintasi membran dasar dan mereka harus menyelip di antara sel-sel lapisan pembuluh. Saat berada di pembuluh darah, mereka harus menghindari, mengelak, atau Ketika sel-sel ganas menyebar melalui sistem limfatik, mereka dapat disaring dan terperangkap di kelenjar getah bening dan situs metastasis dapat dimulai di kelenjar getah bening regional. Sel-sel yang menyerang kemudian harus membalikkan proses dan keluar dari pembuluh darah ketika mereka tiba di tempat organ lain.

Sel-sel ganas dapat menyebar ke dalam dan sepanjang pembuluh limfatik dan vena. Karena limfatik dan vena berdinding tipis ditemukan hampir di mana-mana, tidak mengherankan jika sel yang menyerang menghadapinya relatif lebih awal. Ketika sel-sel ganas menyebar melalui sistem limfatik, mereka dapat disaring dan terperangkap di kelenjar getah bening dan situs metastasis dapat dimulai di kelenjar getah bening regional. Kadang-kadang keganasan yang berasal dari epitel usus dan ovarium dapat menembus dinding dan membran penutup luarnya (peritoneum).

Dalam kasus ini sel-sel ganas akan ditumpahkan ke dalam ruang peritoneal, rongga tubuh alami. Ketika ini terjadi,

sel-sel neoplastik dapat berpindah dari asalnya untuk ditanamkan pada permukaan lain di dalam rongga perut. Jarang, sel-sel ganas dapat menyebar ke dalam dan sepanjang arteri. Arteri memiliki dinding yang jauh lebih tebal daripada limfatik dan vena. Karena dindingnya tebal, metastasis tidak terlalu sering terjadi.

Sejauh ini pertimbangan terpenting dalam menentukan apakah metastasis akan terjadi adalah ukuran Neoplasia primer. Hal ini tidak bisa cukup ditekankan: semakin besar lesi primer, semakin besar kemungkinan terjadinya metastasis. Sebagai aturan praktis, keganasan berdiameter lebih dari satu sentimeter (sekitar sepeser pun) mungkin telah menginvasi jaringan di sekitarnya dan mungkin telah bermetastasis melalui limfatik ke kelenjar getah bening (regional) terdekat. Jika invasi dan metastasis ingin dicegah, lesi primer harus ditemukan pada tahap paling awal, tentunya sebelum berdiameter satu sentimeter.

Beberapa keganasan memiliki kekuatan luar biasa untuk bermetastasis; yang lain tidak. Osteosarkoma, Neoplasia ganas tulang, bermetastasis lebih awal. Di sisi lain, karsinoma sel skuamosa jarang bermetastasis. Ini berarti bahwa setiap jenis keganasan memiliki kapasitasnya sendiri untuk bermetastasis.

Sebuah gen telah ditemukan dalam sel neoplastik yang mengarahkan produksi protein yang tampaknya mencegah metastasis. Jika gen hilang atau rusak dan produk proteinnya tidak ada atau tidak mencukupi, metastasis lebih menonjol. Suatu hari nanti, mungkin, protein yang hilang atau gen yang rusak dapat diganti, mencegah metastasis dan kematian. Beberapa organ seringkali merupakan tempat metastasis yang umum; sementara organ yang lain tidak, disebut "organ yang tepat". Hati, paru-paru, otak, dan sumsum tulang adalah tempat metastasis yang umum; sementara jantung, limpa, dan ginjal tidak.

Sel-sel ganas dapat diangkut dalam aliran darah sebagai sel individu atau gumpalan sel. Gumpalan ini adalah sarana di mana metastasis yang ditularkan melalui darah terjadi. Ada paradoks di sini: gumpalan besar sel ganas (emboli neoplastik) lebih kecil kemungkinannya untuk menghasilkan koloni metastatik

daripada gumpalan kecil. Gumpalan besar sel ganas terlalu besar untuk melewati kapiler; perjalanan mereka dihentikan di bejana berdinding tebal ketika mereka cukup sempit untuk menjebak mereka. Di sisi lain, emboli neoplastik kecil terperangkap dalam pembuluh berdiameter lebih kecil dengan dinding lebih tipis; emboli neoplastik kecil memiliki peluang lebih baik untuk menembus pembuluh darah berdinding tipis tersebut.

Neoplasia paling sering masuk ke sistem vaskular melalui kapiler berdinding tipis, venua, dan limfatik. Metastasis pada gilirannya dapat menghasilkan lebih banyak metastasis (disebut metastasis sekunder). Sel-sel neoplastik metastatik mungkin tidak aktif selama bertahun-tahun kemudian tiba-tiba mulai tumbuh. Proses metastasis sangat tidak efisien dan hanya beberapa klon sel neoplastik yang deprogram secara biologis untuk menginvasi dan bermetastasis. Proses invasi dan metastasis disebut kaskade metastatik. Ini melibatkan interaksi penting dengan matriks ekstraseluler (membran dasar dan jaringan ikat interstisial). Tahapan metastasis sebagai berikut :

1. Invasi matriks ekstraseluler merupakan proses aktif yang ditunjukkan dalam beberapa langkah. Pelepasan sel tumor dari satu sama lain melalui regulasi penurunan molekul adhesi (misalnya, cadherin epitel). Infiltrasi lokal (invasi/penyebaran langsung)
2. Melalui pembuluh darah (kebanyakan vena, jarang arteri) Melalui limfatik Pembibitan di rongga tubuh (penyebaran/implantasi transcoelomic, karsinomatosis penempelan ke

komponen matriks melalui reseptor spesifik ke laminin membran dasar dan melalui integrin yang berfungsi sebagai reseptor ke banyak komponen ekstraseluler termasuk fibronektin.

3. Degradasi matriks ekstraseluler melalui sekresi enzim proteolitik yang diproduksi oleh sel tumor atau disekresikan oleh sel inang di bawah pengaruh sel tumor. Contohnya termasuk kolagenase tipe IV dan metaloproteinase lainnya.
4. Migrasi sel tumor-migrasi dipromosikan oleh dua kategori molekul:
 - a). Produk pembelahan dari matriks ekstraseluler (misalnya, kolagen, laminin)
 - b). Adhesi molekul pada permukaan sel epitel. Sel-sel tumor mendapatkan akses ke sirkulasi dengan menembus ruang sub mukosa vascular dan
 - c). Sel tumor berhenti di tempat yang jauh, menembus membran dasar pembuluh darah dan berinteraksi dengan matriks ekstraseluler

DAFTAR PUSTAKA

- Barnes JL, Zubair M, John K, Poirier MC, Martin FL. Carcinogens and DNA damage. *Biochem Soc Trans.* 2018 Oct 19;46(5):1213-1224. doi: 10.1042/BST20180519. Epub 2018 Oct 3. PMID: 30287511; PMCID: PMC6195640.
- Fares J, Fares MY, Khachfe HH, Salhab HA, Fares Y. Molecular principles of metastasis: a hallmark of cancer revisited. *Signal Transduct Target Ther.* 2020 Mar 12;5(1):28. doi: 10.1038/s41392-020-0134-x. PMID: 32296047; PMCID: PMC7067809.
- Seyfried TN, Huysentruyt LC. On the origin of cancer metastasis. *Crit Rev Oncog.* 2013;18(1-2):43-73. doi: 10.1615/critrevoncog.v18.i1-2.40. PMID: 23237552; PMCID: PMC3597235.
- Clark WH. Tumour progression and the nature of cancer. *Br J Cancer.* 1991 Oct;64(4):631-44. doi: 10.1038/bjc.1991.375. PMID: 1911211; PMCID: PMC1977704.
- Patel A. Benign vs Malignant Tumors. *JAMA Oncol.* 2020 Sep 1;6(9):1488. doi: 10.1001/jamaoncol.2020.2592. PMID: 32729930.
- Farc O, Cristea V. An overview of the tumor microenvironment, from cells to complex networks (Review). *Exp Ther Med.* 2021 Jan;21(1):96. doi: 10.3892/etm.2020.9528. Epub 2020 Nov 26. PMID: 33363607; PMCID: PMC7725019.

BAB 7

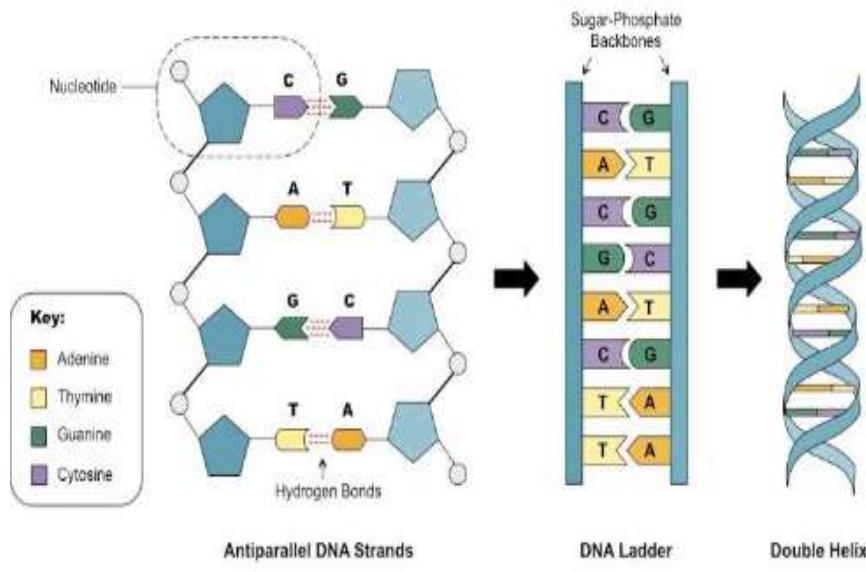
ANALISIS DNA

Oleh Nurul Azmah Nikmatullah

7.1 Pendahuluan

Deoxyribo Nucleic Acid (DNA) adalah suatu makro molekul yang tersusun atas nukleotida, yang berfungsi sebagai molekul dasar pembawa sifat gen. Basa nukleid terdiri dari sub unit kecil yaitu kumpulan fosfat, gula pentosa, gula ribosa dan deoksiribosa serta basa nitrogen purin dan pirimidin. Komponen basa nitrogen pada DNA terdiri dari *adenine* (A), *cytosine* (C), *guanine* (G), *thymine* (T), DNA terbentuk dari empat nukleotida yang berikatan secara kovalen membentuk rantai polinukleotida, dimana basa – basa akan melekat pada tulang punggung gula – fosfat. Dua rantai polinukleotida saling berikatan melalui ikatan hidrogen antara basa – basa nitrogen pada rantai yang berbeda. Basa purin (A-T) akan berpasangan dengan pirimidin (G-C) . Adenin (A) berikatan hidrogen dengan timin (T), sedangkan guanine (G) berikatan dengan sitosin (C). DNA terdiri atas dua untai yang berpilin yang membentuk struktur heliks ganda yang berfungsi sebagai penyusun materi genetik. Struktur DNA dapat dilihat pada gambar 7.1 (Ernawati et al, 2014; Anisa et al, 2016).

Analisis DNA dimulai dengan mengisolasi DNA dari sampel kemudian dilanjutkan dengan pengukuran kemurnian dan konsentrasi DNA. DNA hasil ekstraksi selanjutnya dilanjutkan ke metode amplifikasi DNA (Hadi et al, 2022).



Gambar 7.1. Struktur DNA (*Deoxyribo Nucleic Acid*)
 (Sumber: Asypini, 2019)

7.2 Ekstraksi DNA (*Deoxyribo Nucleic Acid*)

Ekstraksi DNA merupakan metode pemurnian DNA dengan menggunakan metode fisik dan atau metode kimia dalam memisahkan DNA dari membran sel, protein, dan komponen seluler lain dari sampel. Proses ekstraksi akan memisahkan molekul DNA dengan molekul lainnya seperti lemak, karbohidrat, protein, RNA dan lain – lainnya. Terdapat beberapa tahapan dalam metode ekstraksi DNA yaitu penghancuran (lisis) dinding sel, pemisahan DNA dari molekul lain dan pemurnian DNA (Nalini, 2019; Corkill & Rapley, 2008).

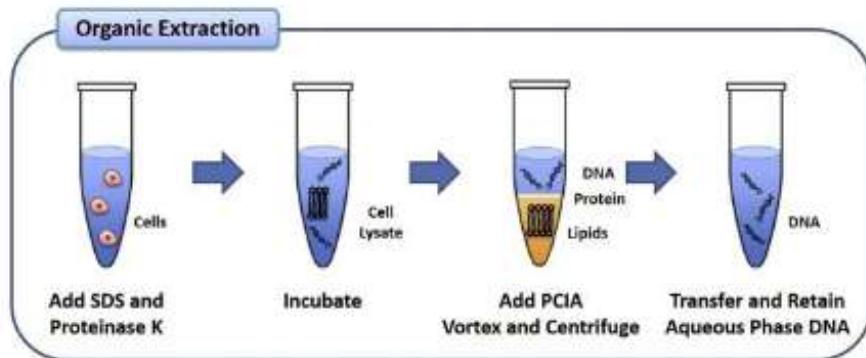
Tahapan pertama pada proses metode ekstraksi adalah penghancuran (lisis) dinding sel, proses ini bertujuan untuk menghancurkan membran dan dinding sel sehingga bagian dalam sel keluar. Tahapan kedua adalah pemisahan DNA dari protein, karbohidrat dan lemak. Tahapan akhir dari metode ekstraksi DNA adalah pemurnian DNA, proses ini bertujuan untuk menghilangkan sisa – sisa zat/larutan yang digunakan pada proses ekstraksi. Komponen reagen yang digunakan pada metode ini antara lain (Hutami et al, 2018):

1. Buffer lisis yang berfungsi untuk mengikat protein membran sehingga membran sel bocor dan sel pecah. Buffer ini bersifat hidrofobik sehingga dapat memisahkan protein dan senyawa lain dari DNA/RNA
2. Interphase (fenol – based), filter dan bead – charge yang bersifat hidrofilik sehingga dapat mengikat DNA/RNA.
3. Buffer wash yang berfungsi untuk mencuci sisa – sisa pecahan sel selain DNA/RNA. Buffer ini bersifat hidrofobik sehingga dapat memisahkan sisa – sisa pecahan sel dari DNA/RNA
4. Buffer elusi yang berfungsi untuk melepaskan DNA/RNA dari filter atau bead – charge. Buffer ini bersifat lebih hidrofilik sehingga dapat melepaskan DNA/RNA.

7.2.1 Metode Phenol Chloroform Isoamly Alcohol (PCIA)

Metode *Phenol Chloroform Isoamly Alcohol* (PCIA) merupakan metode yang menggunakan larutan fenol, kloroform dan isoamil – alkohol sebagai reagen dalam proses ekstraksi DNA. Kelebihan dari metode ini adalah DNA yang diperoleh terpisah dengan baik dan terlihat jelas sehingga mudah untuk dipisahkan sedangkan kekurangannya adalah larutan fenol dan larutan kloroform bersifat beracun dan karsinogenik sehingga dapat menyebabkan gangguan saluran pernapasan dan dalam jangka panjang dapat menyebabkan kematian. Proses ekstraksi metode

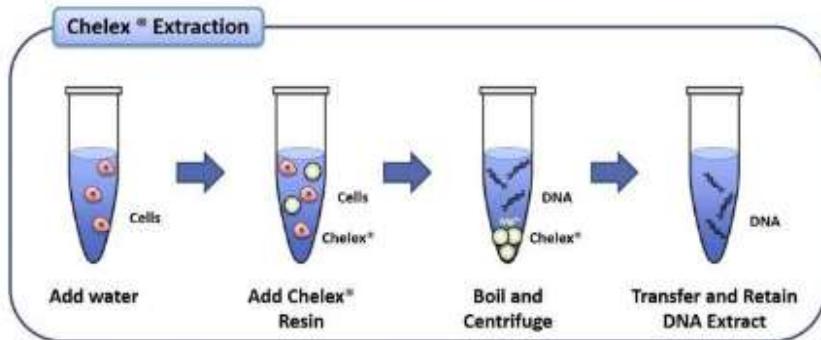
Phenol Chloroform Isoamly Alcohol (PCIA) dapat dilihat pada gambar 7.2 (Gross Bellard et al, 1973; Matsunaga et al, 1999; Strauss, 1998).



Gambar 7.2. Metode *Phenol Chloroform Isoamly Alcohol* (PCIA)
(Sumber: Dilley, 2019)

7.2.2 Metode *Ion Exchange* Resin Chelex

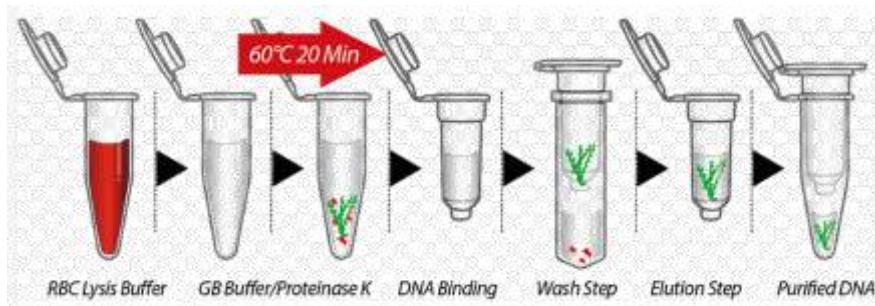
Metode *Ion Exchange* Resin Chelex merupakan metode ekstraksi DNA yang menggunakan suspensi chelating resin sebagai reagen dan menerapkan pemanasan dan sentrifugasi pada tahapan ekstraksinya. Pemasan dilakukan untuk melisiskan sel, kemudian dilanjutkan dengan sentrifugasi untuk mengendapkan molekul lain, resin pada larutan sampel akan mengikat ion logam polivalen (Magnesium) sehingga degradasi DNA dapat dicegah. Kelebihan dari metode ini adalah jumlah DNA yang relatif tinggi dan minim kontaminasi dikarenakan dikerjakan dalam 1 tabung sedangkan kekurangan dari metode ini adalah DNA yang diperoleh kurang murni dikarenakan adanya inhibitor dan pengotor chelex yang tersisa. Proses ekstraksi metode *Ion Exchange* Resin Chelex dapat dilihat pada gambar 7.3 (Dilley, 2019).



Gambar 7.3. Metode *Ion Exchange Resin Chelex*
 (Sumber: Dilley, 2019)

7.2.3 Metode Double Spin Coloumn

Metode *Double Spin Coloumn* merupakan metode ekstraksi DNA yang menggunakan membran silika dalam proses ekstraksinya. Metode ini menambahkan buffer lisis dan proteinase K pada proses ekstraksinya, kedua buffer berfungsi untuk melisiskan membran sel dan menghancurkan protein. DNA yang keluar dari sel akan diikat oleh membran silika, sehingga pada proses pencucian molekul lain selain DNA akan terbuang bersama dengan larutan pencuci. DNA akan terlepas dari membran silika setelah penambahan buffer elusi dikarenakan buffer elusi bersifat lebih hidrofilik. Kelebihan dari metode ini adalah diperoleh DNA dengan kemurnian yang tinggi, dibandingkan dengan metode *Phenol Chloroform Isoamly Alcohol* (PCIA) dan metode *Ion Exchange Resin Chelex*. Proses ekstraksi metode *Double Spin Coloumn* dapat dilihat pada gambar 7.4 (Dilley, 2019).

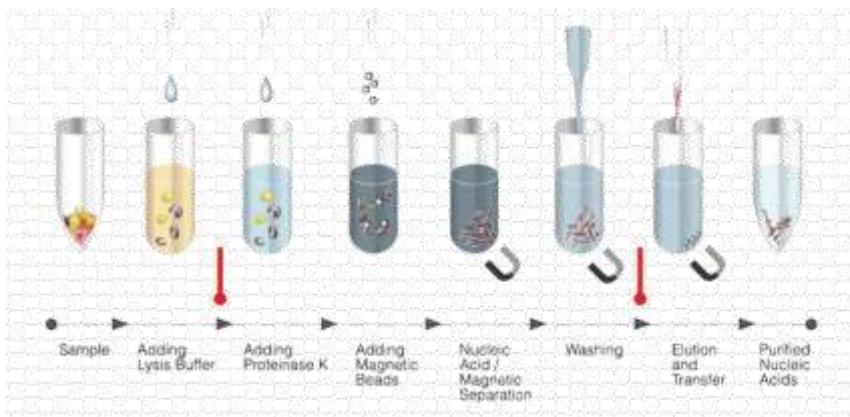


Gambar 7.4. Metode Double Spin Coloumn

(Sumber: <https://www.pngwing.com>)

7.2.4 Metode Magnetic Bead - charge

Metode magnetic Bead - charge merupakan metode ekstraksi DNA yang menggunakan magnetic beads dalam proses ekstraksinya. Metode ini menambahkan buffer lisis dan proteinase K pada proses ekstraksinya, kedua buffer berfungsi untuk melisikkan membran sel dan menghancurkan protein. DNA yang keluar dari sel akan diikat oleh magnetic beads, sehingga pada proses pencucian molekul lain selain DNA akan terbuang bersama dengan larutan pencuci. DNA akan terlepas dari magnetic beads setelah penambahan buffer elusi dikarenakan buffer elusi bersifat lebih hidrofilik. Kelebihan dari metode ini adalah diperoleh DNA dengan kemurnian yang tinggi sedangkan kekurangan dari metode ini adalah sisa - sisa magnetic beads dapat menjadi inhibitor. Proses ekstraksi metode magnetic Bead - charge dapat dilihat pada gambar 7.5 (Hin et al, 2022).



Gambar 7.5. Metode Magnetic Bead - charge
 (Sumber: <https://www.pngwing.com>)

7.2.5 Kemurnian dan Konsentrasi DNA

Kemurnian dan konsentrasi DNA dapat diukur dengan menggunakan spektrofotometer nanodrop. Panjang gelombang yang digunakan adalah 260 nm dan 230 nm. Panjang gelombang 260 nm akan mengukur DNA sedangkan panjang gelombang 230 nm akan mengukur kontaminan (protein atau fenol). Nilai kemurnian DNA dihitung dengan membagi nilai absorbansi 260 nm dengan nilai absorbansi 280 nm ($\lambda 260 / \lambda 280$). Nilai kemurnian yang baik berkisar 1.8 – 2.0, bila nilai kemurnian dibawah 1.8 maka terdapat kontaminasi protein sedangkan bila nilai kemurnian diatas 2.0 maka terdapat kontaminasi RNA. Nilai kemurnian dan konsentrasi DNA dapat dipengaruhi oleh sampel, metode ekstraksi dan kit ekstraksi yang digunakan (Thermo Fisher Scientific, 2012; Dayanti et al, 2019; Kartini, 2012; Teare et al, 1997).

7.3 Teknik Analisis DNA

Deoxyribo Nucleic Acid (DNA) dapat dianalisis menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). PCR merupakan sebuah teknologi yang dapat melipatgandakan fragmen DNA menjadi 2^n kali secara enzimatis. Terdapat beberapa jenis PCR antara lain: PCR konvensional, Real Time PCR, Nested PCR, Reverse Transcription PCR, digital droplet PCR (Suchman, 2016; Sunaryo *et al*, 2022; Green & Sambrook, 2020; Farkas & Holland, 2009; Nugroho *et al*, 2021).

7.3.1 PCR Konvensional

PCR konvensional adalah salah satu jenis metode PCR yang melibatkan beberapa tahapan berulang (siklus) dan pada setiap tahapan terjadi duplikasi target DNA. Dalam metode ini dibutuhkan beberapa komponen dalam prosesnya yaitu *template*/ cetakan DNA, enzim DNA polimerase tahan panas, primer (*forward* primer dan *reverse* primer), dNTP (dATP, dTTP, dCTP, dGTP), kofaktor MgCl₂, larutan penyanga dan NFW (*Nuclease Free Water*). Terdapat tiga tahapan dalam proses PCR yaitu denaturasi, anneling, dan extention, tahapan – tahapan ini akan berulang sebanyak 25 – 30 kali (siklus). Proses PCR dapat dilihat gambar 9.6 (Budiarto, 2015; Suchman, 2016; Yusuf, 2010).

1. Pra denaturasi

Pra denaturasi merupakan tahapan awal pada metode PCR. Tahapan ini berlangsung selama 1 – 2 menit pada suhu 92 - 98 °C dengan 1 siklus. Tahapan ini berfungsi untuk memisahkan *double helix DNA template* menjadi *single*.

2. Denaturasi

Denaturasi merupakan tahapan lanjutan dari tahapan pra denaturasi, dimana pada tahapan ini *double helix DNA template* menjadi *single*. Tahapan ini berlangsung selama 30 detik – 1 menit (tergantung kit yang digunakan) pada suhu 92 – 98°C dengan siklus berulang selama 25 – 30 siklus.

3. Annealing (Penempelan primer)

Annealing merupakan tahapan lanjutan dari tahapan denaturasi, dimana pada tahapan ini kedua primer (*forward* primer dan *reverse* primer) akan menempel pada rantai DNA target. Tahapan ini berlangsung selama 30 – 45 detik pada suhu 37 – 65°C dengan siklus berulang selama 25 – 30 siklus.

4. Extension (Pemanjangan primer)

Extension merupakan tahapan lanjutan dari tahapan annealing. Pada tahapan ini enzim DNA polimerase akan memperpanjang DNA primer dari ujung 3'. Tahapan ini berlangsung selama 1 menit pada suhu 72°C dengan siklus berulang selama 25 – 30 siklus, dalam waktu satu detik diperkirakan terdapat 35 – 100 nukleotida yang tersusun.

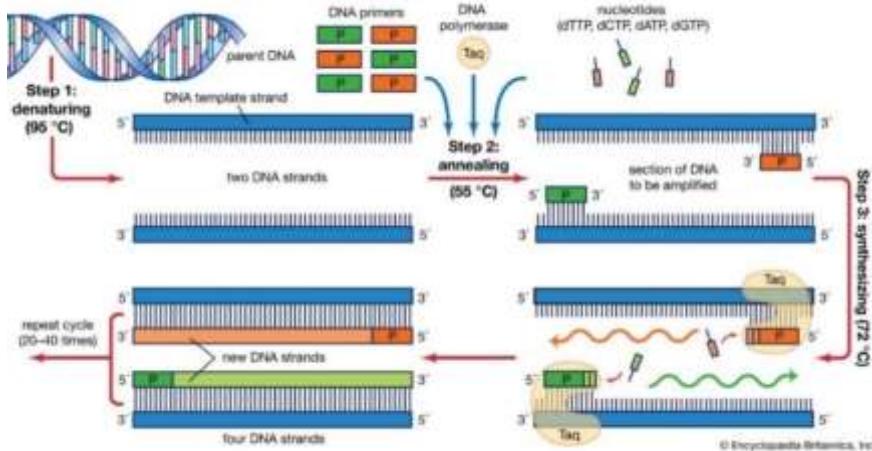
5. Post – extension

Post – extension merupakan tahapan akhir pada proses PCR setelah tahapan denaturasi, annealing dan extention berulang hingga 25 – 30 siklus. Tahapan ini berlangsung 5 menit pada suhu 72°C dengan satu siklus. Pada tahap ini diharapkan semua produk PCR terbentuk menjadi DNA untai ganda.

Produk PCR (DNA) dapat diidentifikasi melalui ukurannya dengan menggunakan elektroforesis gel agarosa. Metode ini dimulai dengan meletakkan gel agarose pada wadah elektroforesis yang telah berisi larutan *buffer* garam setelah itu DNA dimasukkan kedalam sumur gel agarose kemudian alat disambungkan ke aliran listrik. Adanya gugus fosfat pada DNA menyebabkan DNA bermuatan negatif sehingga posisi sumur gel agarose diletakkan di area kutub elektroda negatif pada wadah elektroforesis. Saat aliran listrik mengalir dalam gel agarose, DNA akan bergerak ke arah kutub elektroda positif. Pergerakan kecepatan DNA dalam gel agarose dipengaruhi oleh ukuran dari fragmen DNA. Fragmen DNA yang berukuran kecil akan cepat bergerak menuju kutub elektroda positif dikarenakan molekul DNA akan mudah melewati pori – pori

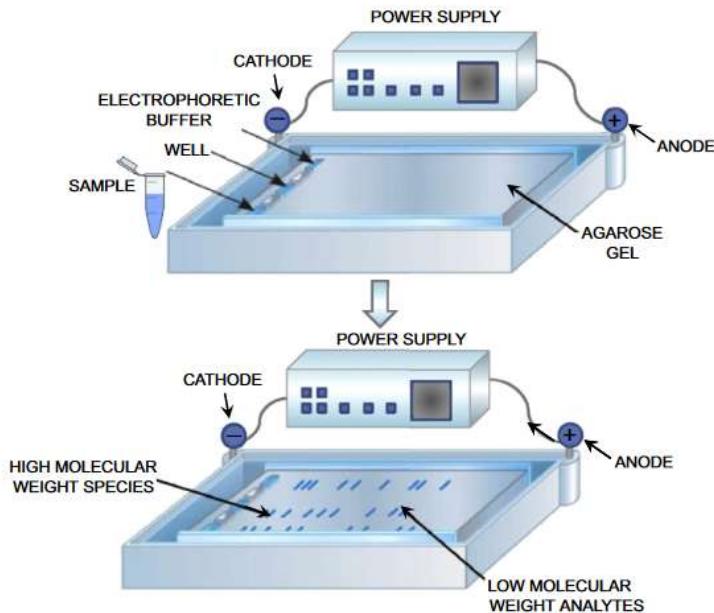
gel agarose sedangkan fragmen DNA yang berukuran besar akan melambat bergerak menuju kutub elektroda positif dikarenakan hambatan dari pori – pori gel agarose yang kecil. Tahapan – tahapan elektroforesis dapat dilihat pada gambar 9.7 (Adhiyanto et al, 2020; Yusuf, 2010; Budiarto, 2015).

Kelebihan dari gel agarose adalah mampu memisahkan DNA mulai dari 70 pb (pasangan basa) hingga 800.000 pb dan lokasi DNA pada gel dapat diamati secara insitu dengan menggunakan staining gel sebagai pewarna. Staining gel akan menginterkalasi (menyisip ke dalam) DNA. Penggunaan staining gel bertujuan untuk membantu visualisasi, dimana staining gel akan memendarkan sinar ultraviolet. Jika gel disinari dengan ultraviolet dari bawah maka akan tampak pendaran berupa pita – pita pada gel (gambar 7.8). (Adhiyanto et al, 2020; Yusuf, 2010; Budiarto, 2015).

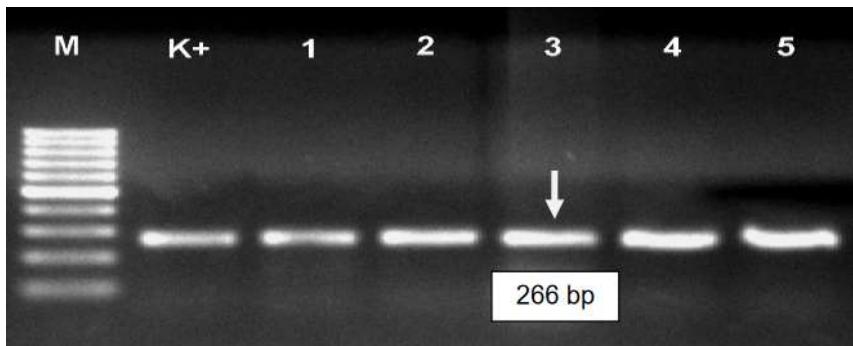


Gambar 7.6. Tahapan – tahapan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

(Sumber: Encyclopaedia Britannica, 2023)



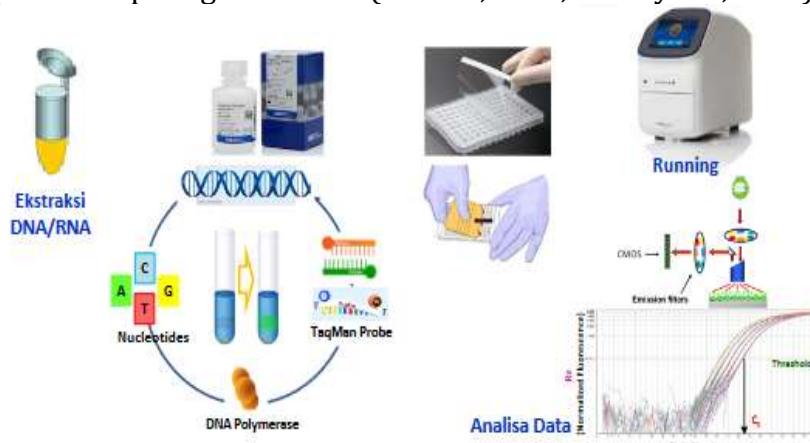
Gambar 7.7. Tahapan – tahapan elektroforesis gel agarose
 (Sumber: Drabik et al, 2016)



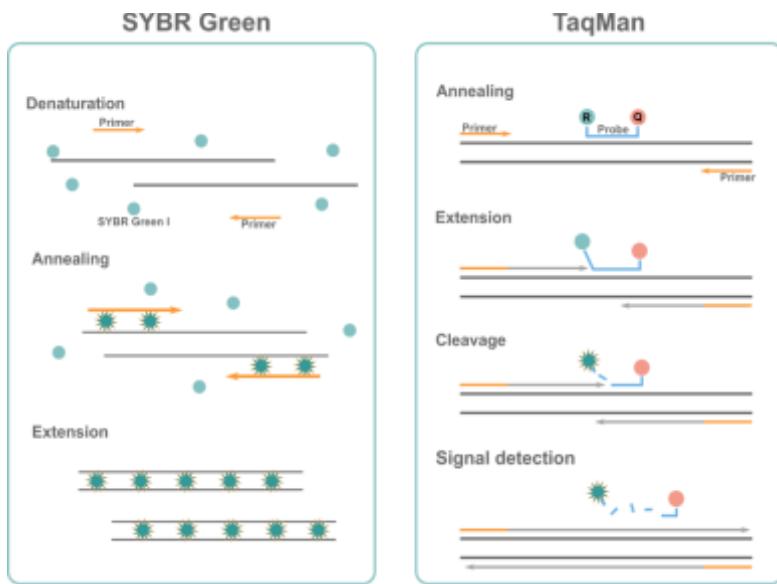
Gambar 7.8 .Hasil visualisasi elektroforesis (Kode M: DNA marker, K+: kontrol positif PCR, 1 – 5: DNA sampel)
 (Sumber: Nikmatullah, 2015)

7.3.2 Real Time PCR

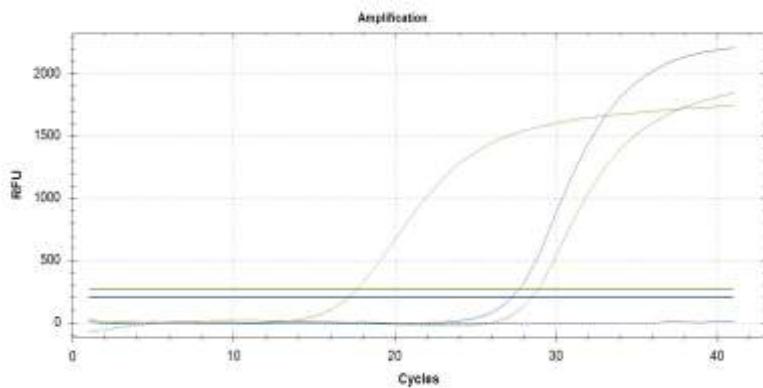
Real time PCR merupakan salah satu jenis metode PCR. Tahapan proses amplifikasi pada *Real Time* PCR sama dengan PCR konvensional, namun pada *real time* PCR hasil amplifikasi target DNA dapat dideteksi secara real – time sepanjang siklus PCR, dikarenakan penggunaan reagen yang berfluoresen (TaqMan probe – based atau non – probe SYBR Green). Emisi fluoresens akan setara dengan jumlah amplikon target yang dihasilkan. Emisi fluoresens akan dideteksi oleh sistem detektor dan diubah oleh software menjadi data berupa nilai C_t (C_q) dan Quantity (gambar 7.9). Fluoresens yang biasa digunakan pada *real time* PCR adalah fluoresens berbasis TaqMan probe dan fluoresens non probe (SYBR Green). Perbedaan TaqMan probe dan SYBR green dapat dilihat pada gambar 7.10 dan contoh hasil amplifikasi real time PCR dapat dilihat pada gambar 7.11 (Ridwan, 2008; Desilliyarni, 2023).



Gambar 7.9. Alur pelaksanaan metode *Real Time* PCR
(Sumber: Desilliyarni, 2023)



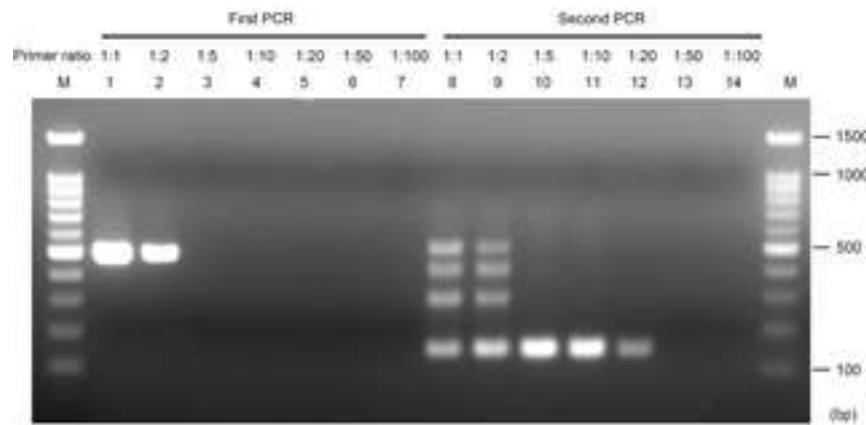
Gambar 7.10. Perbedaan SYBR Green dan TaqMan probe
(Sumber: Mészáros, 2022)



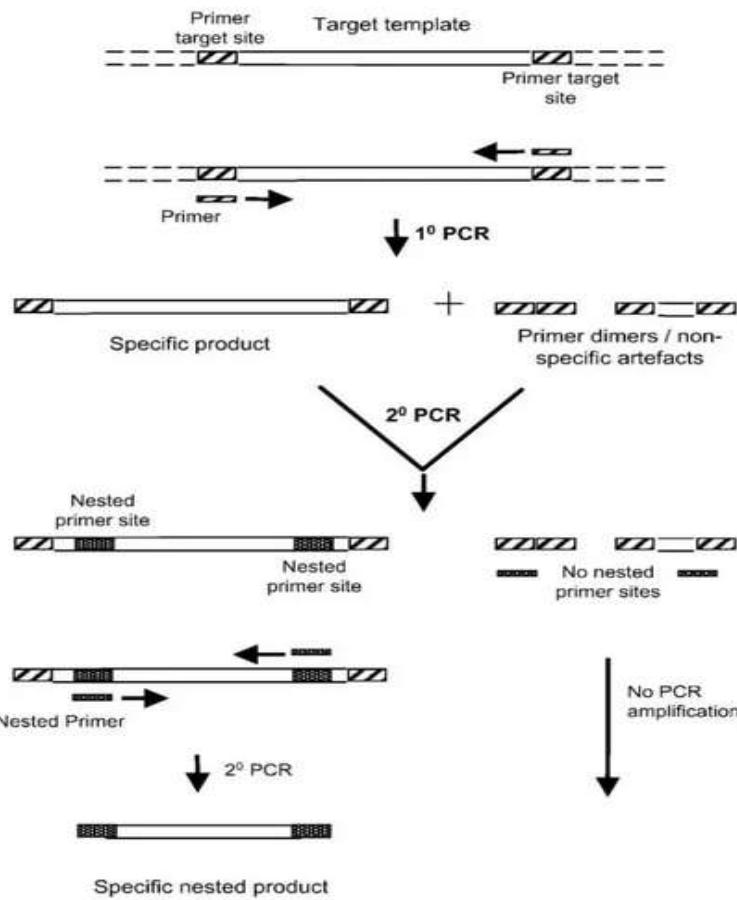
Gambar 7.11. Kurva amplifikasi Real Time PCR
(Sumber: Dokumentasi pribadi)

7.3.4 Nested PCR

Nested PCR adalah salah satu jenis metode PCR. Metode ini bertujuan untuk mengurangi kontaminasi selama proses annealing dan mengurangi extension primer yang tidak diperlukan, sehingga rantai hasil amplifikasi lebih pendek dari sebelumnya. Pada metode ini digunakan dua set primer (outer primer dan inner primer atau *nested* primer). Proses amplifikasi terjadi dua kali, amplifikasi pertama menggunakan outer primer dengan template DNA sampel kemudian hasil produk PCR pertama (template DNA) diamplifikasi kembali menggunakan inner primer. Contoh hasil *nested* PCR dapat dilihat pada gambar 7.12 dan tahapan *nested* PCR dapat dilihat pada gambar 7.13 (Tankeshwar, 2022; Chung et al, 2022; Yusuf, 2010).



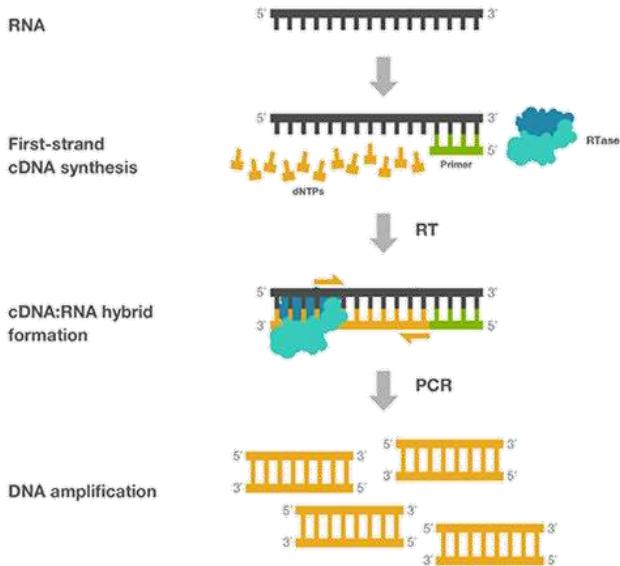
Gambar 7.12. Hasil amplifikasi metode nested PCR
(Sumber: Chung et al, 2022)



Gambar 7.13. Tahapan nested PCR
 (Sumber: Tankeshwar, 2022)

7.3.5 Reverse Transcription PCR

Reverse transcription PCR adalah salah satu jenis metode PCR yang digunakan dalam amplifikasi, isolasi dan identifikasi sekuen dari RNA. Pada metode ini RNA diubah menjadi cDNA dengan bantuan enzim reverse transcriptase (gambar 7.14) (Farkas & Holland, 2009; Yusuf, 2010).



Gambar 7.14. Tahapan Metode Reverse transcription PCR
 (Sumber: Kumar, 2021)

7.3.6 Digital droplet PCR

Digital droplet PCR (ddPCR) adalah salah satu metode PCR yang terbaru. Metode ini diklaim memiliki keunggulan dibanding teknik qPCR. Prinsip kerja dari metode ini adalah sampel dibagi menjadi molekul – molekul kecil yang dipisahkan oleh emulsi minyak, air dan senyawa penstabil sehingga membentuk droplet. Kelebihan dari teknik ini antara lain: mampu melakukan kuantifikasi absolut maupun relative pada DNA yang memiliki konsentrasi sangat rendah, tidak memerlukan kurva standar, serta tidak sensitive terhadap senyawa inhibitor (Nugroho et al, 2021).

DAFTAR PUSTAKA

- Adhiyanto, C., et al. 2020. *Pengenalan Dasar Teknik Bio – Molekuler*. Deepublish
- Anisa, et al. 2016. *Analisis Hidden Markov Model untuk Segmentasi Barisan DNA*. Jurnal Matematika, Statistika & Komputasi, Vol. 13, No.1, 55 - 65
- Asypini, Y. 2019. *Substansi Genetika*. e - Modul Biologi. Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Dasar dan Menengah Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Atas
- Budiarto, B. R. 2015. *Polymerase Chain Reaction (PCR): Perkembangan dan Perannya dalam Diagnostik Kesehatan*. BioTrenda, Vol. 6 No. 2
- Chung, P. C., et al. 2020. *Development of a nested PCR assay for detecting *Colletotrichum siamense* and *Colletotrichum fructicola* on symptomless strawberry plants*. PLOS ONE 17(6): e0270687
- Corkill, G., & Rapley, R. 2008. *The Manipulation of Nucleic Acids Basic Tools and Techniques* in J. M. Walker & R. Rapley (Eds.), *Molecular Biomethods Handbook Second Edition*. Humana Press, Totowa. Hlm. 3-15
- Dayanti, F. G., et al. 2019. *Perbandingan Nilai Pengukuran Kuantitatif Hasil Ekstraksi DNA *Salmonella Typhi* Menggunakan Metode Boiling, NaOH, Kit Komersial*. Jurnal Riset Kesehatan. Vol 11 (No. 1). Hlm. 1-8.
- Desilliyarni, T. 2023. *Prinsip Pengujian DNA Porcine (*Sus Scrofa*) menggunakan Real Time PCR (qPCR) dan Troubleshooting*. Workshop Pengujian DNA pada Real-Time PCR untuk Mendukung Sistem Jaminan Produk Halal. LPPOM MUI

- Dilley, K. 2019. Optimising Silica - Based Solid Phase DNA Extraction Methods For Low Concentration Forensic Samples. Thesis. The School of Veterinary and Life Sciences Murdoch University
- Drabik, A., et al. 2016. *Gel Electrophoresis. Proteomic Profiling and Analytical Chemistry*. Elsevier B.V
- Encyclopaedia Britannica. 2023. *Polymerase Chain Reaction*. <https://www.britannica.com/science/polymerase-chain-reaction>
- Ernawati, et al. 2014. *Implementasi Algoritma Smith – Waterman Pada Local Alignment dalam Pencarian Kesamaan Pensejajaran Barisan DNA (Studi Kasus: DNA Tumor Wilms)*. Jurnal Pseudocode, Vol. 1 Nomor 2, Hal 170 – 177
- Farkas, D. H. & Holland, C. A. 2009. *Overview of Molecular Diagnostic Techniques and Instrumentation*. Cell and Tissue Based Molecular Pathology. Pages 19 - 32
- Green, M. R. & Sambrook, J. 2019. *Nested Polymerase Chain Reaction (PCR)*. Cold Spring Harb Protoc. 2019 Feb 1; 2019(2)
- Hutami, R., et al. 2018. *Ekstraksi DNA dari Daging Segar untuk Analisis dengan Metode Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) DNA*. Jurnal Agroindustri Halal. Vol 4 (No. 2). Hlm. 209-215
- Hin, et al. 2022. *Magnetophoresis in Centrifugal Microfluidics at Continuous Rotation for Nucleic Acid Extraction*. Micromachines, 13, 2112
- Kartini, R. A. 2012. *Karakterisasi Molekuler Padi Transgenik Dengan Beberapa Metode Isolasi DNA*. Skripsi. Fakultas MIPA IPB, Bogor. Hlm. 11
- Kumar, V. 2021. *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT - PCR)*. Microbiologi <https://microbiologynotes.org/reverse-transcription-polymerase-chain-reaction-rt-pcr/>

- Mészáros, E. 2022. *qPCR: How SYBR Green and TaqMan real time PCR assays work*. Molecular Biology. <https://www.integribiosciences.com/japan/en/blog/article/qpcr-how-sybr-green-and-taqmanr-real-time-pcr-assays-work>
- Nalini, G. 2019. *DNA Extraction and Polymerase Chain Reaction*. Journal of Cytology. Vol 36 (No. 2). Hlm. 116-117
- Nikmatullah, N. A. 2015. *Prevalensi Infeksi Human Papillomavirus (HPV) Pada Wanita dengan Kelainan Ginekologi di Makassar*. Tesis. Universitas Hasanuddin
- Nugroho, K, et al. 2021. *Pemanfaatan Teknologi Droplet Digital PCR (ddPCR) dalam Kegiatan Analisis Molekuler Tanaman*. Jurnal Bios Logos. Vol. 11 (No.1). Hlm 28 - 40
- Ridwan, R. 2008. *Mengenal Alat Analisa Molekuler; DNA Sequencing, DNA Microarray, dan Real Time Polymerase Chain Reaction (RT - PCR)*. BioTrends Vol. 3 No. 1
- Suchman, E. 2011. *Polymerase Chain Reaction Protocol*. American Society for Microbiology
- Sunaryo, H., et al. 2022. *Deteksi Cemaran Tikus pada Sampel Sosis dengan Real Time PCR*. Farmasains Vol. 9 No. 2
- Tankeshwar, A. et al. 2022. *Nested PCR: Principle and Applications*. Molecular Biology. https://microbeonline.com/nested-pcr-principle-applications/?utm_content=anc-true
- Teare, J. M., et al. 1997. *Measurement of Nucleic Acid Concentrations Using the DyNa QuantTM and the GeneQuantTM*. BioTechniques. Vol 22 (No. 6). Hlm. 1170–1174
- Thermo Fisher Scientific. 2012. *Thermo Scientific NanoDrop Products NanoDrop Lite User Guide*. Thermo Fisher Scientific Inc. Wilmington. Hlm. 1-30
- Yusuf, Z. K. 2010. *Polymerase Chain Reaction (PCR)*. Saintek Vol. 5, No. 6.

BAB 8

PENGANTAR IMUNOLOGI

Oleh Meri

8.1 Pendahuluan

Tubuh kita memiliki sistem kekebalan terhadap infeksi atau substansi yang dianggap asing. Sistem kekebalan tersebut memiliki 2 jenis yang paling mendasar, diantaranya sistem kekebalan alami dan sistem kekebalan adaftif. Kedua sistem ini mmiliki hubungan yang sangat erat dan saling berkoordinasi pada saat infeksi itu berlangsung. Jika terjadi kekurangan dari salah satu atau beberapa atau bahkan berlebihan komponen sistem pertahanan tubuh, maka akan menimbulkan dampak yang merugikan bagi individu, sehingga dinamakan adanya kelainan sistem kekebalan tubuh. Beberapa kelainan tersebut diantaranya respons imun yang tidak efektif (imunodefisiensi), reaksi yang tidak tepat terhadap diri sendiri (autoimun) dan respons imun yang terlalu aktif (hipersensitivitas)(Abbas, Lichtman and Pillai, 2021)(Marshall *et al.*, 2018). Semua yang berkaitan dengan respon imun ini tidak terlepas dari adanya antigen yang akan direspon oleh salah satunya antibodi, yang akan memberikan reaksi kompleks antigen antibodi yang dapat terdeteksi oleh alat ukur tergantung dari jenis pemeriksaannya. Pada subab ini akan menguraikan pejelasan mengenai imunologi, komponen antigen, antibodi, respon imun, toleransi imunologi, kelainan sistem imun dan apa saja parameter pemeriksaannya.

8.2 Sistem Kekebalan Tubuh

Sistem kekebalan tubuh (dari bahasa Latin *immunis* = tidak pasti, gratis) adalah sistem pertahanan manusia yang hampir ada di mana-mana yang dapat disesuaikan dengan kondisi eksternal dan terutama dimaksudkan untuk mencegah kerusakan oleh patogen. Selain itu, ia mampu mengenali dan menghancurkan sel-sel endogen yang rusak (Müller-Ladner, 2022). Jaringan imunologi dalam tubuh terdiri dari:

1. Organ utama (misalnya limpa),
2. Organ yang menyebarluaskan (kelenjar getah bening),
3. Jenis sel yang berbeda (misalnya limfosit) dan
4. Molekul pensinyalan ekstra dan intraseluler dan kompleks pensinyalan, misalnya:
 - a. Sitokin,
 - b. Inflamasomes dan
 - c. "perangkap ekstraseluler neutrofil" atau "*neutrophil extracellular traps*" (NET)

8.2.1 Antigen Antibodi

1. Antigen

Antigen adalah substansi atau benda asing atau sel mikroorganisme yang dapat menimbulkan suatu respon imun (Abbas, Lichtman and Pillai, 2021)

2. Antibodi

Selain pembawa pesan imunologi (biasanya sitokin dan kemokin), antibodi bertanggung jawab utama untuk sistem kekebalan tubuh. Antibodi IgG yang khas adalah dalam bentuk Y, di mana bagian "atas" bervariasi dan berikatan dengan antigen, bagian "bawah" dapat mengikat sel dan pembuluh, selanjutnya mengaktifkan respons imun. Secara fisiologis, antibodi memiliki beberapa fungsi di satu sisi, **neutralisasi** pengikatan dan fungsional sel non-endogen atau degenerasi dan agen berbahaya (protein,

gula, racun, dll.). Di sisi lain, apa yang disebut **opsonisasi**, "**visualisasi**" antigen untuk sel fagositik. Selain itu, sistem komplemen diaktifkan, yang kemudian membentuk **kompleks serangan** membran yang melubangi membran sel patogen (Müller-Ladner, 2022).

8.2.2 Klasifikasi Sistem Imun

1. Sistem Imun Alami

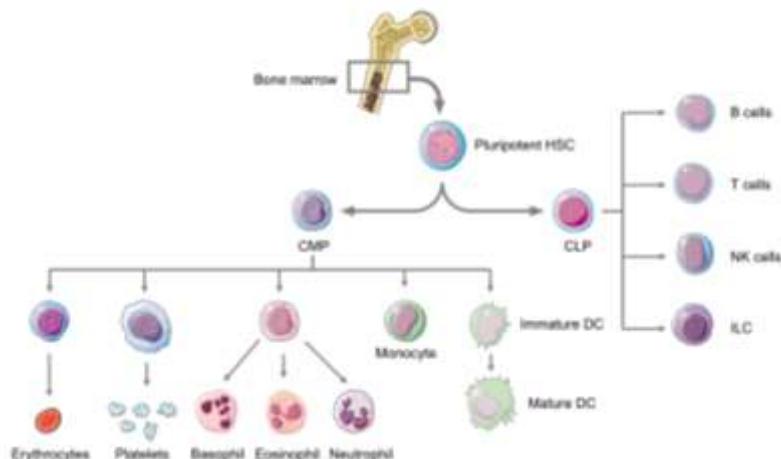
Sistem imun ini terdiri dari empat pertahanan yaitu anatomi tubuh paling luar (kulit dan selaput lendir), fisiologi tubuh (seperti pH rendah, suhu dan bahan kimia), endosit dan fagositosis, serta inflamasi. Tabel 8.1. merangkum mekanisme pertahanan inang non-spesifik terhadap masing-masing pertahanan. Sistem imun alami bagi mikroorganisme asing bergantung pada suatu reseptor pengenal pola atau *pattern recognition receptors* (PRR) yang dapat mengenali atau merespons secara cepat bermacam-macam patogen yang mempunyai karakteristik secara umum, yang dinamai pola molekuler terkait pathogen atau *pathogen associated molecular patterns* (PAMPs). Contohnya termasuk komponen dinding sel bakteri seperti lipopolisakarida (LPS) dan asam ribonukleat beruntai ganda (RNA) yang diproduksi selama infeksi virus (Moutsopoulos and Zampeli, 2020).

Tabel 8.1. Rangkuman Pertahanan sistem imun non-spesifik

Pertahanan	Mekanisme
Anatomi	
Kulit	<ol style="list-style-type: none"> 1. Penghalang mekanis yang menghambat masuknya mikroba 2. Lingkungan asam (pH 3-5) menghambat pertumbuhan mikroba
Selaput lendir	<ol style="list-style-type: none"> 1. Flora normal bersaing dengan mikroba untuk bertahan hidup 2. Lendir yang dapat menjebak mikroba asing 3. Silia mendorong mikroba keluar dari tubuh 4.
Fisiologis	
Suhu	<ol style="list-style-type: none"> 1. Suhu/respon demam menghambat pertumbuhan beberapa patogen
pH rendah	<ol style="list-style-type: none"> 2. pH asam lambung membunuh sebagian besar mikroba yang tidak tercerna
Mediator kimia	<ol style="list-style-type: none"> 1. Lisozim membelah dinding sel bakteri 2. Interferon menginduksi pertahanan antivirus dalam sel yang tidak terinfeksi 3. Complement melisikkan mikroba dan memfasilitasi fagositosis
Pertahanan melalui fagositosis	
	<ol style="list-style-type: none"> 1. Berbagai sel menginternalisasikan (endositosis) dan memecah makromolekul asing 2. Sel-sel khusus (monosit darah, neutrofil, makrofag jaringan) menginternalisasikan (fagositosis) membunuh dan mencerna seluruh mikroorganisme.
Pertahanan melalui inflamasi	
	<p>Kerusakan jaringan dan infeksi menyebabkan kebocoran pembuluh darah yang mengandung protein serum dengan aktivitas antibakteri yang menyebabkan masuknya sel fagositosis ke daerah yang terkena</p>

Sumber : (Marshall *et al.*, 2018)

Sistem imun alami berfungsi diantaranya adalah dalam perekrutan secara segera imun seluler ke tempat infeksi atau peradangan melalui produk yang dihasilkan berupa sitokin juga kemokin (sejenis protein yang berukuran sangat yang terlibat dalam proses komunikasi serta perekrutan sel-sel. Sitokin yang dihasilkan dapat menyebabkan timbulnya mekanisme sistem imun di seluruh tubuh disertai pengaktifan respons sel-sel imun lokal terhadap adanya infeksi.



Gambar 8.1. Imun selluler (Marshall *et al.*, 2018)
(perkembangan sel di sumsum tulang)

Sel-sel imun dihasilkan di sumsum tulang dan akan mengalami perkembangan menjadi garis keturunan limfoid dan myeloid seperti pada gambar 8.1. Garis keturunan limfoid akan menghasilkan limfosit b, T, nk cel dan ILC, sedangkan garis keturunan myeloid menghasilkan eritrosit, trombosit, basophil, eosinophil, neutrophil, monosit, dan sel dendrit(Marshall *et al.*, 2018)

Sitokin peradangan atau inflamasi yang paling utama muncul pada saat terjadinya infeksi mikroorganisme asing diantaranya interleukin 6 (IL-6), dan tumor nekrosis faktor (TNF), serta interleukin 1 (IL-1). Sitokin tersebut sangat berperan utama untuk menginisiasi perekrutan sel serta peradangan lokal yang penting untuk pemusnahan substansi asing. Sitokin tersebut juga berkontribusi pada perkembangan demam. Produksi sitokin inflamasi yang disregulasi sering dikaitkan dengan penyakit inflamasi atau autoimun, dan menjadikannya target terapi yang penting(Abbas, Lichtman and Pillai, 2021).

Sistem komplemen adalah suatu tahapan biokimia yang berperan penting dalam mengenal dan melapisi mikroorganisme seperti bakteri dan patogen lain. Hal ini menyebabkan patogen mudah di fagositosis (suatu proses di mana sel-sel kekebalan menelan mikroba) dan memusnahkan sisa-sisa sel, serta mematikan berbagai patogen dan sel yang sudah terinfeksi langsung. Tindakan fagositosis oleh respons imun alami mengacu pada pembersihan sel-sel mati serta memusnahkan bahan asing yang terdapat pada jaringan, organ, darah juga getah bening. Ini juga dapat merangsang pengaktifan respons imun yang adaptif melalui aktivasi sel penyaji antigen (APC)(Abbas, Lichtman and Pillai, 2021).

Banyak sel yang dilibatkan pada respons imun alami diantaranya sel fagosit (neutrophil dan makrofag), basophil, sel dendritik, sel mast, eosinofil, sel pembunuh alami (NK) dan sel limfoid alami. Sel fagosit dibagi lagi menjadi dua jenis sel terpenting yaitu makrofag dan neutrofil. Kedua sel ini memiliki fungsi yang sama: untuk menelan mikroba (fagositosis) dan membunuhnya melalui beberapa jalur bakterisida. Selain sifat fagositosisnya, neutrofil terdiri dari granula dan enzim yang membantu

memusnahkan mikroba yang berbahaya. Bukan laykanya neutrofil (sel berusia pendek), makrofag memiliki umur panjang mampu melakukan fagositosis, tetapi juga dapat mempresentasikan antigen ke sel limfosit T (lihat Gambar. 8.2).

Cell	Image	% in adults	Nucleus	Functions	Lifetime	Main targets
Macrophage ⁺		Varies	Varies	<ul style="list-style-type: none"> Phagocytosis Antigen presentation to T cells 	Months – years	<ul style="list-style-type: none"> Various
Neutrophil		40-75%	Multi-lobed	<ul style="list-style-type: none"> Phagocytosis Degranulation (discharge of contents of a cell) 	6 hours – few days	<ul style="list-style-type: none"> Bacteria Fungi
Eosinophil		1-6%	Bi-lobed	<ul style="list-style-type: none"> Degranulation Release of enzymes, growth factors, cytokines 	8-12 days (circulate for 4-5 hours)	<ul style="list-style-type: none"> Parasites Various allergic tissues
Basophil		< 1%	Bi- or tri-lobed	<ul style="list-style-type: none"> Degranulation Release of histamine, enzymes, cytokines 	Lifetime uncertain, likely a few hours – few days	<ul style="list-style-type: none"> Various allergic tissues
Mast cell		Common in tissues	Central, single-lobed	<ul style="list-style-type: none"> Degranulation Release of histamine, enzymes, cytokines 	Months to years	<ul style="list-style-type: none"> Parasites Various allergic tissues
Lymphocytes (T cells)		20-40%	Deeply staining, eccentric	<ul style="list-style-type: none"> Helper (Th) cells (CD4+): immune response mediators Cytotoxic T cells (CD8+): cell destruction 	Weeks to years	<ul style="list-style-type: none"> Th cells: intracellular bacteria Cytotoxic T cells: virus infected and tumour cells Natural killer cells: virus-infected and tumour cells
Monocyte		2-6%	Kidney shaped	Differentiate into macrophages and dendritic cells to elicit an immune response	Hours – days	<ul style="list-style-type: none"> Various
Natural killer (NK) cell		15% (varies) of circulating lymphocytes and tissues	Single-lobed	<ul style="list-style-type: none"> Tumour rejection Destruction of infected cells Release of perforin and granzymes which induce apoptosis 	7-10 days	<ul style="list-style-type: none"> Viruses Tumour cells

Gambar 8.2. Sel-sel imun(Marshall *et al.*, 2018)

Sel dendritik adalah sel-sel sistem kekebalan tubuh yang berkembang dari monosit atau prekursor sel T. Mereka juga dapat fagosit dan merangsang pertahanan kekebalan adaptif dengan menyajikan antigen dari bahan

fagositosis ke limfosit T. Sel dendritik dapat mengaktifkan lebih dari seribu sel T spesifik antigen. Sel dendritik juga terlibat dalam toleransi kekebalan terhadap antigen tubuh sendiri (diri). (Müller-Ladner, 2022) Sel-sel dendritik juga sel fagosit berfungsi sebagai antigen presenting cell, memulai respons imun yang diperoleh dan berperan sebagai pembawa informasi penting untuk kekebalan alami dan adaptif (Abbas, Lichtman and Pillai, 2021) (Marshall *et al.*, 2018).

Granulosit basofilik (< 2%) memiliki butiran yang mengandung molekul multifungsi seperti heparin. Selain itu, mereka membentuk mediator beracun seperti histamin dan faktor pengaktif trombosit. Fungsi penting histamin, yang juga diproduksi oleh sel mast, adalah keterlibatannya dalam pertahanan terhadap zat asing, tetapi juga keterlibatannya dalam reaksi alergi. Secara klinis, pelepasan histamin menyebabkan gatal, nyeri, dan kontraksi otot polos, terutama pohon bronkial. Ini juga mempromosikan permeabilitas dinding pembuluh darah dan kemudian pembengkakan khas kulit dan selaput lendir. Histamin juga memiliki efek kemotaksis pada berbagai sel kekebalan tubuh, termasuk granulosit eosinofilik dan sel T (Müller-Ladner, 2022). Sel mast juga basofil memiliki banyak karakteristik dasar yang sama dan memainkan peran penting dalam memulai respon peradangan akut, seperti alergi dan asma. Sel mast juga memainkan peran penting sebagai "sel penjaga" sistem kekebalan dan yang pertama menghasilkan sitokin sebagai respons terhadap infeksi atau cedera. Tidak seperti sel mast, yang terletak terutama di jaringan ikat yang mengelilingi pembuluh darah dan sangat umum di permukaan mukosa, basofil ditemukan di aliran darah. (Abbas, Lichtman and Pillai, 2021)

Eosinofil adalah sel yang memiliki granula dengan sifat fagositik dan berperan penting dalam menghancurkan parasit yang seringkali terlalu besar untuk difagositosis. Bersama dengan sel mast dan basofil, mereka pun mengendalikan mekanisme yang berkaitan dengan alergi juga asma. (Fishbein and Sheldon, 2019).

Sel pembunuh alami (NK) memainkan peran penting dalam penolakan tumor dan penghancuran sel yang terinfeksi virus. Penghancuran sel yang terinfeksi dicapai dengan pelepasan perforin dan granzim (protein yang menyebabkan lisis sel target) dari butiran sel NK, yang menginduksi apoptosis (kematian sel terprogram). Sel NK juga merupakan sumber penting sitokin lain, interferon-gamma (IFN- γ), yang membantu memobilisasi APC dan meningkatkan kekebalan antivirus yang efektif. Sel limfoid bawaan (ILC) memiliki peran yang lebih teratur. Bergantung pada jenisnya (yaitu, ILC-3, ILC-2, ILC-1), mereka secara selektif menghasilkan sitokin seperti IL-17, IFN- γ , dan IL-4 yang membantu mengarahkan respons imun yang tepat terhadap patogen tertentu dan berkontribusi untuk pengaturan kekebalan jaringan itu. (Fishbein and Sheldon, 2019)(Abbas, Lichtman and Pillai, 2021). Sel pembunuh alami juga merupakan bagian dari sistem kekebalan tubuh bawaan. Sel NK dapat menghancurkan sel yang terinfeksi tanpa terlebih dahulu bersentuhan dengan patogen itu sendiri. Untuk pengakuan diri dan asing, sel NK terutama mengenali kompleks MHC-I, yang ditemukan pada hampir semua sel tubuh yang sehat. Namun, jika sel terinfeksi virus misalnya, kompleks MHC-I di permukaan sering hilang, sel dikenali sebagai sel asing dan mengaktifkan sel NK, menyebabkan kehancurannya (Müller-Ladner, 2022).

2. Sistem Imun Adaptif

Perkembangan imunitas adaptif difasilitasi oleh fungsi sistem imun bawaan dan sangat penting ketika imunitas bawaan tidak efektif dalam mengeliminasi agen infeksius. (Abbas, Lichtman and Pillai, 2021). Fungsi utama respon imun adaptif adalah: pengenalan dan diferensiasi antigen "non-diri" spesifik dari antigen "diri"; pembentukan jalur efektor imunologi spesifik patogen yang menghilangkan sel spesifik patogen atau yang terinfeksi patogen; dan pengembangan memori imunologis yang mampu menghilangkan patogen tertentu dengan cepat jika infeksi berikutnya terjadi. Respon imun adaptif adalah dasar dari imunisasi yang efektif terhadap penyakit menular. Sel-sel sistem imun adaptif meliputi: sel T spesifik antigen, yang diaktifkan oleh APC untuk berkembang biak, dan sel B, yang berdiferensiasi menjadi sel plasma untuk menghasilkan antibodi. (Bonilla and Oettgen, 2010). Jenis sel penting dari respon imun adaptif berasal dari sel induk hematopoietik di sumsum tulang dari garis keturunan limfoid. Sel induk limfoid menghasilkan limfosit T yang matang di timus dan limfosit B yang matang di sumsum tulang. Setelah limfosit matang, sel naif dilepaskan ke aliran darah dan sistem limfatis. (Moutsopoulos and Zampeli, 2020).

T-limfosit

Limfosit T berasal dari limfoblas di sumsum tulang dan berjalan ke timus tempat sel-sel tersebut matang (T = tergantung timus). Sel T membawa reseptor sel T (TCR) pada permukaannya, yang memungkinkan setiap sel T mengenali antigen spesifik pada suatu waktu. Berbeda dengan limfosit B yang juga mengenal antigen variabel, sel T hanya mengenal substansi asing yang disajikan secara kompleks dengan molekul MHC pada permukaan sel tubuh sendiri. Tergantung pada fungsinya, sel T selanjutnya

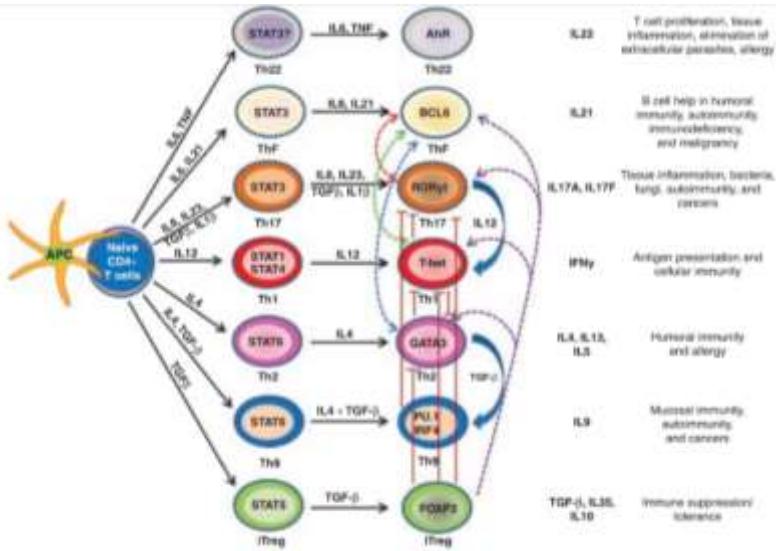
dibedakan menurut penanda permukaan. Dalam kasus sel T helper, itu adalah protein CD4 ("cluster diferensiasi"), dan dalam kasus sel T sitotoksik, itu adalah protein CD8(Müller-Ladner, 2022).

Sel T helper

Sel T helper memainkan peran sentral dalam respon imun. Mereka mengenali antigen melalui TCR spesifik mereka, yang disampaikan kepada mereka oleh sel-sel yang mempresentasikan antigen (sel dendritik, makrofag, limfosit B) pada kompleks MHC-II. Zat pembawa pesan dari sel pembantu (limfokin) memiliki fungsi yang berbeda. Sel pembantu dari **subtipe TH1** meningkatkan respon imun seluler, **sel TH2** merangsang produksi antibodi (otomatis). Selain itu, ada sel **T regulator** (sel Treg) yang membawa protein lain di permukaannya selain reseptor CD4 (CD25 / FoxP3)(Müller-Ladner, 2022).

Sel T sitotoksik

Sel limfosit T sitotoksik mampu mengenal antigen yang diberikan kepada mereka menggunakan kompleks MHC-I. Sel-sel diri, yang terinfeksi oleh patogen, melaporkan kondisinya ke sistem kekebalan tubuh. Sel T sitotoksik kemudian menempel pada sel-sel tubuh ini dengan TCR mereka; **reseptor CD8** mereka memainkan peran penting dalam proses ini. Ketika reseptor lain, seperti **reseptor CD28** sel T sitotoksik, telah menempel pada protein asing, sel T mulai berkembang biak dengan cepat dan melepaskan zat yang menyebabkan sel yang terinfeksi atau diubah secara patologis mati (disebut **apoptosis**, kematian sel terprogram)(Müller-Ladner, 2022).



Gambar 8.3. CD4 + subset sel T-helper dan plastisitasnya.

Tergantung pada sifat sinyal stimulasi antigen yang diterima dari APC, sel limfosit T CD4 + naif mengalami perubahan atau berdiferensiasi menjadi sel efektor T-helper yang berbeda dan subset sel-T regulator, kemudian ditandai dengan ekspresi regulator transkripsi spesifik garis keturunan, penanda permukaan sel, dan sekresi sitokin kunci. Karena plastisitas, sel T CD4 + efektor yang berbeda dapat mengkonversi dari satu jenis sel ke jenis sel lainnya.(Fishbein and Sheldon, 2019).

B-limfosit

Limfosit B (sel B, dari Bursa Fabricii pada burung atau "sumsum tulang" pada mamalia) adalah jenis sel penting untuk produksi antibodi kerja pendek dan panjang. Pada mamalia, sel B terbentuk di sumsum tulang. Selama

pematangan sistem kekebalan tubuh di masa muda-muda, sel-sel B "belajar" untuk membedakan diri dari yang lain, yang disebut seleksi klonal, meskipun istilah ini tidak sepenuhnya benar secara imunologis dan sebenarnya harus disebut teori seleksi klonal. Singkatnya, kontak dengan antigen dari jutaan sel progenitor hanya memilih klon yang dapat mengikat antigen ke reseptor yang sesuai (prinsip kunci-dan-anak kunci dengan protein MHC kelas I atau kelas II). Namun, spesifikasi antibodi yang diperlukan untuk banyak variasi juga terjadi selama kehidupan selanjutnya melalui apa yang disebut mutasi somatik atau rekombinasi intramolekul dari banyak gen pengkodean. Untuk menjaga keseimbangan kekebalan tubuh, stimulasi berlebihan dan kurang menyebabkan kematian (apoptosis) sel B yang tidak dibutuhkan. Jika sel B kemudian berikatan dengan antigen yang cocok dengan reseptornya, sitokin atau kemokin yang dihasilkan oleh sel limfosit T helper yang teraktivasi dapat mengaktifkan sel B lebih lanjut. Sel B yang diaktifkan ini kemudian dapat berkembang menjadi sel plasma penghasil suatu antibodi atau sel B memori. Namun, sel B juga dapat mengenali antigen yang tidak terikat sel, seperti racun, dan membentuk antibodi penetral terhadapnya (Müller-Ladner, 2022).

8.2.3 Kelainan Sistem Imun

Gangguan pada sistem imun, seperti cacat atau tidak berfungsi pada respon imun bawaan atau adaptif, dapat menimbulkan sakit atau penyakit. Gangguan ini biasanya disebabkan oleh respons imun yang terlalu aktif (dikenal sebagai reaksi hipersensitivitas), respons yang tidak tepat terhadap dirinya sendiri (dikenal sebagai autoimunitas), atau respons imun yang tidak efektif (dikenal sebagai imunodefisiensi).

a. Hipersensitivitas

Reaksi hipersensitivitas mengacu pada reaksi yang tidak diinginkan yang dihasilkan oleh sistem kekebalan normal (Müller-Ladner, 2022). Ada empat jenis reaksi hipersensitivitas:

- 1) Tipe 1 : hipersensitivitas langsung.
- 2) Tipe 2 : hipersensitivitas sitotoksik atau bergantung antibodi.
- 3) Tipe 3 : penyakit kompleks imun
- 4) Tipe 4 : hipersensitivitas lambat (Abbas, Lichtman and Pillai, 2021).

Hipersensitivitas tipe 1 adalah jenis yang paling umum dari reaksi hipersensitivitas. Ini adalah reaksi alergi yang dipicu oleh paparan berulang terhadap sejenis antigen yang disebut alergen. Berbeda dengan respon imun normal, reaksi hipersensitivitas tipe I ditandai dengan sekresi IgE oleh sel plasma. Antibodi IgE berikatan dengan reseptor pada permukaan sel mast jaringan dan basofil darah, menyebabkan "sensitisasi" mereka. Paparan terhadap alergen yang sama kemudian mengikat IgE ke sel yang tersensitisasi, menyebabkan degranulasi dan sekresi mediator aktif seperti histamin, leukotrien, dan prostaglandin, yang menyebabkan vasodilatasi dan kontraksi otot polos jaringan di sekitarnya. Alergen lingkungan umum yang menyebabkan alergi yang diperantarai IgE adalah bulu hewan peliharaan (misalnya kucing, anjing, kuda), serbuk sari, tungau debu, dan jamur. Alergen makanan juga merupakan penyebab umum reaksi hipersensitivitas tipe I, tetapi jenis reaksi ini lebih sering terlihat pada anak-anak daripada orang dewasa. Pengobatan reaksi tipe I biasanya melibatkan penghindaran pemicu dan, untuk alergi inhalasi,

intervensi farmakologis dengan bronkodilator, antihistamin, dan agen antiinflamasi. Banyak penyakit alergi dapat diobati dengan imunoterapi (lihat Imunoterapi Spesifik Alergen di lampiran ini). Kasus hipersensitivitas tipe I yang parah (anafilaksis) mungkin memerlukan pengobatan segera dengan epinefrin.(Abbas, Lichtman and Pillai, 2021).

Reaksi hipersensitivitas tipe 2 langka terjadi dan membutuhkan waktu 2-24 jam untuk berkembang. Jenis reaksi ini terjadi ketika antibodi IgG dan IgM berikatan dengan molekul pada permukaan sel pasien sendiri, membentuk kompleks yang mengaktifkan sistem komplemen. Hal ini pada gilirannya menyebabkan opsonisasi, aglutinasi eritrosit (proses aglutinasi atau "penggumpalan"), lisis sel, dan kematian. Beberapa contoh reaksi hipersensitivitas tipe II meliputi: eritroblastosis fetalis, sindrom Goodpasture, dan anemia autoimun.(Müller-Ladner, 2022)(Abbas, Lichtman and Pillai, 2021).

Reaksi hipersensitivitas tipe 3 terjadi ketika imunoglobulin IgG dan IgM bergabung dengan protein terlarut (bukan molekul permukaan sel, seperti hipersensitivitas 2) untuk membentuk kompleks imun yang dapat terakumulasi dalam jaringan, menyebabkan aktivasi komplemen, peradangan, masuknya neutrofil, dan degranulasi sel mast. Jenis reaksi ini dapat memakan waktu berhari-hari atau bahkan berminggu-minggu untuk berkembang, dan pengobatan biasanya melibatkan agen antiinflamasi dan kortikosteroid. Contoh reaksi hipersensitivitas tipe3 seperti lupus eritematosus sistemik (SLE), penyakit serum, dan artritis reaktif (Müller-Ladner, 2022)(Abbas, Lichtman and Pillai, 2021).

Tidak seperti jenis reaksi hipersensitivitas lainnya, reaksi tipe 4 diperantarai sel dan tidak bergantung pada antibodi. Mereka adalah jenis reaksi hipersensitivitas kedua yang paling umum dan biasanya memakan waktu 2 hari atau lebih untuk berkembang. Jenis respons ini dihasilkan dari stimulasi berlebihan sel limfosit T dan monosit/makrofag, yang menyebabkan pelepasan sitokin yang menyebabkan peradangan, kematian sel, dan kerusakan jaringan. Reaksi ini biasanya mudah dikelola dengan menghindari pemicu dan menggunakan kortikosteroid topikal. Contohnya adalah reaksi kulit terhadap poison ivy.(Müller-Ladner, 2022)(Abbas, Lichtman and Pillai, 2021)

b. Autoimun

Autoimunitas melibatkan musnahnya homeostasis kekebalan normal di mana tubuh meningkatkan respon abnormal terhadap jaringan diri sendiri. Sel T yang reaktif sendiri, autoantibodi, dan peradangan adalah tanda autoimunitas. Contoh penyakit autoimun yang terkenal termasuk penyakit celiac, diabetes tipe 1, penyakit Addison, dan penyakit Graves.(Müller-Ladner, 2022)(Abbas, Lichtman and Pillai, 2021).

c. Defisiensi imun (immunodefisiensi)

Immunodeficiency mengacu pada suatu kondisi di mana kemampuan sistem kekebalan tubuh untuk melawan penyakit menular melemah atau sama sekali tidak ada. Gangguan immunodefisiensi dapat disebabkan oleh cacat genetik primer (defisiensi imun primer - lihat artikel Defisiensi imun primer dalam lampiran ini) yang dapat memengaruhi fungsi imun bawaan atau diperoleh dengan menekan sel atau jalur imun tertentu, atau dapat diperoleh dari alasan sekunder. (defisiensi

imun sekunder) seperti infeksi virus atau bakteri, malnutrisi, autoimunitas atau pengobatan dengan obat yang menyebabkan imunosupresi. Penyakit tertentu, seperti leukemia dan multiple myeloma, juga dapat secara langsung atau tidak langsung melemahkan sistem kekebalan tubuh. Immunodeficiency juga merupakan ciri dari Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS), yang disebabkan oleh Human Immunodeficiency Virus (HIV). HIV secara langsung menginfeksi sel Th dan secara tidak langsung mempengaruhi respons sistem kekebalan lainnya (Abbas, Lichtman and Pillai, 2021).

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A.K., Lichtman, A.H. and Pillai, S. 2021. *Cellular and Molecular Immunology*. tenth. Philadelphia: Elsevier.
- Bonilla, F.A. and Oettgen, H.C. 2010. 'Adaptive immunity', *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(2 SUPPL. 2), pp. S33-S40. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.09.017>.
- Fishbein, A. and Sheldon, S.H. 2019. 'Allergy and Sleep: Basic Principles and Clinical Practice', *Allergy and Sleep: Basic Principles and Clinical Practice*, pp. 1-463. Available at: <https://doi.org/10.1007/978-3-030-14738-9>.
- Marshall, J.S. et al. 2018. 'An introduction to immunology and immunopathology', *Allergy, Asthma and Clinical Immunology*, 14(2), pp. 1-10. Available at: <https://doi.org/10.1186/S13223-018-0278-1/TABLES/4>.
- Moutsopoulos, H.M. and Zampeli, E. 2020. *Immunology and rheumatology in questions, Immunology and Rheumatology in Questions*. Available at: <https://doi.org/10.1007/978-3-030-56670-8>.
- Müller-Ladner, U. 2022. 'Basic immunology for routine clinical practice', *Internist*, 63(5), pp. 493-503. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00108-022-01320-0>.

BAB 9

STEM CELL

Oleh Aisyah Rusdin

9.1 Stem Cell (Sel Punca)

Setiap sel memiliki rentang waktu kehidupan yang akan berakhir dengan kematian dan akan terganti dengan sel yang baru yang disebut dengan regenerasi. Kemampuan regenerasi setiap sel berbeda tergantung jenis dan tipe sel itu sendiri. Sel dengan potensi regenerasi terkuat adalah *Stem cell* (sel punca) (Agung Putra, 2019). *Stem cell* (sel punca) ialah sel yang belum mengalami diferensiasi dan mempunyai kemampuan untuk tumbuh berubah menjadi beberapa sifatnya sel sesuai pada lingkungan mikro disekitarnya serta berkarakteristik yang berbeda-beda pada sel tubuh yang lain (Imantika, 2014; Hartono, 2016). Dalam sel punca tidak memiliki struktur jaringan khusus dalam menjalankan suatu fungsinya (Hartono, 2016).

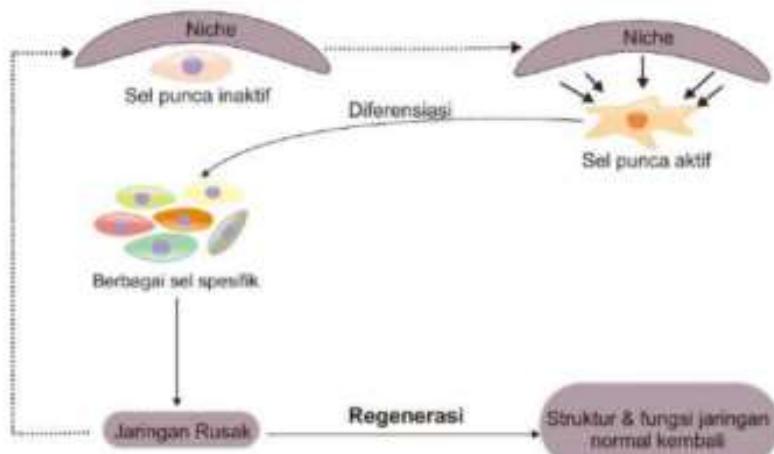
Sel punca memiliki karakteristik yakni memiliki kemampuan melakukan differensiasi berubah menjadi sel lainnya serta bisa melakukan perbaruan atau regenerasi diri (*sel renew/sel regenerate*). Dengan adanya kemampuan sel punca dalam melakukan differensiasi memberikan kemungkinan untuk berkembang menjadi beberapa sel lainnya seperti sel otot, saraf dan yang lain. Proses berdifferensiasi untuk menjadi sel lain dapat diberikan pengaruh oleh beberapa faktor internalnya yaitu genetik serta faktor eksternal seperti lingkungan sekitar meliputi oksigen, tumbuh nutrisi serta yang lain. Namun, kemampuannya dalam melakukan regenerasi memberikan kemungkinan sel punca menyalin diri mereka dengan membelah selnya sendiri (Hartono, 2016; Agung Putra, 2019)

9.2 Regenerasi

Regenerasi setiap sel memiliki kemampuan yang berbeda tergantung jenis dan tipe sel serta potensi regenerasi tersebut menurun dan menghilang seiring dengan maturitas. Regenerasi mengembalikan kembali struktur dan fungsi jaringan secara utuh. Regenerasi yang sempurna akan menghasilkan jaringan normal, namun ketika terjadi inflamasi berkepanjangan, maka regenerasi tidak berjalan sehingga dapat memicu terjadinya fibrosis. Karakter sel punca dapat melakukan regenerasi yang dapat menghasilkan pembentukan jaringan baru melalui aktivitas sel tertentu, terutama sel dengan kemampuan proliferasi dan diferensiasi yang tinggi.

9.2.1 Regenerasi dan Sel Punca dalam Fibrosis

Regenerasi yang sempurna tanpa menggunakan fibrosis memerlukan adanya sel punca, yang disebabkan karena fibrosis dipengaruhi oleh proses inflamasi yang berkepanjangan. Sel punca mampu mengontrol inflamasi, sehingga mempercepat akses sel punca untuk masuk dalam fase proliferasi. Hal ini mendorong sel sekitar untuk terlibat aktif dalam proliferasi, termasuk sel punca. Sel punca memiliki fungsi untuk mengubah sel sekitar yang rusak. Regenerasi membutuhkan adanya sel punca dengan potensi diferensiasi tinggi karena memungkinkan pergantian komponen jaringan/organ rusak menjadi normal kembali. Regenerasi akan selalu terjadi, karena sel punca hadir pada hampir seluruh jaringan (Agung Putra, 2019).



Gambar 9.1. Konsep regenerasi
 (Sumber : (Agung Putra, 2019))

Berdasarkan Gambar 11.1, menunjukkan skematis konsep regenerasi sel punca yang dimulai dengan adanya pelepasan molekul sinyal cidera yang kemudian mengubah *niche* sel punca sehingga mendorong sel punca berderensiasi menjadi sel spesifik penyusunan komponen jaringan (Agung Putra, 2019).

9.3 Klasifikasi Sel Punca

Menurut (Noviantri and Khariri, 2020), sel punca diklasifikasikan menjadi dua macam sel berdasarkan sumbernya yaitu :

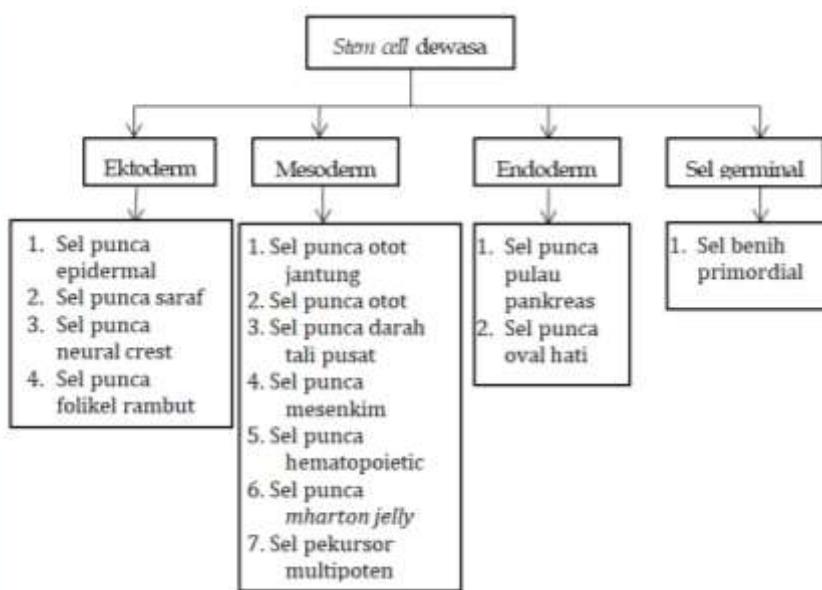
1. Sel punca embrionik

Sel punca embrionik merupakan sel punca yang asalnya dari embrio dalam tahapan perkembangan yang sebelum adanya implantasi dalam uterus. Embrio yang dimanfaatkan memiliki umur 4-5 hari sesudah fertilisasi dalam fase blastosit. Sel punca embrionik bisa melakukan diferensiasi menjadi berbagai jenis sel dalam tubuhnya

serta mempunyai dua karakter yakni kemampuan melakukan perbaruan pada diri mereka serta memiliki sifat *pluripoten*.

2. Sel punca dewasa

Sel punca dewasa merupakan sel punca yang belum melakukan diferensiasi dan biasanya ditemui dalam seluruh tubuhnya. Sel punca dewasa dapat ditemukan di sumsum tulang, yakni sel punca hematopoietik yang memberikan hasil semua sel darah putih, sel darah merah serta keping darah. Dalam sel punca dewasa berhasil dilakukan isolasi dari beberapa sumber jaringannya misalnya jaringan lemak, sumbing tulang, pulpa gigi, *Wharton jelly* serta lainnya.



Gambar 9.2. Klasifikasi Sel Punca Dewasa

Sumber : (Agung Putra, 2019))

Stem cell adalah sel yang bisa melakukan proliferasi dalam waktu yang lama untuk memerbarui dirinya dan melakukan diferensiasi memberikan hasil sel khusus yang memiliki morfologi serta fungsi yang lebih rinci. *Stem cell* dewasa mempunyai karakteristik unik yakni bersifat belum melakukan diferensiasi serta melakukan pemeliharaan sifatnya dengan populasi dan lingkungan sel sekitarnya hingga terlihat dan memberikan respon pada sinyal. *Stem cell* dewasa dapat mereplikasi dirinya yang panjang dan berkemampuan multipel diferensiasi ketika organisme hidup. Potensi serta kemampuan *stem cell* dewasa melakukan diferensiasi menjadi beberapa fenotip. Hal ini dikarenakan fusi *stem cell* dengan jaringan endogen sel spesifik (Gigi, no date).

Menurut (Hasanah, N., Wulan, A. J., & Prabowo, 2017), sel punca diklasifikasikan menjadi 5 berdasarkan potensinya, yaitu :

1. Sel Punca Totipotent

Sel punca Totipotent yakni kemampuan sel untuk melakukan diferensiasi menjadi seluruh jenis sel.

2. Sel Punca Pluripotent

Sel punca Pluripotent yakni kemampuan sel untuk melakukan diferensiasi menjadi hampir seluruh jenis sel.

3. Sel Punca Multipotent

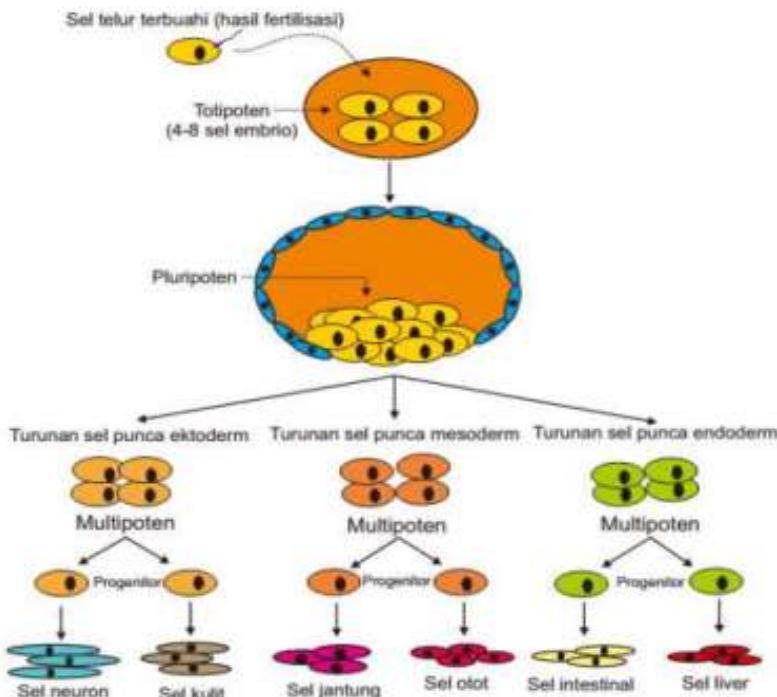
Sel Punca Multipotent adalah kemampuan sel dalam melakukan diferensiasi menjadi sebuah sel paling dekat, misalnya hematopoietik sel punca bisa berubah menjadi sel darah putih ataupun merah.

4. Sel Punca Oligopotent

Sel punca Oligopotent yakni kemampuan sel dalam melakukan diferensiasi menjadi berberapa sel saja, misalnya sel punca myeloid ataupun limfoid.

5. Sel Punca Unipotent

Sel punca Unipotent yakni kemampuan sel dalam melakukan produksi sel dari jenisnya sendiri, akan tetapi berkemampuan untuk *sel renewal*.



Gambar 9.3. Sel Punca Embrionik

(Sumber : (Agung Putra, 2019))

Berdasarkan Gambar 9.3, menunjukkan sel punca embrionik tutipotent terdiri dari 4-8 sel hasil pembelahan zygot yang kemudian terus membelah membentuk *inner cell mass* (fase *blastocyst*). Sel punca yang didapatkan dari *inner cell mass* adalah sel punca embrionik pluripotent, yang dapat menghasilkan 3

lapisan sel germinal, yaitu lapisan ektoderm, mesoderm hingga ektoderm. Ketiga sel lapisan tersebut berdiferensiasi menjadi sel matur (Agung Putra, 2019).

9.4 Niche Sel Punca

Niche sel punca adalah lingkungan mikro dengan memiliki kandungan kapiler, perisit, sel stroma, sel endotel vaskuler, sel saraf protein fibrous dari matriks ekstra seluler, serta sel imun. Stimulus asalnya dari sel punca, dari luar ataupun dalam *niche* dengan bersamaan mengatur regulasi keseimbangannya dalam regulasi proses *differentiation* serta *self renewal* (Mustikaningtyas and Romdhoni, 2013). Menurut (Agung Putra, 2019), secara struktural komponen *Niche* sel punca dibagi menjadi dua bagian, yaitu :

1. Komponen sel, yaitu sel radangm sel mesenkimal dan sel endotel
2. Matriks ekstraseluler

Kedua komponen struktur *niche* sel punca saling berinteraksi dengan melepas *soluble molecule* sehingga dapat mengubah ekspresi gen sel target.

9.4.1 Penggunaan Niche dalam Sel Punca

Peran *niche* dalam sel punca adalah sebagai berikut:

1. Menjaga keberadaan sel punca (Mustikaningtyas and Romdhoni, 2013)
2. Menghasilkan faktor ekstrinsik yang mengatur proliferasi sel punca (Mustikaningtyas and Romdhoni, 2013)
3. Mendorong polarisasi sel punca

Niche berperan sentral dalam mendorong arah polarisasi suatu sel punca, menuju pembelahan simetris atau asimetris (Agung Putra, 2019)

4. Mempengaruhi status sel punca

Niche ikut mempengaruhi status sel punca aktif kembali menuju keadaan tidak aktif ketika *niche* sel punca berangsur menjadi normal. Keadaan tersebut, menyebabkan sel punca keluar siklus sel dan kembali memasuki fase G_0 untuk jangka waktu tertentu. *Quiescence* sel punca bersifat reversibel sehingga sel punca dapat kembali memasuki putaran siklus dan menjadi aktif ketika mendapat stimulasi *soluble molecule* tertentu yang dilepas *niche* (Agung Putra, 2019).

9.5 Aplikasi Sel Punca

Sel punca dapat digunakan dalam pengembangan Uji Toksisitas. Keuntungan penggunaan sel punca dalam pengujian toksikologi sesuai dengan keunggulan yang ada dari sel punca dibanding dengan sel primer yaitu berkemampuan dalam melakukan proliferasi yang tidak terbatas, berdiferensiasi menjadi tipe sel lain dan tersedia dalam jumlah yang berlimpah sebagai sumber sel manusia. Sel punca bisa dijadikan sebagai alternatif yang inovatif serta menjanjikan dalam memperoleh sel dalam jumlah yang banyak sebagai uji toksisitas ataupun efikasi. Teknologi sel punca memberikan kemungkinan dalam melihat mekanisme yang ada di reaksi efek samping obat maka bisa menghindari serta memprediksi toksisitas pada manusia (Sari, 2019).

Menurut (Sari, 2019), uji toksisitas dengan basis sel punca dikelompokkan menjadi 3 jenis, yaitu :

1. Evaluasi toksisitas akut dengan menilai viabilitas dan *survival rate* sel (*cytotoxicity assay*)

Cytotoxicity assay dimanfaatkan sebagai penilaian viabilitas sel sesuai efek kerusakan sel. Parameter yang diterapkan yakni nilai IC50, merupakan konsentrasi yang memberikan hasil pada hambatan proses biologi (kematian sel) sekitar

- 50%. Adapun metode dalam melakukan penilaian viabilitas sel yakni memeriksa enzim laktat dehidrogenase, MTT, ambilan *neutral red* (Neutral Red Uptake/NRU) serta *trypan blue*. Suatu parameter kematian sel yakni integritas membran sel yang bisa dianggap sebagai kegiatan pewarnaan *trypan blue* atau enzim laktat dehidrogenase. Laktat dehidrogenase yakni enzim sitoplasma yang stabil. Jika sel rusak yang disebabkan adanya membran yang bocor serta enzim laktat dehidrogenase cepat dikeluarkan ke supernatan kultur sel. Dalam pengujian sitotoksik *trypan blue*, sel yang membrannya rusak bisa melakukan penyerapan pada warna *trypan blue*. Untuk menghitung banyaknya sel yang hidup daripada yang mati akan dihitung langsung secara manual pada *hemocytometer*. Metode MTT memakai garam kuning tetrazolium. MTT akan dilakukan reduksi oleh mitokondria pada sel yang hidup dijadikan senyawa formazan yang warnanya ungu. Absorbansi larutan yang memiliki warna akan dilakukan pengukuran dengan *ELISA reader* dalam panjang gelombang 500 dan 600 nm. Pemeriksaan NRU sesuai pada kemampuan sel hidup dalam melakukan penyerapan warna *neutral red* serta absorbansi dilakukan pengukuran menggunakan spektrofotometer.
2. Evaluasi penghambatan diferensiasi sel punca menjadi tipe sel lain (*developmental toxicity assay*).
- Developmental toxicity assay* memiliki tujuan melakukan evaluasi efek embriotoksik dari bahan pengujian. Fungsi sel punca dalam pengujian *developmental toxicity assay* yakni melakukan penilaian pada risiko gangguan diferensiasi sel punca akibat terpapar zat uji. Jenis sel punca yang bisa dipakai yakni ESCs. Sel punca ini serupa dengan proses awal perkembangan embrio secara *in vivo* dan menampakkan ekspresi profil jaringan spesifik yang

bisa dipakai dalam pemahaman proses yang mendasari organogenesis. Contohnya senyawa 5-FU melakukan penekanan pada ekspresi gen *Oct4*, *Nanog*, *HDAC9* (berfungsi untuk berdiferensiasi sel neuron, sel adipose serta sel otot), *DLKI* memiliki peran dalam embriogenesi serta diferensiasi sel punca mesenkimal dijadikan kondrosit, serta *NFE2 L3* berfungsi melakukan diferensiasi, karsinogenesis serta inflamasi dalam ESCs asal manusia, yang memberikan tanda pada paparan 5-FU mengakibatkan multiple malformasi. Parameter hasil pengujian yang bisa dilakukan penilaian pada pemeriksannya yakni rasio tipe sel spesifik hasil diferensiasi dan ID50 (*inhibition of differentiation-50*) yaitu konsentrasi zat toksikan yang bisa memberikan hambatan pada perkembangannya hingga 50%. ID50 bisa dilakukan perhitungan sesuai kurva konsnetrasi-respon.

3. Evaluasi untuk menilai aspek fungsional sel punca (*cell function assay*)

Cell function assay digunakan sebagai penilaian ada tidaknya gangguan fungsi sel sesudah terpapar zat toksik. Tes ini bisa diterapkan dengan sel-sel primer dewasa yang memiliki fungsi secara rinci. Uji fungsi sel hanya bisa diterapkan dalam sel dewasa. *Cell function assay* dalam sel hati menerapkan kemampuan sel hati sebagai mensekresi albumin metabolisme obat, serta melakukan penyimpanan glikogen. Terdapat sel miokardia yakni model *in vitro* yang sempurna untuk media sebagai pengujian obat yang memiliki sifat kardiotoksik. Sel neuron serta miokardial yakni jenis sel yang bisa dilakukan pengujian pada fungsi elektrofisiologik melalui pengukuran propagasi potensial aksi. Akan tetapi, ketersediaan sel-sel primer itu sangat terbatas. Sel punca bisa berfungsi untuk sumber sel-sel primer. Kemampuan sel punca dalam melakukan

diferensiasi menjadi sel kardiomiosit membantu untuk menapis zat-zat atau kandidat obat yang memberikan resiko penyebab perpanjangan interval QT atau pun proaritmia. Fungsional kardiomiosit berhasil dikembangkan dari ESCs. Sel ini menunjukkan morfologi yang berdasarkan kardiomiosit serta mengekspresikan sejumlah protein kardiomiosit seperti *atrial myosin-HC*, *cardiac actin*, *atrial natriuretic peptide* dan troponin T serta I. Sel ini juga berkemampuan melakukan kontraksi secara ritmis dengan durasi potensia aksi yang lebih panjang dibandingkan kardiomiosit.

DAFTAR PUSTAKA

- Agung Putra, M. S. M. 2019. *Basic Molecular Stem Cell*, Unissula Press.
- Gigi, K. (no date) *STEM SEL DAN REGENERASI*.
- Hartono, B. 2016. 'Sel Punca: Karakteristik , Potensi dan Aplikasinya', *J. Kedokteran Meditek*, 22(60), pp. 72–75.
- Hasanah, N., Wulan, A. J., & Prabowo, A. Y. 2017. 'Transplantasi Sel Punca Darah Tali Pusat sebagai Pengobatan Penyakit akibat Kelainan Darah Cord Blood Umbilical Stem Cell Transplantation as a Treatment of a Blood Disease', *Jurnal Majority*, 7(1), pp. 123–129.
- Imantika, E. 2014. 'Peran Sel Punca (Stem Cells) dalam Mengatasi Masalah Infertilitas Pada Wanita', *Medula*, 2(3), pp. 47–55.
- Mustikaningtyas, E. and Romdhoni, A. C. 2013. 'Stem Cell pada Karsinoma Nasofaring', *Jurnal THT-KL*, pp. 41–51.
- Noviantri, A. and Khariri. 2020. 'Ragam Penelitian Dan Pengembangan Isolasi Dan Kultur Sel Punca Mesenkim dari Berbagai Sumber', *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*, 6(1), pp. 611–618. doi: 10.13057/psnmbi/m060122.
- Sari, W. 2019. 'Aplikasi Sel Punca pada Uji Toksisitas', *Majalah Kesehatan PharmaMedika*, 11(1), pp. 65–73.

BAB 10

REKAYASA GENETIKA

Oleh Nur Maulida Safitri

10.1 Teknologi DNA Rekombinan

Rekayasa genetika secara umum merupakan perubahan pada DNA melalui transfer gen pada makhluk hidup yang berbeda. Rekayasa genetika secara sederhana merupakan proses seleksi tanaman dan penyilangan dengan tujuan perbaikan agar menjadi tanaman yang lebih kuat, besar, tahan terhadap penyakit, memiliki daya hasil tinggi sehingga kualitas panen lebih baik. Rekayasa genetika memiliki karakteristik yang sama dengan pemuliaan tanaman, yaitu memperbaiki sifat makhluk hidup dengan menambahkan sifat makhluk hidup lain sehingga terjadi perbaikan kualitas hidup. Akan tetapi, rekayasa genetika dalam batasan sempit merupakan penerapan genetika molekuler untuk mengubah susunan genetik yang terdapat pada kromosom maupun sistem ekspresi genetik untuk tujuan tertentu.

Rekayasa genetika memiliki objek yang sangat luas, mencakup hampir keseluruhan golongan organisme, seperti hewan tingkat rendah, hewan tingkat tinggi, bakteri, fungi, hingga tumbuh-tumbuhan. Rekayasa genetika dapat memindahkan satu hingga beberapa gen sekaligus dari satu makhluk hidup ke makhluk hidup lain, dari satu sumber yang beragam dalam waktu yang relatif singkat. Rekayasa genetika mempelajari di tingkat molekuler, terutama DNA.

Teknologi khusus yang digunakan dalam proses rekayasa genetika yaitu teknologi DNA rekombinan, yang mengkombinasikan materi genetik dengan menyisipkan molekul DNA ke dalam suatu vektor sehingga materi genetik baru (DNA

asing) ini akan dapat terintegrasi dan bereplikasi pada sel organisme lain sebagai sel inang. Teknologi DNA rekombinan atau rDNA merupakan bentuk DNA buatan menggunakan teknik penyatuan atau rekombinasi dua atau lebih DNA dari spesies yang berbeda sehingga diperoleh organisme baru dengan sifat-sifat yang diinginkan.

Rekayasa genetika umumnya melibatkan marker atau penanda yang disebut *Marker-assisted selection* (MAS) untuk meningkatkan efisiensi organisme berdasarkan informasi fenotipnya. Beberapa manfaat dari adanya rekayasa genetika ialah dapat mengurangi biaya yang digunakan untuk menyediakan sejumlah besar bahan-bahan pada bidang industri, kesehatan, maupun pertanian; mengembangkan tanaman hingga hewan yang bersifat unggul; menukar gen satu organisme pada organisme lain sesuai dengan keinginan; serta membuat bahan-bahan baru yang berasal dari pemutusan dan penyambungan berbagai gen yang diinginkan. Rekayasa genetika sangat bermanfaat untuk melestarikan spesies langka, seperti: induk dari spesies biasa dapat menjadi *surrogate mother* (induk titipan) dari anak spesies hewan langka, serta penyimpanan telur hewan langka yang telah dibuahi dapat dibekukan selama bertahun-tahun meskipun induk sudah mati sehingga dapat ditransplantasi pada hewan lain.

10.2 Ekspresi Gen

Alur informasi genetik pada setiap makhluk hidup adalah dari DNA ke protein. Alur pengubahan informasi genetik meliputi dua tahapan, yaitu transkripsi dan translasi (Seperti yang dibahas pada Bab 12). Secara singkat, transkripsi merupakan proses sintesis RNA (berupa mRNA, rRNA, dan tRNA) yang berasal dari template DNA, yang selanjutnya dilepaskan untuk proses translasi. Pada proses translasi, kodon mRNA akan dipasangkan dengan antikodon yang sesuai pada tRNA sehingga setiap tiga antikodon

akan membentuk satu molekul asam amino untuk membentuk polipeptida (protein).

10.3 Enzim dalam Rekayasa Genetika

Dasar teknologi dari DNA rekombinan yaitu kemampuan memanipulasi molekul DNA menggunakan beberapa enzim spesifik sehingga mampu memindahkan seluruh atau sebagian molekul DNA atau RNA yang telah ada. Beberapa enzim yang umum digunakan dalam rekayasa genetika diantaranya:

1. Enzim restriksi : digunakan untuk memotong genom DNA menjadi fragmen sehingga ikatan fosfodieter untaian DNA terpisah. Setiap enzim restriksi memiliki daerah spesifik masing-masing. Umumnya enzim restriksi memiliki urutan target heksanukleotida, sedangkan yang lain mengenali urutan lebih panjang atau lebih pendek.
2. Enzim ligase : merupakan enzim yang digunakan untuk menyambung molekul DNA dengan melakukan sintesis fosfodieter antar nukleotida pada dua ujung molekul tunggal atau ujung dua molekul DNA yang berbeda. DNA ligase berperan untuk menyambung fragmen DNA sehingga menjadi DNA fungsional.
3. Enzim pembedifikasi-ujung : berfungsi mengubah ujung molekul DNA. Berperan dalam pelabelan molekul DNA dengan marker, pewarnaan fluoresen, radioaktif, serta percobaan ligasi.
4. Enzim polimerase: Lebih banyak digunakan dalam genetika molekuler, yang berfungsi mengkatalis reaksi pembentukan DNA. Enzim ini berperan menambah nukleotida pada ujung 3'.

10.4 DNA Sisipan

Penyisipan DNA dilakukan dengan cara memotong DNA target dari suatu organisme kemudian disisipkan dan disambung pada organisme yang lain. DNA sisipan dapat diperoleh dengan cara: produk hasil PCR serta potongan DNA menggunakan enzim restriksi. DNA sisipan digunakan secara meluas, terutama untuk memperbanyak fragmen DNA dari suatu organisme dalam sel inang (kloning) dan menghasilkan produk modifikasi genetik yang unggul (GMO).

10.5 Kloning Gen

Semenjak ditemukan enzim restriksi dan ligase, maka DNA dari berbagai organisme dapat diisolasi, dipotong, dipindahkan, dan disambungkan pada organisme lain. Proses mengkombinasi beberapa DNA ini disebut sebagai kloning. Untuk memperbanyak DNA dalam sel, fragmen DNA yang mengandung gen yang akan diklon disisipkan dalam plasmid yang berfungsi sebagai vektor agar dapat bereplikasi di dalam sel dan menghasilkan DNA rekombinan (dalam plasmid). Di dalam sel, vektor bereplikasi untuk menghasilkan turunan yang identik. Saat sel inang membelah, hasil penyalinan molekul DNA rekombinan akan diwariskan sehingga menghasilkan progeni yang identik. Setiap klon mengandung satu salinan atau lebih molekul DNA rekombinan.

Kloning melibatkan beberapa komponen utama, yaitu gen/fragmen DNA yang akan dikloning (DNA sisipan), enzim restriksi dan enzim ligase, DNA vektor (berupa bakteriofag, cosmid, maupun plasmid, serta sel inang (bakteri atau ragi).

10.6 DNA Vektor

Vektor merupakan molekul DNA berbentuk sirkular yang berperan sebagai wadah DNA sisipan masuk ke dalam sel inang serta bereplikasi didalamnya. Vektor terbagi ke dalam vektor

ekspresi dan vektor kloning. Vektor ekspresi berfungsi untuk menghasilkan protein dari gen yang dikloning (masuk ke dalam proses transkripsi-translasi), sedangkan vektor kloning hanya untuk replikasi (memperbanyak sisipan fragmen DNA), tanpa ditranskripsi. Syarat makhluk hidup yang dapat digunakan sebagai vektor yaitu: dapat memasuki sel inang, dapat bereplikasi sendiri, menghasilkan salinan (*copy*) yang banyak, serta memiliki ukuran relatif kecil, yaitu <10 kb. Contoh dari vektor kloning adalah sebagai berikut.

a. Plasmid

Plasmid adalah DNA rantai ganda berbentuk lingkaran yang memiliki kemampuan bereplikasi sendiri dalam sel inang sehingga keberadaannya bebas dalam sel. Kemampuan replikasi sendiri tanpa tergantung replikasi kromosom disebabkan plasmid memiliki urutan DNA spesifik yang disebut sebagai *origin of replication (ori)*, sebagai titik awal replikasi.

Meskipun bakteri pada umumnya memiliki plasmid, namun dalam DNA rekombinan, plasmid yang digunakan adalah plasmid yang telah rekayasa. Plasmid ini diberi sisi pengenalan enzim restriksi sehingga dapat disisipi DNA asing. Plasmid juga diberi dua gen marker untuk mendeteksi adanya plasmid dalam sel serta mendeteksi DNA asing. Karena ukurannya yang cenderung kecil, kemampuan penampungan fragmen DNA lebih terbatas.

b. Bakteriофаг I

Bakteriофаг merupakan virus kompleks yang menginfeksi bakteri. Seperti virus pada umumnya, bakteriофаг memiliki struktur yang sangat sederhana, yaitu hanya memiliki satu molekul DNA atau RNA yang membawa sejumlah gen dan dikelilingi kapsid yang tersusun oleh molekul protein.

Proses infeksi bakteri dimulai dengan pelekatkan bakteriofag pada bagian luar bakteri dan memasukkan DNA kromosom ke dalam sel. Molekul DNA bakteriofag yang telah masuk selanjutnya bereplikasi dan mengatur sintesis protein komponen kapsid. Partikel-partikel replikasi yang baru selanjutnya dilepaskan dari bakteri, sehingga bakteri mengalami lisis. Bakteriofag dapat menampung fragmen DNA yang berukuran lebih besar.

Terdapat dua karakteristik vektor kloning bakteriofag; (1) vektor insersional, dengan menyisipkan fragmen DNA asing ke dalam bakteri, (2) vektor substitusi, dengan membuang sebagian atau seluruh urutan basa dengan fragmen DNA asing, yang dapat dibawa hingga 23 kb.

Secara umum, bakterifage memiliki dua fase daur hidup, yaitu fase litik dan fase lisogenik. Pada fase litik, proses transfeksi sel inang dimulai dengan masuknya DNA I yang selanjutnya menjadi sirkuler dan melakukan replikasi secara independen. Setelah replikasi menghasilkan salinan-salinan DNA I dengan konformasi sekuler, masing-masing DNA melakukan transkripsi—translasi membentuk protein kapsid. Setiap DNA yang terkandung dalam kapsid menghasilkan 1 partikel baru yang keluar dari sel inang untuk menginfeksi sel inang lainnya.

Pada fase lisogenik, DNA I terintegrasi dalam sel inang sehingga proses replikasi sangat tergantung pada kromosom sel inang. Berbeda dengan fase litik, pada fase ini sel inang tidak mengalami lisis. Lisis yang terjadi pada sel inang ditunjukkan dengan adanya plak (*plaque*) dengan warna bening diantara koloni sel inang, sehingga seleksi vektor rekombinan bisa dilakukan dengan adanya plak yang terbentuk. Selain dari bakteriofag I, terdapat bakteriofag M13 yang memiliki struktur ikosahedral berekor dan memiliki filamen.

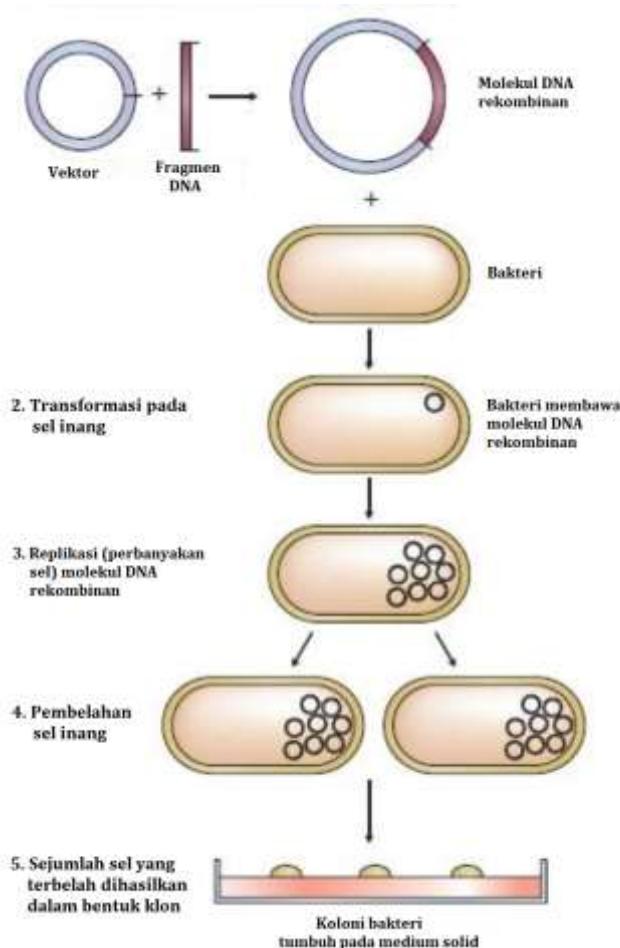
c. Vektor Lainnya

Sejumlah mikroorganisme dapat digunakan sebagai vektor, yang pada umumnya direkonstruksi atau dibuat secara sintesis. Pada sel inang prokariot, terutama *E. coli*, menggunakan vektor berupa plasmid, bakteriofag, kosmid, dan fosmid. Pada khamir, dapat digunakan vektor Yeps dan YACs, serta pada sel inang eukariot tingkat tinggi dapat menggunakan Plasmid Ti, SV40, dan Baculovirus (Glick dkk, 2010).

- 1) Kosmid : Vektor yang dibuat dengan menggabungkan DNA I dan plasmid. Dapat membawa fragmen DNA 47 kb.
- 2) Fasmid : Vektor sintesis berupa gabungan plasmid dan fag I. Fasmid membawa segmen DNA I yang berisi tempat att untuk berintegrasi dengan kromosom sel inang pada fase lisogenik.
- 3) Vektor YEps : Vektor pada khamir *Saccharomyces cerevisiae*, dengan sekuens DNA 6 kb.
- 4) Vektor YACs : Menggabungkan DNA plasmid dan fragmen DNA kromosom khamir. Dapat membawa fragmen DNA genomik lebih dari 1 Mb sehingga bisa mengklon gen utuh manusia.
- 5) Plasmid Ti : Berukuran 200 kb dan diambil dari bakteri *Agrobacterium tumefaciens*.
- 6) Fasmid : Vektor sintesis berupa gabungan plasmid dan fag I. Fasmid membawa segmen DNA I yang berisi tempat att untuk berintegrasi dengan kromosom sel inang pada fase lisogenik.
- 7) SV40 : Merupakan vektor untuk mengkloning sel mamalia. Contoh: Retrovirus.
- 8) Baculovirus : Virus yang menginfeksi serangga.

d. Vektor Ekspresi

Selain dapat bereplikasi sendiri, vektor ekspresi mengandung sinyal-sinyal ekspresi sehingga gen yang akan diklon dapat ditranskripsi—translasi menjadi protein. Vektor ini memungkinkan untuk menghasilkan protein tanaman, hewan, dan manusia dalam bakteri. Sinyal ekspresi paling penting dari vektor ekspresi adalah: promotor transkripsi, tempat pengikatan ribosom, serta terminator transkripsi.



Gambar 10.2. Tahapan kloning secara umum

10.7 Tahapan Kloning

Terdapat beberapa prosedur dalam kloning DNA/gen, seperti yang tertera pada Gambar 10.1. Tahapan pertama yaitu isolasi DNA sisipan dan DNA vektor, yang telah dijelaskan sebelumnya. Selanjutnya, DNA sisipan dan vektor dipotong

menggunakan enzim restriksi agar molekul DNA asing tersebut dapat disisipkan ke dalam vektor. Setelah dipotong dan disisipkan, dua molekul DNA rantai tunggal yang komplementer antara DNA sisipan dan DNA vektor dipasangkan dengan enzim ligase dengan membentuk ikatan fosfodiester antara kedua molekul (Jannah dkk, 2021).

Tahapan selanjutnya adalah proses transformasi sel untuk memasukkan molekul DNA plasmid rekombinan ke dalam sel inang. Pada proses ini, sel diberi perlakuan agar dapat menerima DNA dari luar, sehingga menjadi sel kompeten. Sel bakteri dapat menerima paling baik saat fase logaritmik, yaitu saat pertumbuhan sel sangat cepat. Proses transformasi dapat dibantu dengan bantuan *heat shock* (kejutan panas), elektroporasi (kejutan listrik), maupun mikroinjeksi.

Sel inang yang sudah ditransformasi selanjutnya ditumbuhkan pada media padat dan diinkubasi 24 jam pada suhu 37°C. Koloni-koloni bakteri dengan sifat yang sama akan tumbuh, dimana satu koloni terdiri dari jutaan sel. Selanjutnya, diseleksi klon-klon bakteri yang mewariskan plasmid rekombinan, menggunakan beberapa cara:

1. Seleksi berdasarkan sifat resistensi terhadap antibiotik. Plasmid disisipkan gen resisten terhadap antibiotik, misal gen *Tet^r* (resisten terhadap tetrasiklin). Selanjutnya disisipkan DNA asing sehingga gen *Tet^r* menjadi tidak aktif. Bakteri selanjutnya ditumbuhkan pada media yang mengandung tetrasiklin, sehingga koloni yang memiliki DNA sisipan (gen *Tet^r* sudah tidak aktif) tidak dapat tumbuh.
2. Seleksi yang melibatkan gen *LacZ*. Plasmid yang digunakan memiliki gen *Amp^r* dan gen *LacZ*. Penyisipan terjadi pada gen *LacZ*, sehingga jika bakteri memiliki DNA sisipan gen *LacZ* tidak aktif. Selanjutnya, ditambahkan substrat X-gal dan IPTG (isopropil tiogalaktopiranosida) sebagai inducer. Bakteri transforman yang ditumbuhkan mengandung gen

Amp^r, X-gal, dan IPTG, dengan koloni yang tumbuh membawa plasmid. Koloni yang tumbuh berwarna biru dan putih. Koloni berwarna biru menunjukkan keberadaan 5-bromo-4 kloro-3-indigo sebagai hasil penguraian X-gal oleh β -galaktosidase. Koloni ini tidak memiliki DNA sisipan dan gen *LacZ* aktif. Sedangkan koloni berwarna putih memiliki gen *LacZ* yang tidak aktif sehingga tidak menghasilkan senyawa yang berwarna. Koloni putih menunjukkan adanya kandungan DNA sisipan didalamnya.

Tahapan terakhir dari proses kloning adalah isolasi DNA plasmid rekombinan, dapat dilakukan dengan metode sekuensing untuk mengetahui urutan nukleotida maupun dipotong dengan enzim restriksi untuk selanjutnya dikloning pada vektor ekspresi.

10.8 Aplikasi Teknologi Rekayasa Genetika

Genetically Modified Organism (GMO) atau organisme hasil rekayasa genetika merupakan produk hewan atau tanaman sebagai salah satu hasil dari rekayasa genetika. Istilah *food grade* digunakan untuk mendefinisikan mikroorganisme yang diproduksi melalui rekayasa genetika namun menggunakan komponen yang diturunkan hanya dari sumber *food grade*. Rekayasa genetika terbatas pada asam nukleat yang berasal dari genus yang sama saja. Sebagai contoh, proses pembuatan laktat susu yang menggunakan strain *Lactococcus* bisa mengandung DNA dari strain *Lactococcus* yang lain namun tidak berasal dari *Streptococcus thermophilus* (Batt, 2014). Tabel 10.1 menjelaskan contoh produk GMO yang telah berhasil dikembangkan hingga saat ini.

Tabel 10.2. Produk GMO yang sudah berhasil dikembangkan di dunia

No	Hewan/Tanaman	Sasaran modifikasi genetik	Hasil modifikasi
1	Padi	Provitamin A (mengandung betakaroten) tinggi	Kromosom padi disisipkan gen tumbuhan narsis, jagung, dan bakteri <i>Erwinia</i> sp.
2	Jagung, kentang, kapas	Resisten hama	Tanaman disisipkan gen toksin Bt (<i>crystal protoksin</i>) dari bakteri <i>Bacillus thuringiensis</i>
3	Tomat	Perlambatan proses pelunakan tomat sehingga tidak mudah busuk	Gen <i>antisenesens</i> ditransfer dalam tomat untuk menghambat enzim <i>poligalakturonase</i>
4	Kedelai	Tahan terhadap herbisida glifosat dan mengandung asam oleat tinggi	Kedelai disisipi gen resisten herbisida bakteri <i>Agrobacterium</i> sp. galur CP4
5	Gandum	Resisten terhadap penyakit hawar oleh cendawan <i>Fusarium</i> sp.	Tanaman gandum disisipi gen penyandi enzim kitinase untuk memecahkan dinding sel cendawan yang berasal dari <i>barley</i> (jelai).
6	Salmon	Peningkatan kadar EPA dan DHA	Penambahan gen dalam sintesa asam lemak HUFA
7	Ikan salmon dan tilapia di Arktik dan Antartika	Toleransi pada suhu dingin yang ekstrim	Sintesis gen AFP (<i>antifreeze protein</i>) kedalam ikan.
8	Ikan zebra	Dapat berpendar (glofish)	Ekspresi gen GFP (<i>green fluorescence protein</i>) dan enzim luciferase dibawah kontrol proliferasi NF-Y
9	Ikan komet	Biosensor dan	Ekspresi gen GFP dari ubur-

No	Hewan/Tanaman	Sasaran modifikasi genetik	Hasil modifikasi
		perbaikan penampilan ikan	ubur dengan penambahan promoter α -actin dan β -actin
10	Transgenik Salmon Atlantik, Rainbow trout, Nila	Pertumbuhan lebih cepat dalam waktu pembudidayaan yang sama (poliploid)	Penambahan hormon pertumbuhan (GH) dan manipulasi set kromosom genom saat prosedur pemijahan
11	Catfish, mas (<i>common carp</i>), medaka	Resisten terhadap penyakit	Penambahan gen lactoferrin pada ikan mas serta gen cecropin pada catfish dan medaka.
12	Rainbow trout	Metabolisme karbohidrat Metabolisme vitamin C Reproduksi	Transfer gen glucose transporter heksokinase (karbohidrat), L-gulono-gamma lactone oxidase (vitamin C) dan antisense GnRH untuk meningkatkan keberhasilan reproduksi

Sumber: Arifin dkk (2009), Darmawan (2013), Kusrini dkk (2018); Latouliere dkk (2021); Seprianto (2017); Van Eenennaam dan Olin (2006).

Telah banyak dilakukan penggunaan teknologi DNA rekombinan untuk berbagai aplikasi selain dari GMO, terutama di bidang bioteknologi, forensik dan kedokteran, lingkungan, hingga bidang pertanian, peternakan, dan perikanan berupa hewan/tumbuhan transgenik, hingga kloning (Muthiadin, 2014), seperti yang tertera dibawah ini.

1. Eksplorasi mikroba laut, untuk mengkonstruksikan pustaka gen, menemukan enzim baru yang memiliki sifat antimikrobial, ekstraksi senyawa ekopolisakarida baru, penemuan senyawa sitotoksik, inhibitor, senyawa antioksidan, penemuan senyawa metabolit anti tumor,

bioremediasi, hingga untuk membandingkan keragaman genetik (Noviendri, 2007).

2. Pada bidang medis, rekayasa genetika digunakan untuk mensintesis agen terapeutik baru, seperti produksi obat-obatan dan vaksin. Selain itu, penggunaan rekombinan DNA dapat digunakan untuk mengobati pasien yang memiliki penyakit genetik menggunakan teknologi transfer gen, termasuk peningkatan sel imun pasien (Robert, 2008).
3. Pada bidang peternakan, teknologi DNA rekombinan digunakan untuk proses inseminasi buatan ternak, transfer embrio, sapi transgenik, hingga transplantasi nukleus (kloning), yang telah berhasil dalam pengkloningan domba dolly (Sutarno, 2016).
4. Pada bidang pertanian, bentuk rekayasa genetika yang paling dikenal adalah perbaikan *selective breeding* untuk mengendalikan karakteristik tanaman. Perekayasaan secara genetik digunakan untuk menghasilkan tanaman tahan pestisida, beras tinggi beta-karoten, tanaman yang dapat direkayasa untuk menjadi magnet penarik logam berat dalam tanah dan air (fitoremediasi), enzim untuk meningkatkan kapasitas biodegradasi, hingga menghasilkan pakan ternak berkualitas tinggi dan produk makanan GMO (Robert, 2008).
5. Eksplorasi mikroba laut, untuk mengkonstruksikan pustaka gen, menemukan enzim baru yang memiliki sifat antimikrobial, ekstraksi senyawa ekopolisakarida baru, penemuan senyawa sitotoksik, inhibitor, senyawa antioksidan, penemuan senyawa metabolit anti tumor, bioremediasi, hingga untuk membandingkan keragaman genetik (Noviendri, 2007).

DAFTAR PUSTAKA

- Arifin OZ., Ath-thar MHF., Gustiano R. 2009. Aplikasi Rekayasa Genetik pada Budidaya Ikan di Indonesia. *Media Akuakultur*. 4(1): 76-83.
- Batt CA. 2014. Genetic Engineering. *Encyclopedia of Food Microbiology Volume 2*. Pp 917-921. Elsevier Ltd. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00143-9>
- Darmawan BD. 2013. Evaluasi resiko aplikasi ikan transgenik dalam kegiatan budidaya. *Akuatik-Jurnal Sumberdaya Perairan*. 7(1): 15-19.
- Jannah M., Sari NK., Mushlih M., Hariri MR., Priyambodo., dkk. 2021. Metode Biologi Molekuler. Bandung: Widina Bhakti Persada.
- Glick BR., Pasternak JJ., Patten CL. 2010. Molecular Biotechnology Principles and Applications of Recombinant DNA 4th Edition. Washington DC: ASM Press.
- Kusrini E., Yamin M., Hadie W. 2018. Ikan komet (*Carassius auratus auratus*) sebagai ikan model dalam rekayasa genetik. *Prosiding Seminar Nasional Ikan VI*: 191-195.
- Latouliere L., Manni I., Ferrari L., Pisati F., Totaro MG., dkk. 2021. MITO-Luc/GFP zebrafish model to assess spatial and temporal evolution of cell proliferation in vivo. *Scientific Reports*. 11:671. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79530-5>
- Muthiadin C. 2014. Pengantar Rekayasa Genetika. Makassar: Alauddin University Press
- Noviendri D. 2007. Teknologi DNA rekombinan dan aplikasinya dalam eksplorasi mikroba laut. *Squalen*. 2(2): 56-64.
- Robert JS., Baylis F. 2008. Genetic Engineering. Elsevier: Arizona State University.
- Seprianto. 2017. Modul Mata Kuliah Rekayasa Genetika. Universitas Esa Unggul.

- Sutarno. 2016. Rekayasa Genetik dan Perkembangan Bioteknologi di Bidang Peternakan. *Proceeding Biology Education Conference*. 13(1): 23-27.
- Van Eenennaam AL dan Olin PG. 2006. Careful Risk Assesment Needed to Evaluate Trasgenic Fish. *California Agriculture*. 60(3):126-131.

BIODATA PENULIS



Nurlena Andalia

Dosen tetap pada Program Studi pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Serambi Mekkah Banda Aceh

Staf Dosen Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan. Penulis lahir di Kampong Baro, Pidie tanggal 10 Mei 1985. Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Serambi Mekkah Banda Aceh. Menyelesaikan pendidikan S1 Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan di Universitas Serambi Mekkah Banda Aceh dan S2 Pendidikan Biologi Jurusan Pascasarjana Universitas Syiah Kuala Banda Aceh serta melanjutkan S3 Program Studi Doktor Matematika dan Aplikasi Sains di Universitas Syiah Kuala Banda Aceh. Penulis menekuni bidang Sains.

BIODATA PENULIS.



Dr. Adriani S.Si, M.Kes
Dosen Pendidikan Biologi
Universitas Patompo Makassar

Penulis lahir di Kota Ujung Pandang pada tanggal 4 Juni 1984. Penulis adalah dosen di jurusan Pendidikan Biolofi, Fakultas Keguruan dan Pendidikan (FKIP) Universitas Patompo Makasar. Menyelesaikan Pendidikan S1 di Jurusan Biologi FMIPA UNHAS (tahun 2007), S2 di Jurusan Biomedik Fakultas Kedokteran UNHAS (Tahun 2010) dan mendapatkan gelar Doktor dari Program Studi Ilmu Kedokteran di Universitas Brawijaya (Tahun 2022). Saat ini beliau tercatat sebagai dosen tetap dengan bidang keilmuan Mikrobiologi di FKIP Universitas Patompo Makasar. Penulis menekuni bidang penelitian mikrobiologi dan ilmu biologi lainnya. Beberapa penelitian yang telah berhasil dipublikasikan yaitu

- (2019) Molecular Docking Study from Lunacridine, Scopoletin and Skimmianine as Antidiabetes through α -Glucosidase Inhibitor (Publikasi pada Journal of Physics :IOP Proceeding Conference)
- (2022) Non-targeted screening with LC-HRMS and In-Silico Study on Diabetic activity of ethyl acetate extract of

- Sanrego (Lunasia amara Blanco) (Publikasi pada Research Journal Pharmacy and Technology, Scopus Q3)
- (2022) Isolation and screening endophytic bacteria producing α -glucosidase inhibitor from Sanrego plant (Lunasia amara Blanco) (Publikasi pada AIP Proceeding Conference, Scopus Q4)
 - (2022) Penapisan Virtual Basis Data Senyawa Tanaman Afrodisiak Asal Family Rutaceae Sebagai Inhibitor α -Amylase (Publikasi pada Journal Syifa Sciences and Clinical Research 4(2), sinta 5)

BIODATA PENULIS



Afika Herma Wardani, M.Sc.

Dosen Program Studi D3 Teknologi Laboratorium Medis
Poltekkes Kemenkes Jayapura

Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi D3 Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Jayapura. Menyelesaikan pendidikan S1 Biologi di Universitas Negeri Yogyakarta. Melanjutkan S2 Biologi konsentrasi Mikrobiologi di Universitas Gadjah Mada. Buku yang pernah penulis hasilkan adalah Biokimia Kebidanan, Dasar-Dasar Mikrobiologi yang diterbitkan oleh Get Press.

BIODATA PENULIS



Indra Taufik Sahli, A.Md.AK., S.Si., M.Biomed

Dosen Program Studi D3 Teknologi Laboratorium Medis
Poltekkes Kemenkes Jayapura

Penulis lahir di Trenggalek tanggal 20 Juni 1979. Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi D3 Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes kemenkes Jayapura. Menyelesaikan pendidikan Sekolah Menengah Analis Kesehatan (SMAK) Depkes Jayapura tahun 1999 dan D3 pada Akademi Analis Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri tahun 2003. Menempuh Pendidikan S1 pada Program Studi Farmasi Kosentrasi Teknologi Laboratorium Kesehatan lulus tahun 2011 dan menyelesaikan S2 pada program studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang tahun 2019 mengambil peminatan Mikrobiologi dan Imunologi. Beberapa buku dan bookchapter telah diterbitkan diantaranya Buku Bakteriologi : Praktikum Teknologi Laboratorium Medik, Buku Imunohematologi dan Bank Darah, Buku Biomedik Dasar, Buku Metabolisme Zat Gizi dan Buku Imunologi Dasar.

BIODATA PENULIS



Reni Yunus, S.Si., M.Sc.

Dosen Tetap di Poltekkes Kemenkes Kendari

Lahir di Asinua pada tanggal 16 Mei 1982. Merupakan alumni S1 Biologi Universitas Hasanuddin dan Alumnus S2 Prodi Ilmu Kedokteran Dasar Biomedik Peminatan Parasitologi Universitas Gadjah Mada. Saat ini menjalankan tugas sebagai Dosen Tetap di Poltekkes Kemenkes Kendari. Menekuni Penelitian di bidang bidang Mikrobiologi dan Parasitologi serta mengajar MK Mikrobiologi, Bakteriologi, dan Parasitologi. Saat ini aktif menulis buku pada beberapa keilmuan bidang Mikrobiologi dan Parasitologi, baik sebagai penulis tunggal maupun bersama tim penulis lainnya. Beberapa artikel jurnal dan buku telah dihasilkan pada beberapa penerbit.

BIODATA PENULIS



DR. Rondius Solfaine, drh, MP, APVet

Rondius dilahirkan oleh ibu Siti Salamah dan ayah Suryono Wignyowinoto, di Klaten Jawa Tengah. Sebelum menjadi dosen di FKH UWKS (2008), bekerja di Broiler *Grand Parent Stock* di Pingku Bogor dan Representative Vaccine *Bioteke* Tangerang (2001-2005). Pernah bekerja sebagai *Medical Technologist* di Lembaga Riset Internasional, US Namru-2 Jakarta dan Pusat Veterinaria Farma (Pusvetma) Surabaya (2005-2008). Lulus S1 dan S2 dari Universitas Gadjah Mada Yogyakarta (1999/2008) dan lulus Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya (2017) *cumlaude*. Mendapat sertifikasi Ahli Patologi Veteriner (APVI-PDHI/2011) dan Sertifikat Dosen (Kemenristekdikti 2015). Kegiatan ilmiah nasional yang diikuti antara lain Pertemuan dan Pelatihan Patologi Veteriner (Maros Sulawesi), BBV Subang Jabar (2011-2012), *Conggres Asian Veterinary Pathology* di Kuala Lumpur (2014), *Visiting Laboratory* di *Department Of Veterinary Medicine, Osaka Perfecture University Japan* (2013) dan *Academic Visiting* di Fakulti Perubatan Veteriner Universiti Malaysia Kelantan (2019), Pelatihan *Pathology for Wild Animal* di Chulalongkorn University Thailand (2019), Pelatihan Wawasan Kebangsaan Bagi

Dosen- LEMHANNAS RI (2021) dan Pelatihan Anti Korupsi Dosen-KPK RI (2022).

Penghargaan *Best Presenter Global Health and Life Science Conference* di Melbourne, Australia (2018). Artikel yang sudah diterbitkan di Jurnal Nasional Makara Kesehatan UI, Jurnal Sain Veteriner UGM, Jurnal Kedokteran Hewan USK dan Jurnal Internasional *Vet World, Preventive Nutrition&Food Science, World Poultry, Ruminant, Tropical Journal Animal Science* dan Koran Digital Media Indonesia. Menjadi editor di jurnal nasional, reviewer penelitian-pengmas UWKS, pewawancara beasiswa nasional DepKeu RI, juri lomba karya tulis mahasiswa FKH Unair dan narasumber tetap talkshow RRI Pro1 Surabaya (sejak 2020). Hasil karya di patenkan berupa, hak cipta (No.EC00202175509, EC00202152862, EC00202154366, paten riset obat antidiabetes (No.S00202109994). Karya buku berupa 1 Buku Ajar Patologi Dasar Veteriner dan Petunjuk Pratikum Patologi Veteriner (ISBN).

BIODATA PENULIS



Nurul Azmah Nikmatullah, S.Si, M.Kes
Dosen Program Studi Analis Kesehatan
Fakultas Farmasi dan Sains

Penulis lahir di Ujung Pandang tanggal 09 Juni 1989. Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi Analis Kesehatan Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Muhammadiyah Prof Dr. Hamka. Menyelesaikan pendidikan S1 pada Jurusan Teknologi Laboratorium Kesehatan (Analis Kesehatan) dan melanjutkan S2 pada Jurusan Biomedik Mikrobiologi. Penulis menekuni bidang menulis dalam bidang Mikrobiologi, Parasitologi dan Biologi Molekuler. Penulis mengampu mata kuliah Bakteriologi Dasar, Helmintologi, Protozoologi dan Biologi Molekuler.

BIODATA PENULIS



Meri, SKM., M. Imun

Dosen Program Studi D3 Analis Kesehatan
Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Bakti Tunas Husada

Meri, SKM., M. Imun, Lahir di Kota Tasikmalaya, 16 Maret 1981. Pendidikan formal yang sudah diperoleh diantaranya di SDN 2 Cikalang Tasikmalaya, SMPN 1 Tasikmalaya, SMAN 2 Tasikmalaya, D3 Analis Kesehatan Tasikmalaya, dan S1 Kesehatan Masyarakat Universitas Siliwangi Tasikmalaya. Sedangkan Pendidikan formal S2 ditempuh di Surabaya dengan bidang keilmuan yaitu Imunologi di Universitas Airlangga Surabaya. Kini penulis sebagai Dosen Tetap di Universitas Bakti Tunas Husada Tasikmalaya. Penulis berpengalaman sebagai Ahli Teknologi Laboratorium Medis (ATLM) di beberapa laboratorium di Rumah Sakit Swasta dari tahun 2003-2011. Penulis sebagai pengampu utama mata kuliah Imunologi, Hematologi, dan Manajemen Laboratorium. Mata kuliah lainnya yaitu Imunohematologi, Sitohistoteknologi, Kimia Klinik dan Instrumen Laboratorium. Hobi yang ditekuni adalah sebagai penulis buku. Jumlah buku yang pernah diterbitkan sekitar 16 buku. Alamat email:

merimeriani1@gmail.com atau meri@universitas-bth.ac.id,
Whatsapp: 085217894100.

BIODATA PENULIS



Aisyah Rusdin, S.Si., M.Si
Dosen Program Studi S1 Kimia
Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Sipatokkong Mambo

Penulis lahir di Anabanua tanggal 24 Juli 1998. Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Sipatokkong Mambo. Menyelesaikan pendidikan S1 pada Jurusan Kimia dan melanjutkan S2 pada Jurusan Kimia. Penulis menekuni bidang Menulis.

BIODATA PENULIS



Nur Maulida Safitri, S.Kel., MP., M.Sc
Dosen Program Studi Akuakultur,
Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Gresik

Penulis menyelesaikan pendidikan S1 di Program Studi Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya pada tahun 2014. Kemudian, penulis melanjutkan studi ke jenjang S2 *Double Degree* pada tahun 2015 dan mendapatkan gelar Magister Perikanan dari Universitas Brawijaya serta Master of Science di bidang bioteknologi dari National Pingtung University of Science and Technology pada tahun 2017.

Saat ini, penulis merupakan staf pengajar di Program Studi Akuakultur, Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Gresik. Beberapa mata kuliah yang pernah diampu oleh penulis diantaranya adalah: Bioteknologi Perikanan, *Natural Product*, Biokimia Perikanan, Rekayasa Pengolahan Hasil Perikanan, Ikan Hias dan Aquascape, serta Komoditas Unggulan Akuakultur.

Email: nur.maulida@umg.ac.id / nurmsafitri@gmail.com