Bioteknologi Hasil Perikanan

by Grace Sanger 16

Submission date: 10-Jan-2020 02:10PM (UTC+0700)
Submission ID: 1240581581
File name: BUKU.pdf (1.92M)
Word count: 33042
Character count: 210447

BAB 1
PENDAHULUAN

Setelah membaca Bab 1 ini pembaca diharapkan dapat : Mengerti tentang konsep dasar bioteknologi, teknik-teknik bioteknologi, mengetahui sejarah perkembangan biteknologi dan memahami tentang pemanfaatan atau aplikasi bioteknologi.

1.1 Pengertian Bioteknologi

Bioteknologi adalah penggunaan organisme atau sistem hidup untuk menghasilkan atau memodifikasi produk, meningkatkan kemampuan tumbuhan dan hewan, mengembangkan mikroorganisme untuk penggunaan khusus yang berguna bagi kehidupan manusia serta memecahkan suatu masalah untuk menghasilkan produk yang berguna.

Kemajuan ilmu pengetahun dan teknologi yang telah ada baik di bidang fisika, kimia, matematika dan biologi telah memicu majunya bioteknologi, karena semakin besar tuntutan dengan proses yang lebih cepat. Manfaat bioteknologi bagi kehidupan manusia dalam meningkatkan kesejahteraan dan perbaikan hidup telah terbukti, antara lain penerapannya untuk mengobati penyakit berbahaya, memerangi kelaparan,

mengatasi kelangkaan sumber daya energi, mengurangi pencemaran lingkungan dan masih banyak lagi.

Bioteknologi sudah dikenal oleh manusia sejak ribuan tahun yang lalu. Di bidang teknologi pangan, misalnya pembuatan bir, roti, maupun keju yang sudah dikenal sejak abad ke-19, pemuliaan tanaman untuk menghasilkan varietas-varietas baru di bidang pertanian, serta pemuliaan dan reproduksi hewan. Di bidang medis, penerapan bioteknologi pada masa lalu dibuktikan antara lain dengan penemuan vaksin, antibiotik, dan insulin, walaupun masih dalam jumlah yang terbatas akibat proses fermentasi yang tidak sempurna.

Perubahan signifikan terjadi setelah penemuan bioreaktor oleh Louis Pasteur. Dengan alat ini, produksi antibiotik maupun vaksin dapat dilakukan secara masal. Saat ini, bioteknologi berkembang sangat pesat. Kemajuan ini ditandai dengan ditemukannya berbagai macam teknologi semisal rekayasa genetika, kultur jaringan, DNA rekombinan, pengembangbiakan sel induk, kloning, dan lain-lain. Teknologi ini memungkinkan untuk penyembuhan penyakit-penyakit genetik maupun kronis yang belum dapat disembuhkan, seperti kanker ataupun AIDS.

Pada umumnya bioteknologi dibedakan menjadi bioteknologi tradisional dan modern. Bioteknologi tradisional adalah bioteknologi yang memanfaatkan mikrobia untuk memodifikasi bahan dan lingkungan guna memperoleh produk optimal. Sedangkan bioteknologi modern melakukan manipulasi makhluk hidup agar dapat digunakan untuk menghasilkan produk sesuai yang diinginkan, misalnya melalui rekayasa genetik. Rekayasa genetik merupakan teknik untuk menghasilkan molekul DNA yang berisi gen baru yang diinginkan atau kombinasi gen-gen baru.

Perkembangan ilmu pengetahuan dalam bidang biologi molekuler dan bioteknologi membawa pengaruh besar dalam penyelesaian masalah-masalah yang dihadapi manusia dalam berbagai bidang. Bidang kajian biologi molekuler mulai berkembang setelah Watson dan Crick pada tahun 1953 berhasil menemukan struktur untai ganda *(double helix)* DNA yang menjadi dasar perkembangan cabang ilmu bioteknologi. Berdasarkan struktur untai ganda DNA, ilmuwan-ilmuwan di bidang biologi molekuler dapat melakukan serangkaian eksperimen terkait struktur unik DNA tersebut.

Gen atau yang sering dikenal dengan istilah DNA, merupakan materi genetik yang bertanggung jawab terhadap

semua sifat yang dimiliki oleh makhluk hidup. Genetika merupakan ilmu yang mempelajari bagaimana sifat-sifat suatu makhluk hidup ini diturunkan dari induk kepada keturunannya.

Keingintahuan para ilmuwan akhirnya mendorong terwujudnya sebuah proyek besar yang dinamai Proyek Genom Manusia dimulai pada tahun 1990. Proyek ini bertujuan untuk mengidentifikasi semua gen (genom) yang terdapat pada DNA dalam sel manusia dan memetakan lokasinya pada tiap kromosom manusia yang berjumlah 24. *Genetics Home Reference* (2017) dari Amerika Serikat menyatakan bahwa genom adalah set lengkap DNA yang dimiliki oleh suatu organism. Proyek genom Manusia memiliki potensi tak terbatas untuk perkembangan di bidang pendekatan diagnostik untuk mendeteksi penyakit dan pendekatan molekuler untuk menyembuhkan penyakit genetik manusia.

Terselesaikannya *Human genom Project* membuka kesempatan dalam identifikasi adanya keabnormalan urutan gen yang mungkin terjadi. Dengan diketahuinya urutan genom pada manusia, maka adanya kesalahan dalam urutannya akan lebih mudah diidentifikasi. Salah satu keuntungan diketahuinya urutan genom manusia adalah dapat

mengidentifikasi adanya kelainan-kelainan genetik yang mengakibatkan adanya penyakit genetik.

Rekayasa genetika (teknologi rekombinan DNA) adalah manipulasi sifat genetik suatu organisme dengan cara mengintroduksi atau mengeleminasi gen-gen tertentu (Micklos, *dkk,* 1990). Secara umum, rekayasa genetika adalah teknik melakukan modifikasi pada mahluk hidup melalui transfer gen dari suatu organisme ke organisme lain. Prosedur rekayasa genetika secara umum meliputi: Isolasi gen, memodifikasi gen dan mentrasfer gen tersebut ke organisme baru sehingga fungsi biologisnya lebih baik, membentuk produk organisme transgenik. Produk rekayasa genetik dikenal dengan sebutan *Genetically Modified Organism (GMO)*.

Prosedur pembentukan organisme transgenik ada dua metoda, yaitu: melalui proses introduksi gen dan melalui proses mutagenesis. Beberapa langkah dasar proses introduksi gen adalah membentuk sekuen gen yang diinginkan yang ditandai dengan penanda yang spesifik, mentransformasi sekuen gen yang sudah ditandai ke jaringan, mengkultur jaringan yang sudah mengandung gen yang ditransformasikan dan menguji coba kultur tersebut di lapangan.

Mutagenesis adalah memodifikasi gen pada organisme dengan mengganti sekuen basa nitrogen pada DNA yang ada untuk diganti dengan basa nitrogen lain sehingga terjadi perubahan sifat pada organisme tersebut, seperti: tanaman sifatnya tidak tahan hama menjadi tahan hama. Agen mutagenesis ini biasanya dikenal dengan istilah mutagen. Beberapa contoh mutagen yang umum dipakai adalah sinar gamma (mutagen fisika) dan etil metana sulfonat (mutagen kimia).

1.2 Teknik-Teknik Bioteknologi

Dengan berkembangnya teknologi molekuler, maka berkembang pula teknik-teknik untuk memanipulasi gen sehingga muncul teknik rekayaya genetik (*genetic engineering*). Teknik-teknik dalam bioteknologi meliputi:

1. Fermentasi. Proses ini menggunakan mikroba untuk mengubah suatu senyawa makromolekul seperti pati menjadi senyawa lain. Proses fermentasi digunakan pada: Bioteknologi klasik pembuatan tape, industri farmasi, *biopulping,* bahan bakar etanol dan bioplastik.
2. Analisis Genetik. Teknik ini bertujuan mempelajari bagaimana sifat/karakter atau gen diwariskan dari generasi ke generasi dan bagaimana gen dan lingkungan berinteraksi untuk

menghasilkan suatu sifat. Analisis genetik digunakan untuk: diagnosis kedokteran, pertanian dan bahan bakar;

3. Seleksi dan Pemuliaan. Melakukan manipulasi pada mikroba, tanaman atau hewan dan pemilihan individu atau populasi yang diinginkan sebagai stok genetik untuk perbaikan generasi baru. Teknik ini dapat digunakan untuk: Bioteknologi klasik (fermentasi) produksi bahan pangan dan bioplastik;

4. Analisis DNA dengan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dapat membuat copy segmen DNA; dan *RFLP (restriction fragment length polymorphism)*, merupakan alat yang penting untuk *genom mapping*. Dapat digunakan untuk: diagnosis suatu penyakit, konseling genetik, terapi gen;

5. Kultur Sel dan Jaringan. Menumbuhkan tanaman atau jaringan hewan atau sel secara steril di dalam tabung reaksi atau tabung gelas lainnya. Dapat digunakan untuk: perbanyakan tanaman, produksi tanaman transgenik, produksi bahan kimia, dan penelitian kedokteran.

6. Rekayasa genetik atau DNA Rekombinan. Transfer segmen DNA dari suatu organisme ke DNA organisme lain. Kedua organisme tersebut dapat tidak saling berkerabat satu sama lain. Dapat digunakan untuk: produksi bahan pangan, industri farmasi, konseling genetik dan terapi gen.

1.3 Sejarah Bioteknologi

- 8000 SM dilakukan pengumpulan benih untuk ditanam kembali. Bukti bahwa bangsa Babilonia, Mesir, dan Romawi melakukan praktik pengembangbiakan selektif (seleksi artifisal) untuk meningkatkan kualitas ternak.
- 6000 SM pembuatan bir, fermentasi anggur, membuat roti, membuat tempe dengan bantuan ragi.
- Tahun 1665 Robert Hooke (Inggris) menemukan sel dengan mikroskop.
- Tahun 1880 mikroorganisme ditemukan.
- Tahun 1856 Gregor Mendel mengawali penelitian genetika tumbuhan rekombinan.
- Tahun 1865 Gregor Mendel menemukan hukum dalam penyampaian sifat induk ke turunannya.
- Tahun 1919 Karl Ereky, insinyur Hongaria, pertama menggunakan kata bioteknologi.
- Tahun 1970 peneliti di AS berhasil menemukan enzim restriksi yang digunakan untuk memotong gen.
- Tahun 1975 Kohler dan Milstein mengembangkan metode produksi antibodi monoklonal.

- Tahun 1978 para peneliti di AS berhasil membuat insulin dengan menggunakan bakteri yang terdapat pada usus besar.
- Tahun 1980 dimulainya bioteknologi modern, dicirikan oleh teknologi DNA rekombinan. Model prokariot *E. coli* digunakan untuk memproduksi insulin dan obat lain. Sekitar 5% pengidap diabetes alergi terhadap insulin hewan yang sebelumnya tersedia.
- Tahun 1990 *Human Genome Project (Proyek Genom Manusia)* dimulai.
- Tahun 1992 FDA menyetujui makanan *GMO* pertama dari Calgene: tomat "flavor saver" (Flavr Savr).
- Tahun 2003 perampungan *Human Genome Project*
- Tahun 2017 *Genetics Home Reference* dari Amerika Serikat menyatakan bahwa genom adalah set lengkap DNA yang dimiliki oleh suatu organisme.

1.4 Pemanfaatan Bioteknologi

Saat ini perkembangan bioteknologi dalam segala bidang berkembang dengan cepat untuk mengatasi masalah kesehatan, pangan, energi dan lingkungan. Pengembangan dan pemanfaatan hasil penelitian bioteknologi meliputi:

1. Bioteknologi merah (*red biotechnology*). Merupakan aplikasi bioteknologi di bidang kedokteran/medis, meliputi penggunaan sel induk untuk pengobatan regeneratif, serta terapi gen untuk mengobati penyakit genetik dengan cara menyisipkan atau menggantikan gen abnomal dengan gen yang normal. Pemanfaatan organisme untuk industri menghasilkan obat/antibiotik dan vaksin. *Humulin* adalah insulin hasil rekayasa genetik. *Herceptin* adalah antibodi monoklonal untuk mengobati kanker payudara. Terapi gen untuk penyakit genetic (*cystic fibrosis* dan *Human Embryonic Stem Cells*) dan transplantasi organ)
2. Bioteknologi putih/abu-abu (*white/gray biotechnology*). Bioteknologi yang dimanfaatkan untuk mengatasi masalah lingkungan seperti: restorasi ekologi , diagnosis dan monitoring penyakit menular, kontrol hama, penyakit dan gulma pada pertanian, deteksi, monitor dan remediasi polutan, *skreening* toksisitas dan konversi limbah ke energi Aplikasikan dalam industri seperti pengembangan dan produksi senyawa baru serta pembuatan sumber energi terbarukan. Produksi bioenergi: etanol, metana, biodiesel, biokatalis, enzim, asam organik dan pelarut, produksi polimer, farmasi, flavor dan essence. Pelindian (*bleaching*)

minyak dan mineral dari tanah untuk meningkakan efisiensi pertambangan. Rekayasa metabolik dengan memanipulasi mikroorganisme seperti bakteri dan khamir atau ragi. Enzim-enzim dan organisme-organisme yang lebih baik telah tercipta untuk memudahkan proses produksi dan pengolahan limbah industri.

3. Bioteknologi hijau (*green biotechnology*). Aplikasi bioteknologi di bidang pertanian dan peternakan. *Genetically modified foods* adalah bahan pangan yang diproduksi dari organism yang dimodifikasi secara genetik. Mengurangi/ meningkatkan copy gen atau memofifikasi gen diantara genome yaitu dengan cara mengambil satu organism memodifikasinya dilaboratorium kemudian memasukkannya kedalam genom organism target untuk memproduksi fenotip atau trait yang baru.. Di bidang pertanian, bioteknologi telah berperan dalam menghasilkan tanaman tahan hama, bahan pangan dengan kandungan gizi lebih tinggi dan tanaman yang menghasilkan obat atau senyawa yang bermanfaat. Sementara itu, di bidang peternakan, binatang-binatang telah digunakan sebagai "*bioreaktor*" untuk menghasilkan produk penting, seperti kambing, sapi, domba, dan ayam telah digunakan sebagai

penghasil antibody (protein protektif) yang membantu sel tubuh mengenali dan melawan senyawa asing (antigen).

4. Bioteknologi biru (*blue biotechnology*) disebut juga bioteknologi kelautan dan akuatik atau perairan untuk mengendalikan proses-proses yang terjadi di lingkungan akuatik. Rekayasa genetik akuatik seperti: menghasilkan tiram tahan penyakit dan vaksin untuk melawan virus yang menyerang salmon dan ikan yang lain serta salmon transgenik yang memiliki hormon pertumbuhan secara berlebihan sehingga menghasilkan tingkat pertumbuhan sangat tinggi dalam waktu singkat. Bioteknologi dalam bidang kelautan/akuakultur dapat dimanfaatkan untuk memproduksi dan mengembangkan: farmasi, enzim dan bahan-bahan biomolekul, senyawa bioaktif (antioksidan, antikanker, antidiabetes dan lain-lain), biopestisida dan peningkatan pertumbuhan, perkembangan, reproduksi dan nutrisi ikan.

BAB 2

MATERI GENETIK

Tujuan Pembelajaran

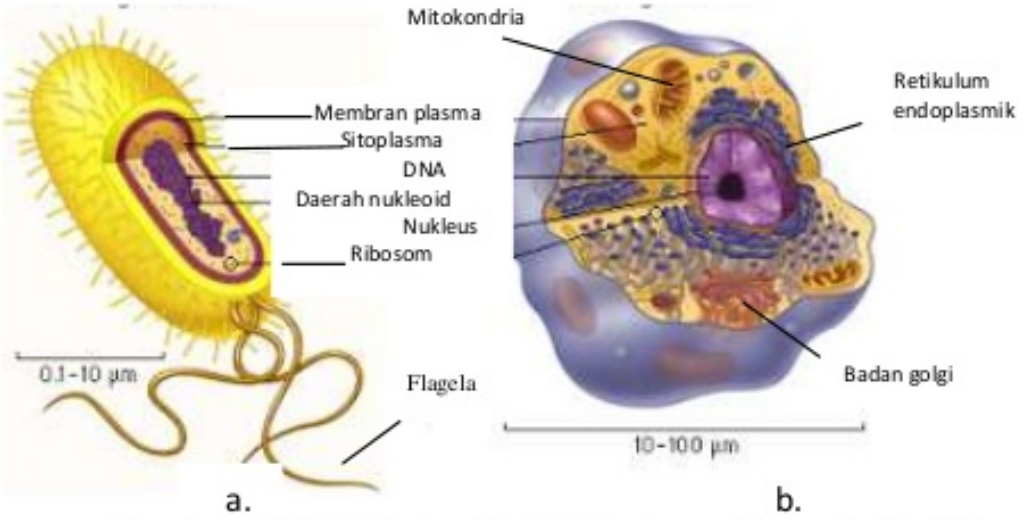
Setelah membaca Bab 2 ini pembaca diharapkan dapat: Mengetahui tentang jenis dan fungsi sel, jenis dan jumlah kromosom, penggolongan asam nukleat, fungsi DNA, RNA dan sejarah penemuan Gen.

2.1 Sel

Sel berasal dari kata *cella,* adalah kumpulan materi paling sederhana yang merupakan unit penyusun semua makhluk hidup, dimana semua fungsi kehidupan diatur dan berlangsung di dalam sel. Di dalam sel terdapat nukleus yang berisi materi genetik yang berperan di dalam pewarisan sifat keturunan. Materi genetik meliputi kromosom, DNA, RNA, dan gen. Materi genetika tersebut terdapat di berbagai sel di seluruh tubuh, misalnya pada sel-sel darah, sel tulang, sel gamet dan lain-lain,

Struktur sel organism terdiri dari 2 jenis berbeda yaitu: sel *prokariotik* atau sel *eukariotik*. Kedua jenis sel ini dibedakan berdasarkan posisi DNA di dalam sel; sebagian besar DNA pada eukariota terselubung membran organel yang disebut nukleus atau inti sel, sedangkan prokariota tidak

memiliki nucleus (Gambar 1). Hanya bakteri dan arkea yang memiliki sel prokariotik, sementara protista, tumbuhan, jamur, dan hewan memiliki sel eukariotik. Semua sel dibatasi oleh suatu membran yang disebut membran plasma, sementara daerah di dalam sel disebut sitoplasma. Selain itu, semua sel memiliki struktur yang disebut ribosom yang berfungsi dalam pembuatan protein yang akan digunakan sebagai katalis pada berbagai reaksi kimia dalam sel tersebut.



Gambar 1. Sel Prokariotik (a) dan sel ekariotik (b)

Sel prokariota (dari bahasa Yunani, terdiri dari *pro* (sebelum) dan *karyon* (biji). Tidak ada membran yang memisahkan DNA dari bagian sel lainnya, dan daerah tempat DNA terkonsentrasi di sitoplasma disebut *nukleoid*. Kebanyakan prokariota merupakan organisme uniseluler

dengan sel berukuran kecil (berdiameter 0,7–2,0 μm dan volumenya sekitar 1 μm^3) serta umumnya terdiri dari selubung sel, membran sel, sitoplasma, nukleoid dan ribosom.

Prokariota umumnya memiliki satu molekul DNA dengan struktur lingkar yang terkonsentrasi pada nukleoid. Selain itu, prokariota sering kali juga memiliki bahan genetik tambahan yang disebut *plasmid* yang berstruktur DNA lingkar. Pada umumnya, plasmid tidak dibutuhkan oleh sel untuk pertumbuhan meskipun sering kali plasmid membawa gen tertentu yang memberikan keuntungan tambahan pada keadaan tertentu, misalnya resistansi terhadap antibiotik. Prokariota juga memiliki sejumlah protein struktural yang disebut sitoskeleton, yang pada mulanya dianggap hanya ada pada eukariota. Protein skeleton tersebut meregulasi pembelahan sel dan berperan menentukan bentuk sel.

Sel eukariota (bahasa Yunani, *eu*/sebenarnya' dan *karyon*/*biji*) memiliki nukleus. Diameter sel eukariota biasanya 10 hingga 100 μm, sepuluh kali lebih besar daripada bakteri. Sitoplasma eukariota adalah daerah di antara nukleus dan membran sel. Sitoplasma ini terdiri dari medium semi cair yang disebut sitosol, yang di dalamnya terdapat organel-organel dengan bentuk dan fungsi terspesialisasi serta sebagian

besar tidak dimiliki prokariota. Kebanyakan organel dibatasi oleh satu lapis membran, namun ada pula yang dibatasi oleh dua membran, misalnya nucleus. Selain nukleus, sejumlah organel lain dimiliki hampir semua sel eukariota, yaitu (1) mitokondria, tempat sebagian besar metabolisme energi sel terjadi; (2) retikulum endoplasma, suatu jaringan membran tempat sintesis glikoprotein dan lipid; (3) badan Golgi, yang mengarahkan hasil sintesis sel ke tempat tujuannya; serta (4) peroksisom, tempat perombakan asam lemak dan asam amino.

Nukleus mengedalikan sintesis protein di dalam sitoplasma dengan cara mengirim molekul pembawa pesan berupa RNAd, yang disintesis berdasarkan "pesan" gen pada DNA. RNA ini lalu dikeluarkan ke sitoplasma melalui pori nukleus dan melekat pada ribosom, tempat pesan genetik tersebut diterjemahkan menjadi urutan asam amino protein yang disintesis. Kebanyakan sel memiliki satu nukleus, namun ada pula yang memiliki banyak nukleus, contohnya sel otot rangka, dan ada pula yang tidak memiliki nukleus, contohnya sel darah merah matang yang kehilangan nukleusnya saat berkembang.

Nukleus mempunyai diameter rata-rata 5 μm, mengandung sebagian besar gen yang mengendalikan sel

eukariota (sebagian lain gen terletak di dalam mitokondria dan kloroplas). Selubung nukleus melingkupi nukleus dan memisahkan isinya dari sitoplasma disebut *nukleoplasma*. Selubung ini terdiri dari dua membran yang masing-masing merupakan lapisan ganda lipid dengan protein . Membran luar dan dalam selubung nukleus dipisahkan oleh ruangan sekitar 20 - 40 nm. Selubung nukleus memiliki sejumlah pori yang berdiameter sekitar 100 nm dan pada bibir setiap pori, kedua membran selubung nukleus menyatu.

Struktur yang menonjol di dalam nukleus sel yang sedang tidak membelah ialah nukleolus, yang merupakan tempat sejumlah komponen ribosom disintesis dan dirakit. Komponen-komponen ini kemudian dilewatkan melalui pori nukleus ke sitoplasma, tempat semuanya bergabung menjadi ribosom. Kadang-kadang terdapat lebih dari satu nukleolus, bergantung pada spesiesnya dan tahap reproduksi sel tersebut.

Ribosom merupakan tempat sel membuat protein. Sel dengan laju sintesis protein yang tinggi memiliki banyak sekali ribosom, contohnya sel hati manusia yang memiliki beberapa juta ribosom. Ribosom sendiri tersusun atas berbagai jenis protein dan sejumlah molekul RNA. Ribosom eukariota lebih besar daripada ribosom prokariota, namun keduanya sangat

mirip dalam hal struktur dan fungsi. Keduanya terdiri dari satu subunit besar dan satu subunit kecil yang bergabung membentuk ribosom lengkap dengan massa beberapa juta dalton.

Pada eukariota, ribosom dapat ditemukan bebas di sitosol atau terikat pada bagian luar retikulum endoplasma. Sebagian besar protein yang diproduksi ribosom bebas akan berfungsi di dalam sitosol, sementara ribosom terikat umumnya membuat protein yang ditujukan untuk dimasukkan ke dalam membran, untuk dibungkus di dalam organel tertentu seperti lisosom, atau untuk dikirim ke luar sel. Ribosom bebas dan terikat memiliki struktur identik dan dapat saling bertukar tempat. Sel dapat menyesuaikan jumlah relatif masing-masing ribosom begitu metabolismenya berubah.

2.2 Kromosom

2.1.1 Pengertian Kromosom

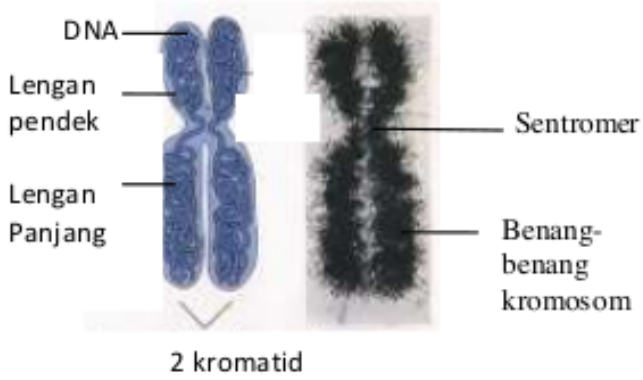
Kromosom adalah unit genetik yang terdapat dalam setiap inti sel (nukleous) pada semua makhluk hidup, tersusun seperti benang-benang halus. Struktur pada kromosom ini hanya akan tampak jelas pada metafase pembelahan sel. Kromosom berbentuk lurus seperti batang atau bengkok yang terdiri dari zat yang mudah mengikat warna yang bertanggung jawab dalam hal sifat keturunan (hereditas). Kromosom yang terdapat di dalam sel tidak pernah sama ukurannya. Panjang kromosom antara 0,2 hingga 50 μm, dan diameternya antara 0,2 hingga 20 μm. Pada

manusia panjang kromosom dapat sampai 6 μm mikron. Kromosom tumbuh- tumbuhan berukuran lebih besar dari pada kromosom hewan. Kromosom yang sedang membelah dikenal dengan kromatid. melekat satu sama lain pada semacam pinggang‘ (*sentromer*).

2.1.2 Struktur Kromosom

Kromosom dibentuk dari DNA yang berikatan dengan beberapa protein histon, dari ikatan ini dihasilkan nukleosom, yang memiliki ukuran panjang sekitar 10 nm. Kemudian nukleosom akan membentuk lilitan-lilitan yang sangat banyak yang menjadi penyusun dari kromatid (lengan kromosom), satu lengan kromosom ini kira-kira memiliki lebar 700 nm.

Kromosom terbagi menjadi 2 bagian utama, yaitu *sentromer dan lengan kromosom*. Sentromer merupakan bagian kromosom yang berfungsi sebagai tempat melekatnya lengan kromosom (Gambar 2). Pada permukaan luar sentromer terdapat badan protein atau kinetokor berfungsi saat replikasi dan pemisahan kromosom saat mitosis (Fairbanks and Andersen, 1999). Bagian lengan merupakan bagian utama pada kromosom yang berisi materi-materi genetik berupa DNA yang merupakan kode untuk sintesis protein.



Gambar 2. Kromosom

Bagian-bagian kromosom terdiri dari:

1. Kromatid

Kromatid merupakan bagian lengan kromosom yang terikat satu sama lainnya, 2 kromatid kembar ini diikat oleh sentromer. Nama jamak dari kromatid adalah kromonema. Kromonema biasanya terlihat pada pembelahan sel masa profase dan kadang- kadang interfase.

2. Sentromer

Pada kromosom terdapat satu daerah yang tidak mengandung gen, daerah ini dinamakan sentromer. Pada masa pembelahan, sentromer merupakan struktur yang sangat penting, di bagian inilah lengan kromosom (kromatid) saling melekat satu sama lain pada masing-masing bagian kutub pembelahan. Bagian dari kromosom yang melekat pada sentromer dikenal dengan istilah ‘kinetokor’.

3. Kromomer

Kromomer adalah struktur berbentuk manik-manik yang merupakan akumulasi dari materi kromatid yang kadang-kadang terlihat pada pembelahan masa interfase. Pada kromosom yang telah mengalami pembelahan berkali-kali, biasanya kromomer ini sangat jelas terlihat.

4. Telomer

Telomer adalah bagian berisi DNA pada kromosom, fungsinya untuk menjaga stabilitas ujung kromosom agar DNA nya tidak terurai.

Berdasarkan letak sentromer, kromosom digolongkan dalam empat tipe (Gambar 3), yaitu: 1. Metasentrik merupakan kromosom dengan letak sentromer tepat di tengah sehingga kromosom terbagi dua bagian sama panjang. 2. *Submetasentrik* adalah kromosom dengan letak sentromer tengah agak ke atas sehingga lengan kromosom terbagi atas *lengan pendek dan panjang*. 3. *Telosentrik* merupakan kromosom dengan letak sentromer di ujung kromosom. 4. *Akrosentrik* yaitu kromosom dengan sentromer terletak di tengah dan mendekati ujung kromosom (Klug and Cummings, 1994).

Metasentrik submetasentrik telosentrik Akrosentrik

Gambar 3. Letak sentromer dari kromosom

Berdasarkan jenis selnya, kromosom dibedakan menjadi 2 tipe, yaitu:

1. Autosom (kromosom sel somatik). Autosom adalah kromosom tubuh yang tidak menentukan jenis kelamin. Autosom ini mempunyai bentuk pasangan antara jantan dan betina, dan memiliki jumlah n – 1 atau 2n – 2 dengan sifatnya diploid. Autosom biasanya disimbolkan dengan A.
2. Gonosom (kromosom Seks). Gonosom adalah kromosom seks yang dapat menentukan jenis kelamin. Gonosom ini mempunyai bentuk pasangan tidak sama antara jantan dan betina, berjumlah satu pasang dan bersifat haploid.

Jumlah kromosom sel somatis tumbuhan, hewan, dan manusia berbeda satu sama lain. Beberapa contoh jumlah kromosom baik hewan maupun tumbuhan dapat dilihat pada (Tabel 1).

Tabel 1. Jumlah kromosom beberapa mahluk hidup.

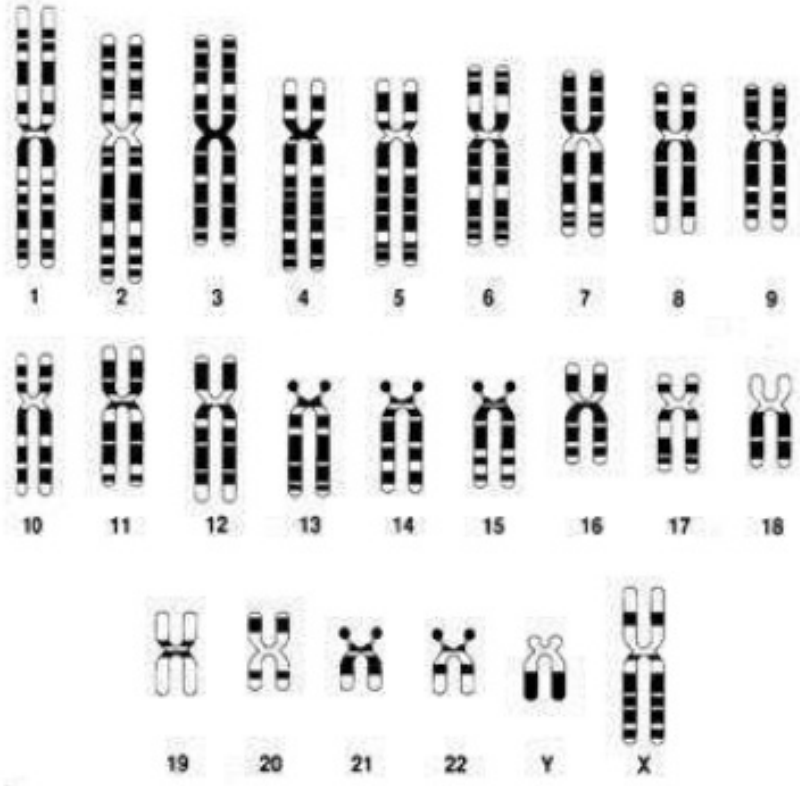
No	Organisme	Jumlah kromosom	No.	Orgnisme	Jumlah kromosom
1.	Manusia	46	8.	Katak	26
2.	Bintang laut	36	9.	Domba	54
3.	Ikan Mas	100	10.	Sapi	60
4.	Ayam	78	11.	Jagung	40
5.	Lalat buah	8	12.	Pepaya	18
6.	Babi	40	13.	Ragi	34
7	Simpanse	48	14	Kuda	64

Jumlah kromosom manusia adalah 46, 44 diantaranya adalah autosom, 2 gonosom. Gonosom ada dua macam yaitu X dan Y. Susunan gonosom pada wanita adalah XX dan pada pria XY (Clarke, 1996). setiap sel somatik (sel tubuh) terdapat 22 pasang autosom dan 1 pasang gonosom. Pada setiap gamet (sel kelamin): sel sperma (sel kelamin jantan) 22 pasang atosom dan donosom x d atau Y; Ovum (sel kelamin betina) 22 pasang atosom dan gonosom X. 46 kromosom manusia ini merupakan dua set kromosom yang terdiri dari masing-masing 23 kromosom, yaitu satu set maternal (dari ibu) dan satu set paternal (dari ayah).

Tiap sel somatik pada organisme tingkat tinggi mempunyai jumlah kromosom dasar, yaitu satu set diwariskan dari induk dan satu sel dari ayah. Masing-masing kromosom mempunyai pasangan yang identik yaitu kromosom homolog. Dua set kromosom ini disebut diploid (2n) (Crowder, 1998). Kromosom homolog memiliki bentuk, ukuran, dan komposisi yang sama. Setiap gen yang menentukan karakter fisik tertentu menempati *lokus* pada masing-masing kromosom homolog. Misalnya gen penentu warna mata menempati suatu lokus pada suatu kromosom, maka kromosom homolognya memiliki gen penentu warna mata pada lokus yang setara. Pasangan gen seperti ini disebut *alel*. Alel atau juga disebut alternative gen menentukan variasi dalam pewarisan suatu keturunan.

Kromosom sel somatis dapat disusun atau diatur secara standar, hasil penyusunan pasangan kromosom dari suatu sel yang berdasarkan ukuran dan bentuk disebut *karyotipe*. (Cambell *dkk*. 2008). Penyusunan kariotipe memilik tata caranya tersendiri, yaitu ukuran kromosom, pola pita, dan letak sentromer. Total informasi genetik yang tersimpan dalam kromosom disebut genom. Kariotip genom manusia dapat dilihat pada Gambar 4.

Klasifikasi dan pemberian nomor kromosom manusia yang diputuskan oleh Konferensi Genetika di Universitas Colorado, Denver USA pada bulan April 1960 adalah sebagai berikut :



Gambar 4. Kariotipe genom manusia (Chaterine, 2010).

1. Grup A. Terdiri atas kromosom nomor 1,2 dan 3. berukuran besar. Kromosom 1 dan 3 digolongkan kromosom metasentrik, sedangkan kromosom 2 cenderung submetasentrik.

2. Grup B. Terdiri atas kromosom nomor 4 dan 5. Digolongkan sebagai kromosom submetasentrik dan memiliki ukuran besar.

3. Grup C. Terdiri atas kromosom nomor 6- 12 ditambah kromosom X. merupakan kromosom submetasentrik berukuran sedang.

4. Grup D. Terdiri atas kromosom nomor 13-15. Digolongkan sebagai kromosom akrosentrik dan memiliki ukuran sedang.
5. Grup E. Terdiri atas kromosom nomor 16-18. Berukuran sedang-kecil. Kromosom 16 digolongkan sebagai kromosom metasentrik, sedangkan kromosom 17 dan 18 digolongkan submetasentrik.
6. Grup F. Terdiri atas kromosom nomor 19 dan 20. Digolongkan kromosom metasentrik dan berukuran kecil.
7. Kromosom G. Terdiri atas kromosom nomor 21 dan 22, ditambah kromosom Y. Kromosom G termasuk kromosom akrosentrik dan berukuran kecil (Russel, 1994). .

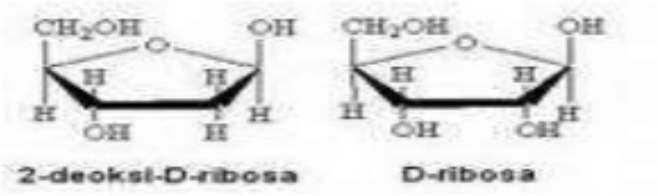
2.3 DNA DAN RNA

Gen pertama kali diperkenalkan oleh Thomas Hunt Morgan, ahli genetika dan embriologi Amerika Serikat (1911), yang mengatakan bahwa substansi hereditas yang dinamakan gen terdapat dalam lokus, di dalam kromosom. Fungsi gen antara lain: a. Menyampaikan informasi kepada generasi berikutnya. b. Sebagai penentu sifat yang diturunkan. c. Mengatur perkembangan dan metabolism. Bentuk fisiknya adalah urutan DNA dan RNA yang menyandi suatu protein, polipeptida.

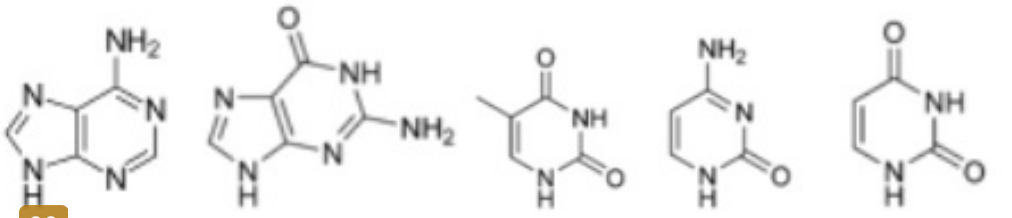
DNA dan RNA adalah bahan genetik, merupakan polimer asam nukleat yang tersusun dari sejumlah nukleotida yang struktur dasarnya mirip. Setiap nukleotida memiliki satu gugus fosfat, satu gugus pentosa, dan satu gugus basa nitrogen (nukleobasa). Perbedaan RNA dengan DNA terletak pada satu gugus hidroksil pada cincin gula pentosa, untuk molekul RNA dinamakan D-ribosa, sedangkan gugus pentosa pada DNA disebut 2-deoksiribosa (Gambar 5).

Basa nitrogen yang menyusun RNA dan DNA hampir sama, terdiri dari adenin, guanin, sitosin, timin dan urasil, dimana basa timin pada DNA diganti dengan urasil pada RNA (Gambar 6). Nukleobasa yang terhubung dengan sebuah gugus gula disebut sebagai nukleosida, dan nukleosida yang terhubung dengan satu atau lebih gugus fosfat disebut sebagai nukleotida.

Polimer yang terdiri dari nukleotida yang saling terhubung menjadi satu rantai disebut sebagai polinukleotida. Dalam organisme hidup, DNA biasanya ditemukan dalam bentuk berpasangan dan terikat kuat sedangkan molekul RNA adalah rantai tunggal yang berpilin (Gambar 7.)

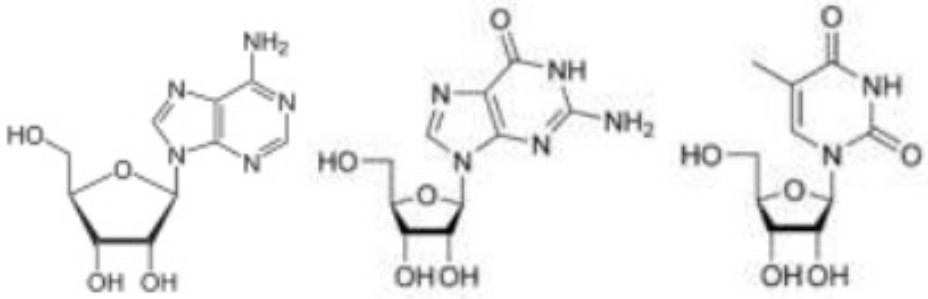


Gambar 5. Gula Ribosa

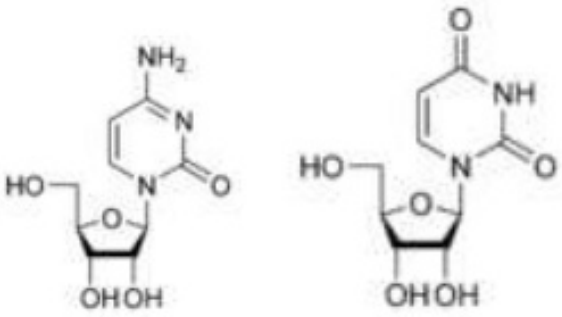


90

Adenin (A) Guanin (G) Timin (T) Sitosin (C) urasil (U)

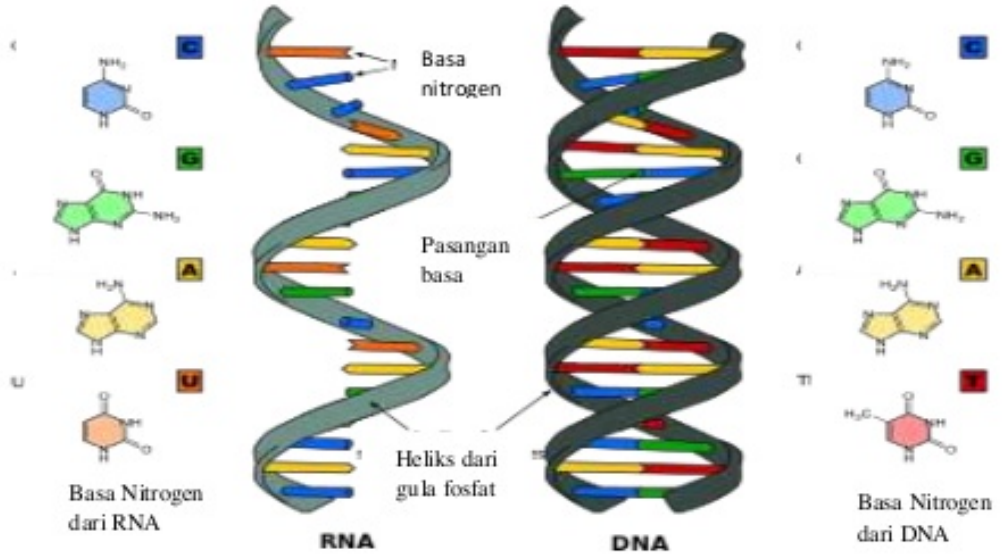


Adenosina Guanosina timidina



sitidina uridina

Gambar 6. Basa Nitrogen dan nukleosida pembentuk molekul DNA dan RNA

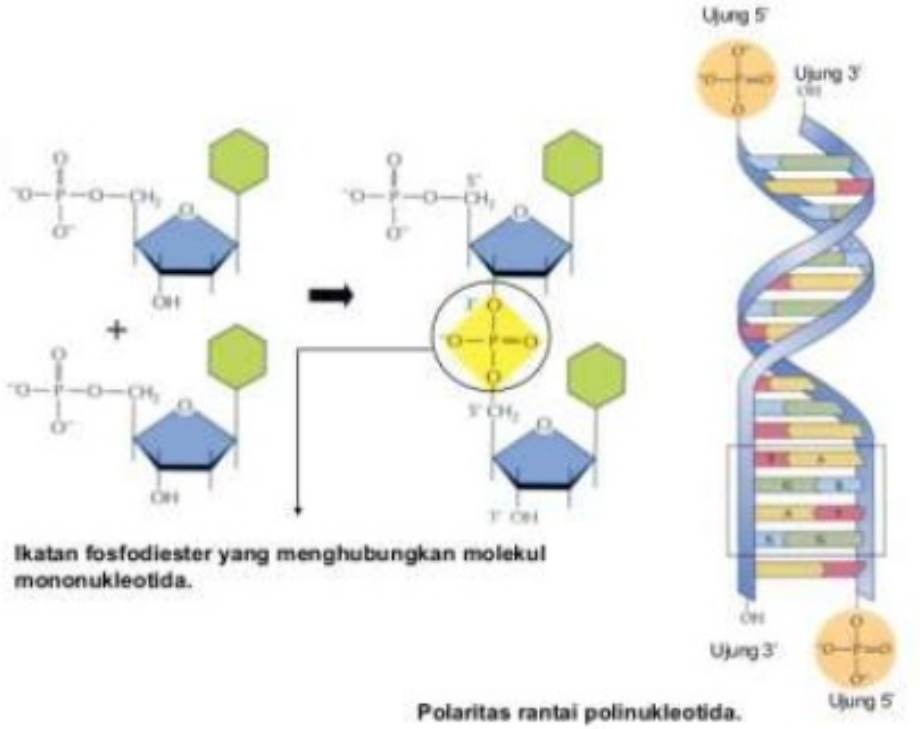


Gambar 7. Molekul RNA dan DNA

Rantai punggung untai DNA terdiri dari gugus fosfat dan gula yang berselang-seling. Dua gugus gula terhubung dengan fosfat melalui ikatan fosfodiester antara atom karbon ketiga pada cincin satu gula dan atom karbon kelima pada gula lainnya (Gambar 8).

Ikatan yang tidak simetris ini membuat DNA memiliki arah atau orientasi tertentu. Pada struktur heliks ganda, orientasi rantai nukleotida pada satu untai berlawanan dengan orientasi nukleotida unting lainnya. Hal ini disebut sebagai *antiparalel*. Kedua ujung asimetris DNA disebut sebagai 5' (lima prima) dan 3' (tiga prima). Ujung 5' memiliki gugus

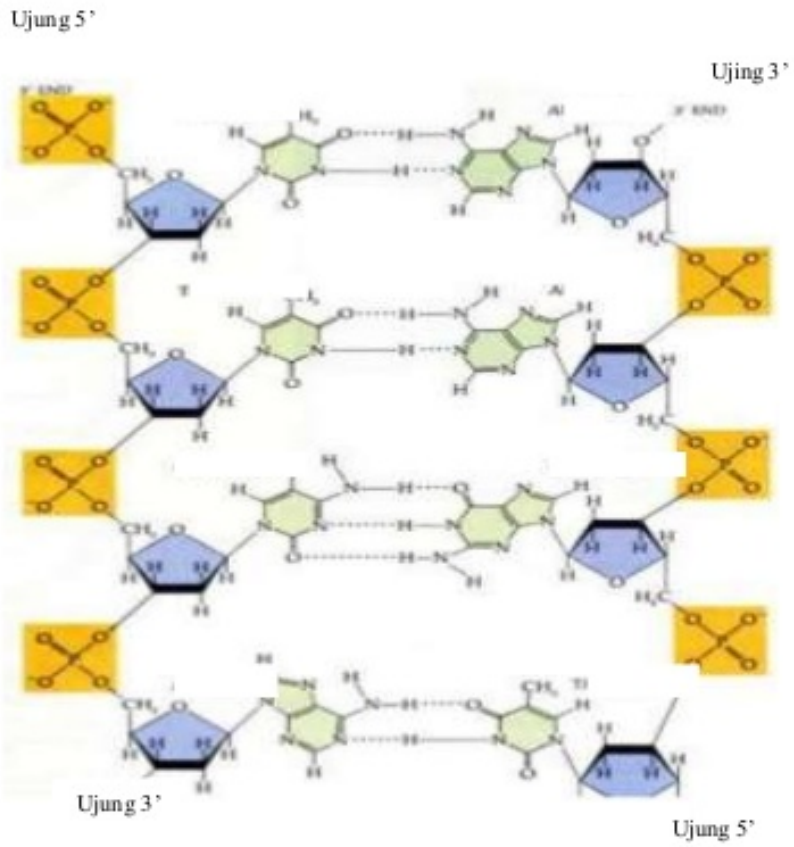
fosfat terminus, sedangkan ujung 3' memiliki gugus hidroksi terminus (Gambar 8.).



Gambar 8. Ikatan fosfodiester dan ujung asimetris DNA

Dua untai DNA saling berpilin membentuk heliks ganda. Heliks ganda ini distabilisasi oleh dua gaya utama: ikatan hidrogen antar nukleotida dan interaksi tumpukan antar nukleobasa aromatik. Timin berikatan adenine (T-A), Adenin berikatan dengan timin (A-T), Guanin berikatan dengan sitosin (G-C) dan sitosin dengan G (C-G). (Gambar 9.). Dalam

lingkungan sel yang berair, ikatan π konjugasi antar basa nukleotida tersusun tegak lurus terhadap sumbu pilinan DNA. Struktur DNA dua rantai heliks yang berpilin dengan jarak



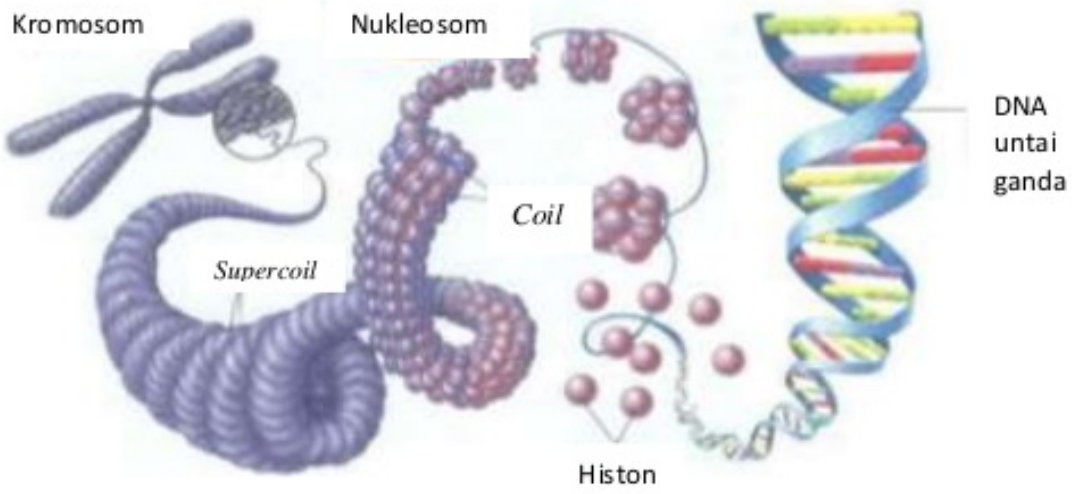
Gambar 9. Ikatan antara basa nitrogen molekul DNA

antar putaran heliks 34 Å (3,4 nanometer) dan jari-jari 10 Å (1,0 nanometer). Dalam lingkungan sel yang berair, ikatan π konjugasi antar basa nukleotida tersusun tegak lurus terhadap sumbu pilinan DNA. Struktur DNA dua rantai heliks yang

berpilin dengan jarak antar putaran heliks 34 Å (3,4 nanometer) dan jari-jari 10 Å (1,0 nanometer).

Menurut kajian lainnya, ketika diukur menggunakan larutan tertentu, rantai DNA memiliki lebar 22-26 Å (2,2-2,6 nanometer) sedangkan satu satuan nukleotida memiliki panjang 33 Å (0,33 nm). Walaupun satuan nukleotida ini sangatlah kecil, polimer DNA dapat memiliki jutaan nukleotida yang terangkai seperti rantai. Misalnya, kromosom 1 yang merupakan kromosom terbesar pada manusia mengandung sekitar 220 juta pasangan basa.

Dalam kromosom, protein kromatin seperti histon berperan dalam penyusunan DNA menjadi struktur kompak. Ikatan DNA dan protein histon menghasilkan Nukleosom (Gambar 10).



Gambar 10. Hubungan kromosom, nukleosom, histon dan DNA

Sebagai bahan genetik, RNA berwujud sepasang pita. Genetika molekular klasik menyatakan, pada eukariota terdapat tiga tipe RNA yang terlibat dalam proses sintesis protein:

1. RNA-duta (*messenger-RNA*, mRNA) disintesis oleh RNA polimerase I.
2. RNA-ribosom (*ribosomal-RNA*, rRNA) disintesis oleh RNA polimerase II
3. RNA-transfer (*transfer-RNA*, tRNA) disintesis oleh RNA polimerase II.

Peran penting RNA terletak pada fungsinya sebagai perantara antara DNA dan protein dalam proses ekspresi genetik yang berlaku untuk semua organisme hidup. Dalam peran ini, RNA diproduksi sebagai salinan kode urutan basa nitrogen DNA dalam proses transkripsi. Kode urutan basa ini tersusun dalam bentuk 'triplet', tiga urutan basa N, yang dikenal dengan nama kodon. Setiap kodon berelasi dengan satu asam amino, monomer yang menyusun protein.

Penelitian mutakhir atas fungsi RNA menunjukkan bukti yang mendukung atas teori *'dunia RNA'*, yang menyatakan bahwa pada awal proses evolusi, RNA merupakan bahan genetik universal sebelum organisme hidup memakai DNA. Pada akhir abad ke-20 dan awal abad ke-21 diketahui bahwa

RNA hadir dalam berbagai macam bentuk dan terlibat dalam proses pascatranslasi. Dalam pengaturan ekspresi genetik sekarang dikenal RNA-mikro (miRNA) yang terlibat dalam "peredaman gen" atau *gene silencing* dan *small-interfering RNA* (si-RNA) yang terlibat dalam proses pertahanan terhadap serangan virus. Pada sekelompok virus (misalnya bakteriofag), RNA merupakan bahan genetik. Ia berfungsi sebagai penyimpan informasi genetik, sebagaimana DNA pada organisme hidup lain. Ketika virus ini menyerang sel hidup, RNA yang dibawanya masuk ke sitoplasma sel korban, yang kemudian ditranslasi oleh sel inang untuk menghasilkan virus-virus baru.

Ilmuwan forensik dapat menggunakan DNA yang terletak dalam darah, sperma, kulit, liur atau rambut yang tersisa di tempat kejadian kejahatan untuk mengidentifikasi kemungkinan tersangka, sebuah proses yang disebut *finger printing* genetika atau pemrofilan DNA (*DNA profiling*). Dalam pemrofilan DNA panjang relatif dari bagian DNA yang berulang seperti *short tandem repeats dan minisatelit*, dibandingkan.

Banyak yurisdiksi membutuhkan terdakwa dari kejahatan tertentu untuk menyediakan sebuah contoh DNA untuk

dimasukkan ke dalam *database* komputer. Hal ini telah membantu investigator menyelesaikan kasus lama di mana pelanggar tidak diketahui dan hanya contoh DNA yang diperoleh dari tempat kejadian (terutama dalam kasus perkosaan antar orang tak dikenal). Metode ini adalah salah satu teknik paling tepercaya untuk mengidentifikasi seorang pelaku kejahatan, tetapi tidak selalu sempurna, misalnya bila tidak ada DNA yang dapat diperoleh, atau bila tempat kejadian terkontaminasi oleh DNA dari banyak orang.

2.4 Sejarah Penemuan DNA

23

- Tahun 1868 Ilmuwan Swiss, Friedrich Miescher di Tubingen, Jerman, pertama kali berhasil memurnikan DNA dan menamainya *nuclein*, karena lokasinya di dalam inti sel.

23

- Abad 20 Penelitian terhadap peranan DNA di dalam sel baru dimulai, bersamaan dengan ditemukannya postulat genetika Mendel. DNA dan protein dianggap dua molekul yang paling memungkinkan sebagai pembawa sifat genetis.

23

- Abad 40-an berdasarkan penelitian oleh Avery dan rekan-rekannya membuktikan fungsi DNA sebagai materi genetic. Ekstrak dari sel bakteri yang satu gagal men-transform sel bakteri lainnya kecuali jika DNA dalam ekstrak dibiarkan utuh. Eksperimen yang dilakukan Hershey dan Chase membuktikan

hal yang sama dengan menggunakan pencari jejak radioaktif (*radioactive tracers*).

- Francis Crick dan rekannya James Watson berdasarkan hasil difraksi sinar X pada DNA oleh Maurice Wilkins dan Rosalind Franklin berhasil memecahkan misteri sebelumnya: "bagaimanakah struktur DNA sehingga ia mampu berfungsi sebagai materi genetik".

-Pada tahun 1953, James Watson dan Francis Crick mendefinisikan bahwa DNA adalah polimer yang disusun oleh 4 basa golongan asam nukleat, yaitu: dua dari kelompok purina (adenina dan guanine); dan dua lainnya dari kelompok pirimidina (sitosina dan timina). Keempat nukleobasa tersebut terhubung dengan glukosa-fosfat.

- Tahun 1958, berdasarkan percobaan Meselson-Stahl berhasil mengkonfirmasi mekanisme replikasi DNA

- Tahun 1962 Crick, Watson dan Wilkins berhasil meraih hadiah Nobel Kedokteran atas penemuan DNA. Molekul DNA berbentuk heliks yang berputar setiap 3,4 nm, jarak antar molekul nukleobasa adalah 0,34 nm, hingga dapat ditentukan bahwa terdapat 10 molekul nukleobasa pada setiap putaran DNA. Setelah diketahui bahwa diameter heliks DNA sekitar 2 nm, maka disimpulkan bahwa DNA bukan molekul 1 rantai, melainkan terdiri dari 2 rantai heliks (*double helix*).

BAB 3

SINTESIS PROTEIN

Setelah membaca Bab 3 ini pembaca diharapkan dapat: Mengetahui tentang sintesis protein dan informasi genetika dan mengerti tentang proses replikasi DNA, Transkripsi RNA dan proses translasi.

3.1 Pengertian sintesis protein

DNA sebagai bahan genetis mengendalikan sifat individu melalui proses sintesis protein (ekspresi gen). Ada dua kelompok protein yang disintesis, yaitu protein struktural dan protein katalis. Protein struktural akan membentuk sel, jaringan, dan organ, sehingga akan berpengaruh terhadap penampakan fisik suatu individu, yang akan menyebabkan ciri fisik tiap orang berbeda satu sama lain. Protein katalis akan membentuk enzim dan hormon yang berpengaruh besar terhadap proses metabolisme, dan akhirnya akan berpengaruh terhadap sifat psikis, emosi, kepribadian dan kecerdasan seseorang.

Rantai DNA dalam kromosom terbagi menjadi ribuan bagian yang lebih pendek yang disebut gen. Jadi, gen merupakan bagian dari rantai DNA. Gen tertentu membawa informasi yang dibutuhkan untuk membuat protein. Informasi

itulah yang disebut kode genetik. Kode genetik diekspresikan ke dalam bentuk sintesis protein. Sintesis protein membutuhkan bahan dasar asam amino dan berlangsung dalam ribosom. Dengan kata lain, kode genetik adalah cara pengkodean urutan nukleotida pada DNA atau RNA untuk menentukan urutan asam amino pada saat sintesis protein. Sebelum sintesis protein berlangsung terdapat proses *replikasi*, yaitu penggandaan DNA heliks ganda. Proses sintesis protein berlangsung dalam dua tahap. Tahap pertama adalah proses *transkripsi* yaitu pembentukan RNA oleh DNA yang akan membawa kode genetik dari DNA. RNA yang sintesis adalah mRNA (messenger RNA), tRNA (transport RNA) dan rRNA (ribosom RNA, yang terdiri dari: rRNA berat dan RNA ringan). Tahap kedua sintesis protein adalah proses *translasi* yaitu penerjemahan kode genetik yang dibawa oleh mRNA. Di dalam setiap sel terdapat ribuan reaksi kimia dan enzim yang berfungsi mengatur jalannya semua tahap reaksi. Dalam sistesis protein memerlukan produksi enzim-enzim spesifik yang akan menentukan reaksi kimia yang terjadi didalam sel.

3.2. Replikasi DNA

Replikasi DNA adalah proses penggandaan rantai DNA heliks ganda, yang merupakan dasar penyampaian informasi

dari suatu generasi ke genarasi. Didalam sel replikasi DNA terjadi sebelum pembelahan sel. Pada prokariota terus-menerus melakukan replikasi DNA. Pada eukariota, waktu terjadinya replikasi DNA sangatlah diatur, yaitu pada fase S siklus sel, sebelum mitosis atau meiosis.

Replikasi adalah suatu proses yang rumit, nukleotida harus berbentuk trifosfat, bukan monofosfat. Ada beberapa tempat khusus dimana replikasi dimulai dan berhenti. Proses ini selalu berkembang sejak model DNA heliks ganda diperkenalkan beberapa decade yang lalu. Adapun urutan-urutan peristiwa dalam repilkasi DNA (Gambar 11.) sebagai berikut:

1. **Pembukaan heliks ganda.**

Replikasi diawali dengan pemisahan sementara kedua rantai DNA membentuk semacam garpu replikasi (*replication fork*). Garpu replikasi ini dibentuk akibat enzim *helikase* yang memutus ikatan-ikatan hidrogen yang menyatukan kedua untaian DNA, yang membuat terbukanya untaian ganda tersebut menjadi dua cabang yang masing-masing terdiri dari sebuah untaian tunggal DNA. Masing-masing cabang tersebut menjadi "cetakan" untuk pembentukan dua untaian DNA baru berdasarkan urutan nukleotida komplementernya.

2. Penstabilan Garpu DNA.

Setelah rantai terbuka segera distabilkan oleh protein-protein pengikat DNA, yang disebut *"heliks stabilizing Protein* (HTP). Molekul-molekul HTP akan bergerak sepanjang rantai yang terbentuk untuk mencegah supaya tidak memilin lagi, akibatnya bagian didepan garpu akan terpilin rapat (*supercoiled)* karena adanya tekanan. Untuk itu ada 2 dua enzim DNA topoisomerase yang siap sedia mereduksi tegangan yang timbul, yaitu DNA topoisomerase 1 yang menimbulkan patahan pada salah satu rantai DNA untuk meniadakan *supercoiled,* sedangkan DNA topoisomerase II menimbulkan patahan pada kedua rantai.

3. Penyedian rantai primer.

Setelah DNA terbuka akan diikuti oleh pembentukan rantai DNA baru, untuk itu harus tersedia suatu "primer", rantai primer ini bersifat sementara. Rantai primer adalah suatu rantai pendek sekitar 5 – 10 nukleotida, dapat berupa DNA atau RNA, tetapi biasanya berupa RNA yang dibentuk oleh enzim RNA polymerase yang disebut primase. Rantai primer ini diletakkan oleh primase pada kedua sisi garpu, yang sesuai arah pilinan, sedang yang satu arah berlawanan.

4. Polimerisasi.

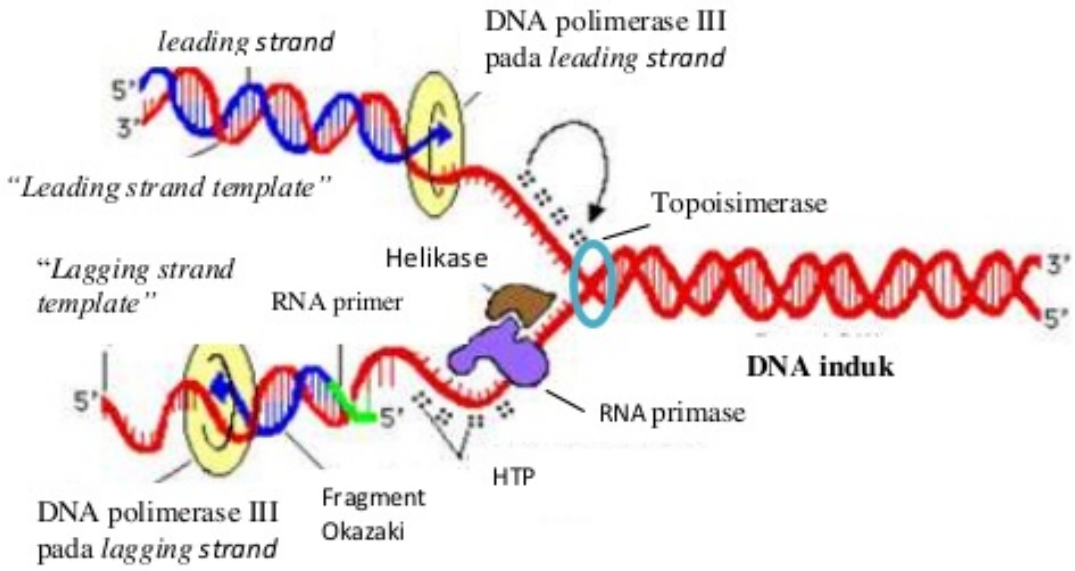
Polimerisasi adalah pembentukan rantai untaian DNA baru berdasarkan urutan nukleotida komplementernya. Polimerisasi rantai DNA baru akan dimulai pada ujung pimer. Untuk itu harus tersedia empat macam deoksiribo nukleotida fosfat (dATP, dGTP, dSTP dan dTTP). Mula-mula DNA polymerase mengikat secara lemah unit-unit nukleotida trifosfat dan memasangkan nukleotida yang cocok sesuai cetakan. Molekul DNA polimerase melekat pada seuntai tunggal DNA induk dan bergerak sepanjang untai tersebut memperpanjang primer, membentuk untaian tunggal DNA baru yang disebut *leading strand* dan *lagging strand*.

5. Pelepasan primer.

Pada waktu polimerisasi berlangsung, primer akan segera dilepaskan oleh DNA polymerase atau RNAase yang ditugaskan khusus untuk itu. Sebagai akibatnya akan terbentuk gap (celah) atau semacam torehan karena tidak bernukleotida.

6. Penyambungan celah oleh DNA ligase.

Gap yang terjadi akibat pelepasan primer ini akan segera diisi oleh DNA polymerase dengan menempelkan nukleotida-nukleotida yang komplementer, sampai akhirnya DNA polymerase tidak lagi menambahkan nukleotida terakhir pada



Gambar 11. Proses replikasi.

ujung 3'OH sehingga terbentuk semacam celah yang terbuka. Untuk itu datang suatu enzim penyambung yang disebut ligase yang dengan ATP atau NAD sebagai sumber energi akan menyambungkan celah tadi dengan ikatan fosfat.

Sebagaimana diketahui kedua rantai double heliks DNA "template" bersifat anti parallel. Pada replikasi DNA, untaian pengawal (*leading strand*) ialah untaian DNA yang disintesis dengan arah 5'→3' secara berkesinambungan. Pada untaian ini, DNA polimerase mampu membentuk DNA menggunakan ujung 3'-OH bebas dari sebuah primer RNA dan sintesis DNA berlangsung secara berkesinambungan, searah dengan arah pergerakan garpu replikasi.

Lagging strand ialah untaian DNA yang terletak pada sisi yang berseberangan dengan *leading strand* pada garpu replikasi. Untaian ini disintesis dalam segmen-segmen yang disebut *fragmen Okazaki*. Pada untaian ini, primase membentuk primer RNA. DNA polimerase dengan demikian dapat menggunakan gugus OH 3' bebas pada primer RNA tersebut untuk mensintesis DNA dengan arah 5'→3'. Fragmen primer RNA tersebut lalu disingkirkan (misalnya dengan RNAase dan DNA polimerase I) dan deoksiribonukleotida baru ditambahkan untuk mengisi celah yang tadinya ditempati oleh RNA. DNA ligase lalu menyambungkan fragmen-fragmen Okazaki.

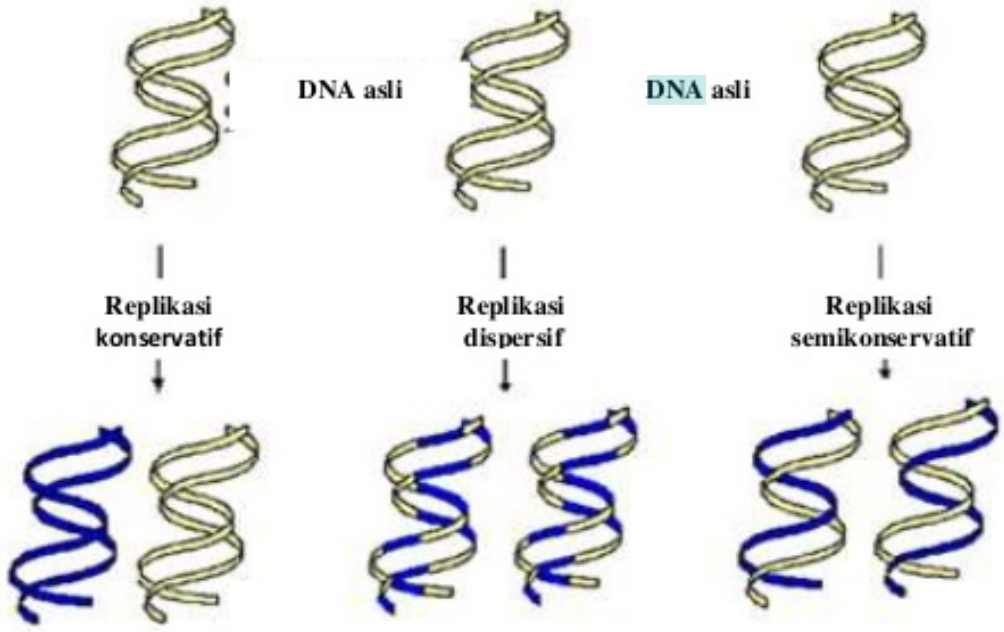
Okasaki *et al.,* 1968, membuktikan bahwa primer-primer untuk pembentukan *lagging chain* diletakkan pada jarak-jarak tertentu. Mereka berhasil membuktihan bahwa mulanya terbentuk potongan-potongan DNA yang relatif pendek dan akan saling terikat secara kovalen membentuk rantai DNA yang panjang. Potongan-potongan DNA tersebut mulanya belum tersambung satu dengan yang lainnya (diskontinyu). Potongan-potongan ini kemudian disebut frakmen okasaki.

Pembentukan *leading strand* hanya membutuhkan satu primer yang biasanya diletakkan searah dengan permulaan rantai,

diperkirakan setiap 1000 - 2000 nukleotida pada sel prokariotik dan kira-kira 100-200 nukleotida pada sel eukariotik. Oleh karena itu pada *lading strand* setelah pelepasan primer-primer akan terbetuk lebih banyak gap. Perakitan rantai ini yaitu menyambungkan gap-gap tersebut yang dikerjakan oleh DNA ligase.

Replikasi molekul DNA terdiri dari tiga model, yang terdiri dari *semi konservatif, konservatif* dan *dispersive* (Gambar 12.)

Model *Semikonservatif* yang dikemukakan oleh Watson dan Crick, dimana setiap molekul untaian ganda DNA anakan terdiri atas satu untaian-tunggal DNA induk dan satu untaian-tunggal DNA hasil sintesis baru.



Gambar 12. Model Replikasi DNA

Model *Konservatif* menyatakan setiap molekul untai ganda DNA anakan terdiri atas satu untai ganda DNA induk dan satu untai ganda DNA hasil sintesis baru. *Model Dispersif* menyatakan bahwa molekul DNA induk mengalami fragmentasi sehingga DNA anakan terdiri atas campuran molekul lama (berasal dari DNA induk) dan molekul hasil sintesis baru

Model semi konservatif merupakan model yang tepat untuk proses replikasi DNA. Replikasi DNA semikonservatif ini berlaku bagi organisme prokariot maupun eukariot. Perbedaan replikasi antara organisme prokariot dengan eukariot adalah dalam hal jenis dan jumlah enzim yang terlibat, serta kecepatan dan kompleksitas replikasi DNA. Pada organisme eukariot, peristiwa replikasi terjadi sebelum pembelahan mitosis, tepatnya pada fase sintesis dalam siklus pembelahan sel.

3.3.Transkripsi

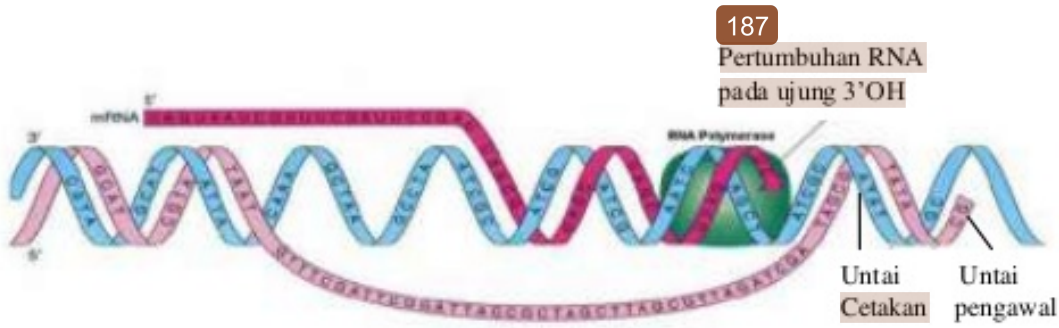
Transkripsi adalah mekanisme dimana gen-gen disalin atau dikopi menjadi RNA. Transkripsi mensintesis baik mRNA, tRNA, maupun rRNA. Namun, hanya basa nitrogen yang terdapat pada mRNA saja yang nantinya diterjemahkan menjadi asam amino (protein). Informasi genetika yang

ditranskrpsikan menjadi mRNA merupakan perintah atau sandi untuk melekul protein yang akan disintesis di ribosom.

Rantai DNA yang mencetak mRNA disebut rantai *sense/template*. Pasangan rantai sense *yang tidak mencetak* mRNA disebut rantai *antisense*. Pada rantai sense DNA didapati pasangan tiga basa nitrogen (triplet) yang disebut *kodogen*. Triplet ini akan mencetak triplet pada rantai mRNA yang disebut *kodon*. Kodon inilah yang disebut *kode genetika* yang berfungsi mengkodekan jenis asam amino tertentu yang diperlukan dalam sintesis protein. Selanjutnya boleh dikatakan bahwa mRNA atau kodon itulah yang merupakan kode genetika.

Transkripsi DNA tergantung pada pasangan komplemen basa. Pasangan rantai ganda DNA berpisah pada suatu lokasi khusus, salah satu rantai bertindak sebagai DNA cetakan. Pada rantai DNA cetakan, basa nitrogen bebas berpasangan kepada basa nitrogen komplemennya. Basa nitrogen A berpasangan dengan basa nitrogen T pada DNA, G dengan C, C dengan G, dan U dengan A. Proses berpasangannya basa yang bebas pada DNA cetakan dipercepat atau dikatalis oleh enzim RNA polimerase dengan cara melekatkan basa sepanjang penambahan ribonukleotida pada

DNA. Prinsip kerja RNA polimerase adalah menyatukan pasangan komplemen basa pada DNA template (Gambar 13)



Gambar 13. Proses penyatuan pasangan basa komplemen

Terdapat tiga macam RNA polimerase yang digunakan dalam transkipsi. Ketiga RNA polimerase eukariot tersebut memulai proses transkripsi hanya ketika berkombinasi dengan faktor transkripsi khusus dan aktivator transkripsi. RNA polimerase I (Pol I) mentranskripsi gen r RNA yang berukuran 58S; 28S; dan 18 S (svedberg). RNA polimerase seringkali berasosiasi dengan kromosom pada daerah inti. Ikatan yang terbentuk antara promoter dengan RNA polimerase I berbeda jauh dengan yang terbentuk oleh Polimerase II dan III. Polimerase II (Pol II) mentranskripsi mulai dari promoter yang mengendalikan sintesis molekul pre-mRNA yang terdiri dari daerah penyandian dan bukan penyandian gen. RNA polimerase III (Pol III) mentranskripsi promoter yang mengendalikan sintesis RNAs yang pendek seperti rRNA ukuran 5S, tRNA, snRNAs, dan srpRNAs.

114

Transkripsi terdiri dari tiga tahap, yaitu inisiasi (permulaan), elongasi (pemanjangan), dan terminasi (pengakhiran) rantai RNA yang prosesnya sebagai berikut (Gambar 14):

1. **Inisiasi**

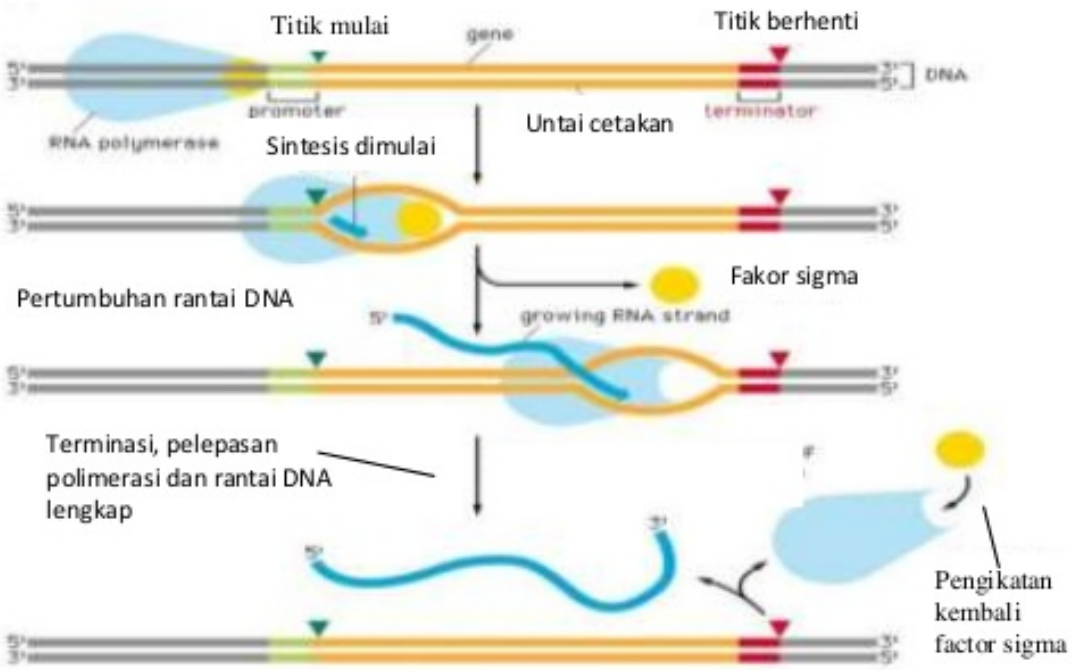
Daerah DNA dimana RNA polimerase melekat dan mengawali transkripsi disebut sebagai promoter. Faktor sigma dilepaskan dan RNA polimerase melaksanakan proses transkripsi.

Suatu promoter berada pada titik awal (start point) transkripsi (nukleotida dimana sintesis RNA sebenarnya dimulai) dan biasanya membentang beberapa pasangan nukleotida di depan titik awal tersebut. Selain menentukan di mana transkripsi dimulai, promotor juga menentukan yang mana dari kedua untai heliks DNA yang digunakan sebagai cetakan.

2. **Elongasi**

Pada saat RNA bergerak di sepanjang DNA, pilinan heliks ganda DNA tersebut terbuka secara berurutan kira- kira 10 hingga 20 basa DNA sekaligus. Enzim RNA polimerase menambahkan nukleotida ke ujung 3' dari molekul RNA yang sedang "tumbuh" di sepanjang heliks ganda DNA tersebut. Setelah sintesis RNA berlangsung, DNA heliks ganda

terbentuk kembali dan molekul RNA baru akan lepas dari cetakan DNA-nya. Transkripsi berlanjut pada laju kira-kira 60 nukleotida per detik pada sel eukariotik.



Gambar 14. Proses transkripsi

3. Terminasi

Transkripsi berlangsung sampai RNA polimerase mentranskripsi urutan DNA yang disebut terminator. Terminator merupakan urutan DNA yang berfungsi menghentikan proses transkripsi. Terdapat beberapa mekanisme yang berbeda untuk terminasi transkripsi yang

perinciannya sebenarnya masih kurang jelas. pada sel prokariotik, transkripsi biasanya berhenti tepat pada saat RNA polimerase mencapai titik terminasi. Sebaliknya, pada sel eukariotik, RNA polimerase terus melewati titik terminasi. Pada titik yang lebih jauh kira-kira 10 hingga 35 nukleotida, RNA yang telah terbentuk terlepas dari enzim tersebut.

Setelah transkripsi selesai untai mRNA eukariotik diproses oleh enzim, yaitu untuk menambahan kepala dan ekor serta pengeluaran intron oleh *spliceosome* (Gambar 15).

Gambar 15. Proses pengeluaran intron pada mRNA.

3.4 Translasi

Dalam proses translasi, sel menginterpretasikan suatu kode genetik menjadi protein yang sesuai. Informasi pada kode genetik ditentukan oleh basa nitrogen pada rantai DNA yang akan menentukan susunan asam amino. Seperti yang telah kita ketahui, hanya ada empat basa yang terdapat pada DNA (A, G, U, C), dan 20 macam asam amino. Jika tiap tiga basa (triplet) nukleotida, misalnya AGU, GAC, CGC, dan sebagainya, menjadi satu asam amino maka dari kombinasi basa-basa nukleotida tersebut akan menghasilkan 64 macam asam amino (Tabel 2.)

Tabel 2. Kode Genetika

Basa pertama												Basa ketiga
	U			C			A			G		
Basa kedua	U	UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys	U		
		UUC	Phe	UCC	Ser	UAC	Tyr	UGC	Cys	C		
		UUA	Leu	UCA	Ser	UAA	Stop	UGA	Stop	A		
		UUG	Leu	UCG	Ser	UAG	Stop	UGG	Try	G		
	C	CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg	U		
		CUC	Leu	CCC	Pro	CAC	His	CGC	Arg	C		
		CUA	Leu	CCA	Pro	CAA	Glu	CGA	Arg	A		
		CUG	Leu	CCG	Pro	CAG	Glu	CGG	Arg	G		
	A	AUU	Ile	ACU	Thr	AAU	Asp	AGU	Ser	U		
		AUC	Ile	ACC	Thr	AAC	ASp	AGC	Ser	C		
		AUA	Ile	ACA	Thr	AAA	Lys	AGA	Arg	A		
		AUG	Met	ACG	Thr	AAG	Lys	AGG	arg	G		
	G	GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gly	U		
		GUC	Val	GCC	Ala	GAC	Asp	GGC	Gly	C		
		GUA	Val	GCA	Ala	GAA	Glu	GGA	Gly	A		
		GUG	Val	GCG	Ala	GAG	Glu	GGG	Gly	G		

Jumlah asam amino ini melebihi jumlah 20 macam asam amino. Hal tersebut menyebabkan adanya suatu "kelimpahan" dalam kode genetika. Terdapat lebih dari satu triplet mengkode suatu asam amino tertentu. Istilah yang diberikan oleh para ahli genetika pada kelimpahan semacam ini adalah *degenerasi atau redundansi*.

Kode genetik tersebut berupa serangkaian kodon di sepanjang molekul RNAd, interpreternya adalah RNAt. RNAt mentransfer asam amino-asam amino dari "kolam" asam amino di sitoplasma ke ribosom. Molekul-molekul RNAt tidak semuanya identik. Molekul RNAt membawa asam amino spesifik pada salah satu .ujungnya yang sesuai dengan triplet nukleotida pada ujung RNAt lainnya yang disebut antikodon. Misalnya, perhatikan, kodon RNAd UUU yang ditranslasi sebagai asam amino fenilalanin. RNAt pembawa fenilalanin memiliki antikodon AAA yang komplemen terhadap UUU agar terjadi reaksi penambahan (transfer) fenilalanin pada rantai polipeptida sebelumnya

Asosiasi kodon dan antikodon sebenarnya merupakan bagian kedua dari dua tahap pengenalan yang dibutuhkan untuk translasi suatu pesan genetik yang akurat. Asosiasi ini harus

didahului oleh pelekatan yang benar antara RNAt dengan asam amino. RNAt yang mengikatkan diri pada kodon RNAd harus membawa hanya asam amino yang tepat ke ribosom. Tiap asam amino digabungkan dengan RNAt yang sesuai oleh suatu enzim spesifik yang disebut aminoasil-RNAt sintetase (aminoacyl-tRNA synthetase).

Ribosom memudahkan pelekatan yang spesifik antara antikodon tRNA dengan kodon mRNA selama sintesis protein. Sebuah ribosom dapat dilihat melalui mikroskop elektron, tersusun dari dua subunit, yaitu subunit besar dan subunit kecil. Subunit ribosom dibangun oleh protein-protein dan molekul-molekul rRNA.

Dalam proses translasi ribosom akan membaca kode yang ada pada mRNA dengan bantuan RNA lain, yakni RNA transfer (tRNA). Di dalam sitoplasma banyak terdapat tRNA, asam-asam amino dan lebih dari 20 enzim-enzim amino asil sintetase. Pemindahan asam amino dari sitoplasma ke ribosom dilakukan oleh tRNA. Asam amino terlebih dahulu diaktifkan oleh ATP (Adenosin Trifosfat), proses ini dipengaruhi oleh enzim amino asil sintetase. Hasilnya berupa Aminoasil Adenosin Monofosfat (AA-AMP) dan fosfat organik. AA-AMP diikat oleh tRNA untuk dibawa ke ribosom. Ujung bebas

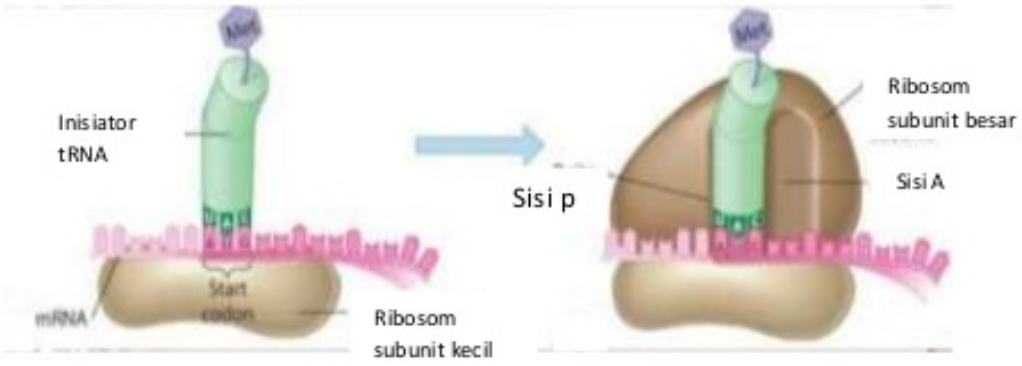
19

tRNA mengikat asam amino tertentu yang telah diaktifkan. Tiga basa nukleotida pada tRNA (antikodon) nantinya berpasangan dengan tiga basa yang pada pita mRNA (kodon) yang harus sesuai.

Translasi menjadi tiga tahap, yaitu inisiasi, elongasi, dan termini Semua tahapan ini memerlukan faktor-faktor protein yang membantu RNAd, RNAt, dan ribosom selama proses translasi. Inisiasi dan elongasi rantai polipeptida juga membutuhkan sejumlah energi. Energi ini disediakan oleh GTP (guanosin trifosfat), suatu molekul yang mirip dengan ATP.

1. Inisiasi

Tahap inisiasi dari translasi terjadi dengan adanya mRNA, sebuah tRNA dan dua subunit ribosom. Pertama, subunit ribosom kecil mengikatkan diri pada RNAd dan RNAt inisiator. Subunit ribosom kecil melekat pada tempat tertentu di ujung 5' dari RNAd. Di dekat tempat pelekatan ribosom subunit kecil pada RNAd terdapat kodon inisasi AUG, yang memberikan sinyal dimulainya proses translasi. RNAt inisiator yang membawa asam amino metionin, melekat pada kodon inisiasi AUG. Oleh karenanya, persyaratan inisiasi adalah kodon RNAd harus mengandung triplet AUG dan terdapat RNAt inisiator berisi antikodon UAC yang membawa metionin (Gambar 16).



Gambar 16. Proses inisiasi dalam proses translasi

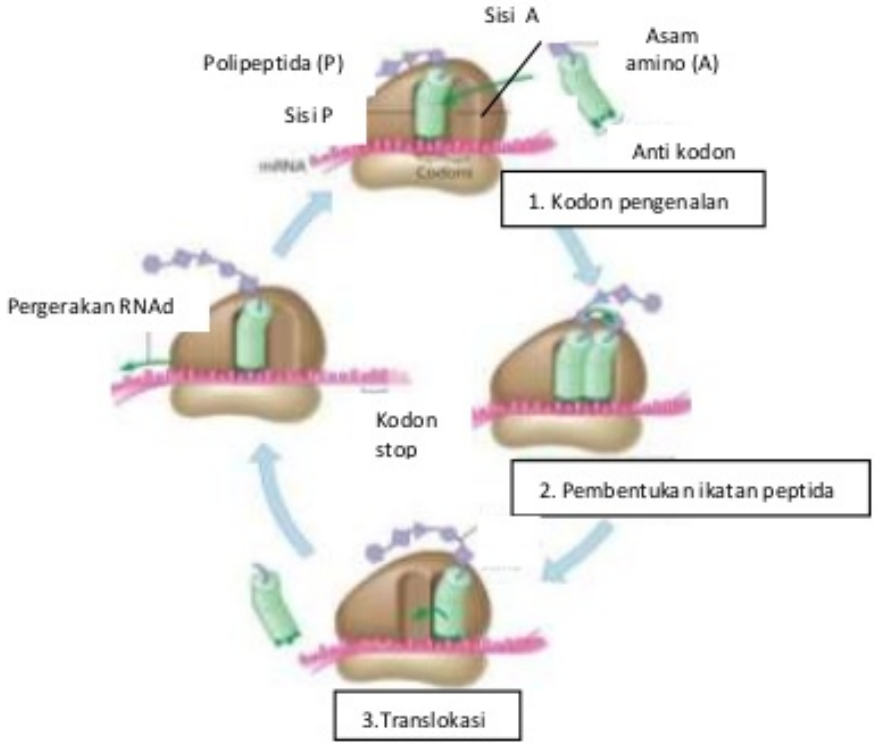
Jadi pada setiap proses translasi, metionin selalu menjadi asam amino awal yang diingat. Triplet AUG dikatakan sebagai start codon karena berfungsi sebagai kodon awal translasi.

2. *Elongasi*

Pada tahap elongasi dari translasi, asam amino-asam amino berikutnya ditambahkan satu per satu pada asam amino pertama (metionin). Kodon mRNA pada ribosom membentuk ikatan hidrogen dengan antikodon. molekul tRNA yang komplemen dengannya. Molekul dari subunit ribosom besar berfungsi sebagai enzim, yaitu mengkatalisis pembentukan ikatan peptida yang menggabungkan polipeptida yang memanjang ke asam amino yang baru tiba. Pada tahap ini, polipeptida memisahkan diri dari tRNA tempat perlekatannya semula dan asam amino pada ujung karboksilnya berikatan dengan asam amino yang dibawa oleh tRNA yang baru masuk.

Saat mRNA berpindah tempat, antikodonnya tetap berikatan dengan kodon tRNA. mRNA bergerak bersama-sama dengan antikodon ini dan bergeser ke kodon berikutnya yang akan ditranslasi. Sementara itu, tRNA sekarang tanpa asam amino karena telah diikatkan pada polipeptida yang sedang memanjang. Selanjutnya tRNA keluar dari ribosom. Langkah ini membutuhkan energi yang disediakan oleh hidrolisis GTP.

mRNA bergerak melalui ribosom ke satu arah saja, mulai dari ujung 5'. Hal ini sama dengan ribosom yang bergerak bersama-sama pada mRNA. Hal yang penting di sini adalah ribosom dan mRNA bergerak relatif satu sama lain, dengan arah yang sama, kodon demi kodon. Siklus elongasi menghabiskan waktu kurang dari detik dan terus berlangsung hingga rantai polipeptidanya lengkap (Gambar 17)



Gambar 17. Proses elongasi transkripsi RNA

3. Terminasi

Tahap akhir translasi adalah terminasi. Elongasi berlanjut hingga ribosom mencapai kodon stop. Triplet basa kodon stop adalah UAA, UAG, atau UGA. Kodon stop tidak mengkode suatu asam amino melainkan bertindak sebagai sinyal untuk menghentikan translasi.

BAB 4
REKAYASA GENETIKA

Setelah membaca Bab 4 ini diharapkan pembaca dapat: mengetahui tentang perangkat rekayasa genetika, metoda rekayasa genetika, teknik rekayasa genetika dan organisme transgenik (hewan transgenik dan tumbuhan transgenik).

4.1. Pengertian Rekayasa Genetika

Rekayasa genetika (DNA rekombinan) merupakan suatu sistem modifikasi genetik pada genom organisme menggunakan metode-metode dalam bioteknologi. Rekayasa genetika memungkinkan dilakukannya manipulasi gen-gen sehingga ekspresi gen dapat dikontrol dan produknya dapat dimanfaatkan untuk tujuan tertentu (Chaterine, 2010). Teknik ini sudah banyak dimanfaatkan untuk merekayasa gen fungsional serta sudah banyak pula dimanfaatkan untuk memproduksi organisme-organisme transgenik.

Modifikasi genetik memungkinkan adanya perubahan pada pasangan basa, pemotongan fragmen DNA tertentu, maupun penambahan atau insersi suatu gen. DNA dari suatu organisme diisolasi untuk kemudian dikombinasi dengan DNA target lainnya. Rekayasa genetika digunakan oleh peneliti untuk

meningkatkan atau bahkan memodifikasi karakteristik ekspresi gen suatu organisme, termasuk modifikasi gen yang memungkinkan adanya pencegahan dan pengobatan penyakit tertentu. Rekayasa genetika juga didefinisikan sebagai teknik mengubah konstitusi genetik sel atau individu dengan cara pemindahan selektif, insersi atau dengan cara modifikasi gen baik yang individual maupun yang berupa perangkat gen.

Dari pendapat-pendapat diatas memperlihatkan bahwa pada rekayasa genetika ada manipulasi atas materi genetik dengan cara menambah atau menghilangkan gen tertentu. Dengan demikian tanpa manipulasi pada materi genetik dengan cara seperti itu, suatu teknik bioteknologi seperti kultur jaringan, bahkan kultur sel, tidak layak dikategorikan sebagai teknik rekayasa genetika. Berdasarkan berbagai fenomena genetika alami, antara lain : *crossing over* , *gene pick up*, transduksi, insersi, delesi, translokasi, fusi dan fisi, jika dicermati sebenarnya menjadi model alami dari teknologi rekayasa genetika.

4.2 Perangkat rekayasa genetika

Perangkat rekayasa genetika terdiri dari: Enzim restriksi, enzim ligase, vektor (wahana kloning).

144

1. **Enzim restriksi**.

Enzim Restriksi adalah enzim yang dapat mengkatalisasi pembelahan/pemotongan DNA dibeberapa tempat/lokasi spesifik .

Enzim ini disebut juga dengan nama endonuklease restriksi (Russell, 1980). Enzim ini berperan untuk memotong molekul DNA untai ganda pada urutan pasangan spesifik yang dikenal sebagai tapak restriksi. Pada berbagai makhluk hidup prokariotik tidak ada enzim endonuklease restriksi yang serupa satu sama lain. Semua enzim ini mampu memecah ikatan fosfodiester asam nukleat umumnya berupa tangga, karena urutan target umumnya sering muncul berkali kali. Fragmen enzim restriksi berupa DNA untai ganda sedikitnya satu ujung untai tunggal. Enzim endonuklease restriksi terbagi menjadi dua tipe, yaitu:

102

a. Enzim restriksi Tipe 1.

Enzim endonuklease restriksi Tipe 1, kompleks dengan *multisubunit*, memotong DNA secara acak dan jauh dari sekuens pengenalannya. Enzim restriksi ini akan mengenali suatu urutan pasangan nukleotida yang spesifik pada DNA dan selanjutnya memotong DNA pada suatu tapak tidak spesifik jauh dari urutan tadi. Pada awalnya enzim ini diduga langkah; tetapi setelah analisis sekuens genom, enzim ini ternyata umum. Enzim restriksi tipe I ini memiliki pengaruh besar dalam biokimia, namun mempunyai nilai ekonomis yang rendah karena tidak dapat menghasilkan potongan fragmen

DNA yang diinginkan sehingga tidak diproduksi. Antara lain enzim-enzim restriksi K dan B.

b. Enzim restriksi tipe II.

Enzim endonuklease restriksi II sangat bermanfaat untuk pembentukan molekul DNA rekombinan. Enzim ini juga mengenal suatu urutan pasangan nukleotida spesifik pada DNA, tetapi memotong DNA justru di dalam urutan tadi. Oleh karena itu pemotongan DNA selalu pada urutan yang sama. Enzim ini telah banyak diisolasi dari mikroorganisme (Russell, 1980). Enzim yang pertama kali ditemukan pada tahun 1970 oleh Hamilton Smith dari Universitas Fohnhopkens yang diisolasi dari *Haemophyllus influenza*, dapat segera menguraikan pemakan DNA asing.

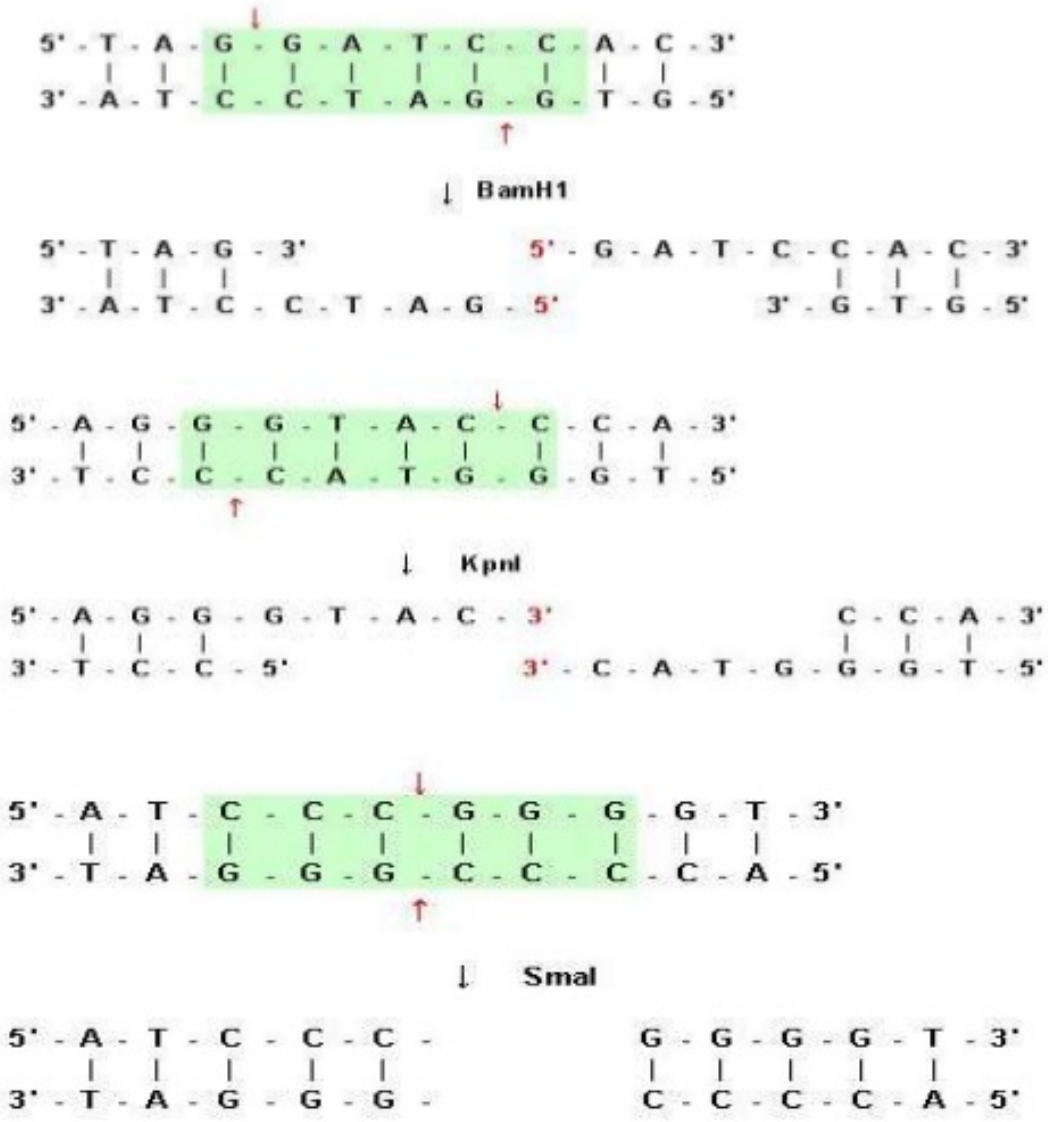
37 Enzim ini memotong DNA dekat atau pada situs pengenalan, menghasilkan fragmen-fragmen sesuai dengan yang diinginkan sehingga biasa digunakan untuk analisis DNA dan kloning gen. Enzim tipe II yang umum digunakan adalah HhaI, HindIII, EcoRI, dan NotI, dan enzim-enzim tersebut tersedia secara komersil. Enzim ini tergolong kecil dengan subunit yang memiliki 200-350 asam amino dan memerlukan Mg^{2+} sebagai kofaktor. Selanjutnya enzim jenis tipe II yang lain, biasanya digolongkan sebagai tipe IIs, adalah FokI dan

AlwI. Enzim ini memotong di luar situs pengenalan, berukuran sedang, dengan 400-650 asam amino dan memiliki 2 domain khusus. Domain pertama untuk berikatan dengan DNA, sedangkan domain yang kedua untuk memotong DNA. Enzim restriksi tipe II ini merupakan enzim restriksi yang tidak digunakan dalam laboratorium. Hal ini dikarenakan enzim ini memotong di luar situs pengenalan dan membutuhkan dua sekuen dengan orientasi berlawanan pada DNA yang sama untuk menyelesaikan pemotongan sehingga enzim ini jarang menghasilkan potongan sempurna.

Enzim restriksi memotong secara simetris dan asimetris. Enzim restriksi memotong secara asimetris pada situs pengenalan menghasilkan hasil pemotongan memanjang pada ujung 5'. Contoh enzim yang menghasilkan ujung menggantung 5' adalah BamHI.

Enzim restriksi ini juga memotong secara asimetris pada situs pengenalan, namun menghasilkan hasil pemotongan memanjang pada ujung 3'. Contoh enzim yang menghasilkan pola seperti ini adalah KpnI.

Enzim DNA restriksi yang memotong secara simetris antara kedua utas DNA sehingga menghasilkan ujung tumpul. Contoh enzim yang menghasilkan pola seperti ini adalah SmaI



Gambar 18. Pemotongan DNA oleh Enzim Restriksi

186

2. Enzim Ligase

Enzim ligase adalah enzim yang berfungsi untuk menyambung dua ujung potongan DNA. ligasi DNA ini mengkatalis ikatan

fosfodiester antara kedua ujung DNA sehingga kedua fragmen DNA yang berupa potongan bisa bersatu menjadi satu. Enzim ligase yang sering digunakan adalah DNA ligase dari *E. Coli* dan DNA ligase dari *Fage T4*. Enzim ligase menyambung dua ujung DNA yang semulanya terpotong, penyambungan dilakukan dengan cara menyambung 2 ujung DNA melalui ikatan kovalen antara ujung 3'OH dari utas satu dengan ujung 5'P dari utas yang lain.

3. Vektor

Vektor adalah seutas molekul DNA tunggal tempat dilekatkannya material genetik yang sebelum di injeksikan ataupun ditransformasikan kedalam bakteri tertentu. Wahana kloning yang paling sering di gunakan adalah plasmid. Syarat-syarat DNA agar dapat dijadikan sebagai vektor antara lain:

-Molekul DNA harus mampu melakukan replikasi sendiri maupun replikasi segmen DNA yang diinsersikan bebas dari replikasi kromosom sel inang dengan cara membawahi suatu "ori"

-Molekul DNA mengandung sejumlah tapak pemutusan enzim restriksi khusus yang bermanfaat untuk insersi segmen-segmen DNA.

-Molekul DNA seharusnya membawahi suatu penanda yang dapat dimanfaatkan untuk identifikasi sel-sel inang yang mengandungnya.

-Molekul DNA itu seharusnya mudah terbebas kembali dari sel inang

-Berat molekulnya rendah

-Adanya kemampuan untuk memberikan sifat fenotip yang dipilih dengan segera pada sel inang.

a. Plasmid

Plasmid adalah molekul DNA lingkaran tertutup untai ganda dan dapat bereplikasi sendiri di luar kromosom dan tidak mengandung gen-gen esensial dapat ditransfer secara stabil. Plasmid merupakan ekstra kromosomal yang mengadakan replikasi secara autonom di dalam sel bakteri. Mendukung gen yang diperlukan untuk replikasi. Plasmid mudah dipisahkan dan dimurnikan dari DNA inang

Plasmid ada yang alami maupun dimodifikasi yang disesuaikan dengan keperluan manipulasi genetik. Plasmid untuk kloning prokariot, seperti plasmid pUC 19 dan pBR 322 dan untuk eukariot seperti plasmid Ti.

Plasmid sangat penting bagi bidang kedokteran , farmasi, dan pertanian , karena plasmid membawa resisten

terhadap antibiotik yang berguna bagi manusia dan hewan. Pada *Rhizobium sp* plasmid berguna karena terlibat dalam proses fiksasi dan untuk mengikat nitrogen. Selain itu dapat menyandikan toksin dan protein lain yang dapat meningkatkan virulensi patogen.

Terdapat beberapa Jenis Plasmid, seperti Plasmid H yang berfungsi dalam proses konjugasi dan dikenal pada berbagai bakteri. Plasmid faktor R adalah plasmid yang membawa gen-gen penyebab resistensi terhadap antibiotik. Plasmid Ti Pada berbagai *Agrobacterium* yang berhubungan dengan tumbuhan inang, yaitu dengan cara mentransfer satu fragmen DNA (DNA T) kedalam sel inang, yang kemudian akan menyebabkan tumbuhnya tumor pada inang. Fungsi plasmid yaitu mendukung replikasi, plasmid-plasmid ini terbentuk secara alami in vivo yang terdapat pada E. Coli misalnya plasmid Col E1 dan RSF 2124.

b. Bakteriofag

Bakteriofag yang banyak digunakan dalam teknologi DNA rekombinan pada E.Coli adalah fag λ. Seluruh gen fag λ sudah diidentifikasi dan dipetakan urut-urutannya dan genom secara keseluruhan juga sudah diketahui. Bakteriofag lain juga digunakan sebagai vektor, dan salah satu di antaranya

adalah M13 (Klug dkk, 1994). Materi genetik M13 berupa DNA untai tunggal. Dalam hal ini jika M13 menginfeksi suatu sel bakteri, DNA untai tunggal disebut sebagai RF (*Replication Form*).

c. Kosmid

Kosmid adalah vektor yang dibuat di laboratorium memanfaatkan urut-urutan cos dan fag λ yang berguna untuk pemasukan/pengumpulan kromosom ke dalam kepala fag dan yang memanfaatkan pula urut-urutan (bagian tengah kosmid) untuk fungsi resistensi terhadap antiobiotik serta replikasi (Klug, dkk, 1994).

d. Vektor ulang alik *(shuttle vectors)*

Vektor ulang alik ini dapat digunakan untuk memasukkan molekul DNA rekombinan ke dalam dua atau lebih jenis sel makhluk hidup yang berbeda. Dalam pengertian yang lain, vector-vektor ini merupakan vektor pengklon yang dapat bereplikasi di dalam dua atau lebih makhluk hidup inang. Prosedur Dasar Teknologi DNA Rekombinan adalah sebagai berikut:

1. Pembuatan fragmen DNA dengan bantuan enzim nuclease restriksi yang mengenal dan memotong molekul DNA pada urut-urutan nukleotida yang spesifik.

2. Segmen-segmen tersebut digabung ke molekul DNA lain dengan bantuan vektor. Vektor dapat bereplikasi secara otonom sehingga memfasilitasi manipulasi dan identifikasi molekul DNA yang terbentuk.

3. Vektor yang sudah terinsersi segmen DNA ditransfer ke suatu sel inang. Di dalam sel tersebut molekul DNA rekombinan (yang tersusun dan segmen yang terinsersi) direplikasikan menghasilkan berlusin-lusin salinan yang disebut klon-klon

4. Segmen-segmen DNA yang diklon dapat diambil dari sel inang, dimurnikan dan dianalisis.

5. DNA rekombinan yang terdapat pada sel-sel inang diwariskannya kepada seluruh turunan, yang akan menghasilkan suatu populasi sel-sel yang identik yang semuanya membawahi urut-urutan yang diklon.

6. Secara potensial, DNA yang diklon dapat ditranskripsikan, mRNA-nya ditranslasikan serta produk-produk gennya diisolasi dan dikaji.

Seleksi klon rekombinan adalah suatu metode untuk mendeteksi fragmen-fragmen di dalam sel agarose yang komplementer dengan urutan RNA atau DNA tertentu. Metode ini dikenal sebagai *Southern Blotting*. Pada intinya, teknik

blotting ini adalah mentransfer makro molekul dari gel yang lebih dahulu telah dipisahkan secara elektroforesis ke permukaan suatu membran. Sekali ditransformasi, makromolekul ini akan atau dapat difiksasi secara permanen pada membran. Membran ini relatif mudah ditangani dan dapat dipakai untuk berbagai macam teknik analisis. Sebagai akibatnya, membran ini juga luas pemakaiannya dalam mendeteksi dan menganalisis asam dan protein.

4.4. Metoda Rekayaya Genetika

Metoda rekayasa genetika terdiri dari: plasmid, hibridoma dan teknik kloning. Melalui metoda plasmid dalam rekayasa genetika para ilmuan dbidang bioteknologi dapat mengembangkan tanaman transgenik yang resisten terhadap hama dan penyakit, adaptif kekeringan dan kondisi tanah yang tidak subur; hewan transgenik dan lain-lain. Teknik hibridoma adalah teknik menggabungkan dua sel dari dua organism yang sama/berbeda yang menghasilkan sel hibrid yang memiliki kombinasi sifat, seperti pembuatan antibodi monoklonal.

1. **Metoda plasmid**

Plasmid sebagai vektor dalam rekayasa genetika digunakan untuk membawa suatu rangkaian fragmen DNA asing masuk dalam sel inang dengan harapan plasmid rekombinan itu mengalami replikasi dan mengekspresikan sifat baru pada DNA asing tersebut, sehingga sifat yang diinginkan dapat diperoleh dari plasmid rekombinan tersebut. Plasmid ada yang alami maupun dimodifikasi

yang disesuaikan dengan keperluan manipulasi genetik. Plasmid untuk kloning prokariot, seperti plasmid pUC 19 dan pBR 322, maupun eukariot seperti plasmid Ti . Plasmid inilah yang berfungsi sebagai pembawa sifat rekombinan pada organisme yang akan direkayasa. plasmid harus memiliki syarat-syarat seperti:

a. Ukurannya relatif kecil dibanding dengan pori dinding sel inangnya

b. Mempunyai sekurang-kurangnya 2 gen marker yang dapat menandai masuk tidaknya plasmid ke dalam sel inang

c. Mempunyai tempat pengenalan restriksi sekurang-kurangnya di dalam salah satu marker yang digunakan sebagai tempat penyisipan fragmen DNA asing

d. Memiliki titik awal replikasi sehingga dapat melakukan replikasi dalam sel inang.

Proses penggunaan plasmid dalam rekayasa genetika sebagai berikut:

a. Penentuan jenis plasmid, apa untuk prokariot atau untuk organisme eukariot

b. Menentukan tempat pengenalan enzim restriksi yang hendak digunakan sebagai tempat penyisipan DNA asing dan marker untuk menandai masuk tidaknya plasmid pada sel inang

c. Menyiapkan enzim restriksi sebagai pemotong plasmid. Enzim yang digunakan untuk memotong plasmid harus sama dengan pemotong DNA asing sehingga keduanya bisa bersatu misal : EcoR1

d. Plasmid dipotong dengan enzim restriksi yang sesuai pada daerah potongannya

e. Plasmid siap disambungkan dengan DNA asing yang memiliki sifat tertentu, yang telah dipotong juga dengan enzim restriksi yang sama dengan pemotong plasmid.

Plasmid rekombinan terbentuk sebagai sambungan antara plasmid dengan DNA asing, sehingga plasmid tersebut mengandung sifat tertentu yang telah disesuaikan dengan kebutuhan. Prosedur plasmid rekombinan (Gambar 19.) secara garis besar dilakukan, sebagai berikut:

a. Menyiapkan bakteri yang mengandung DNA asing dengan sifat tertentu

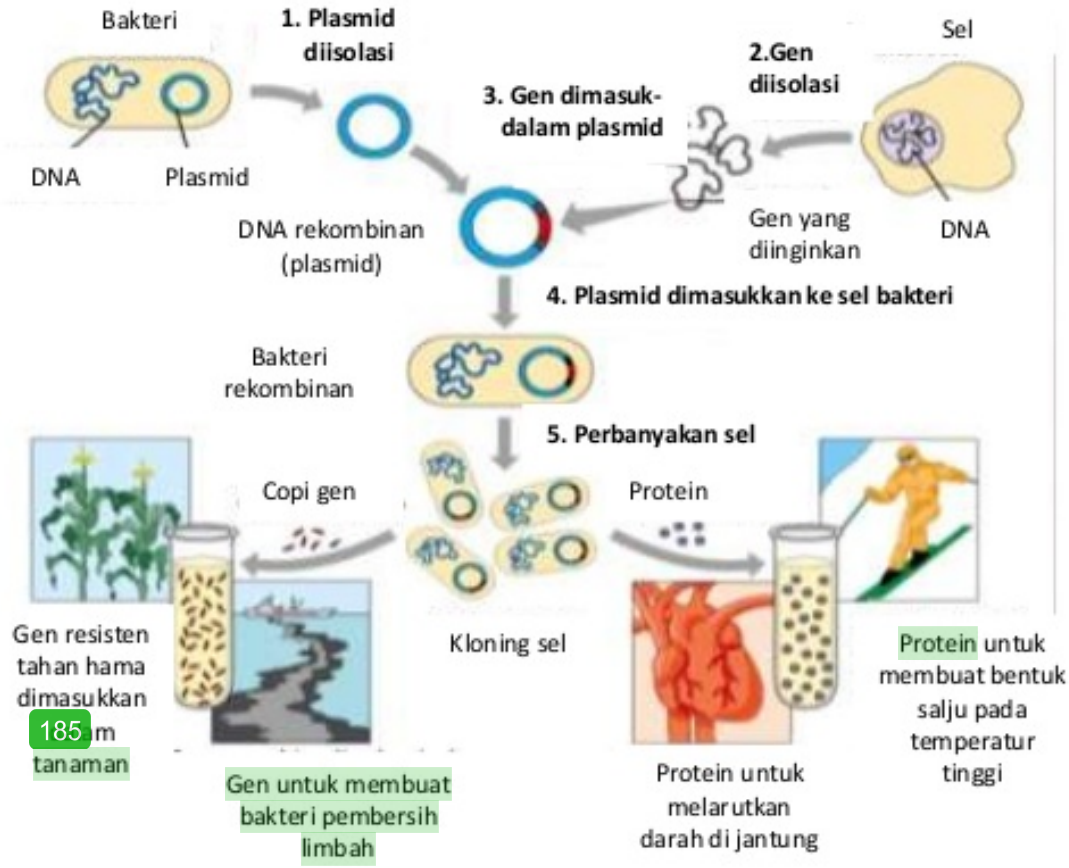
b. Menyiapkan plasmid yang akan digunakan sebagai vektor

c. Pemotongan DNA asing dengan sifat yang dibutuhkan dengan enzim restriksi semisal dari E. coli

d. Pemotongan plasmid yang akan digunakan sebagai vektor dengan enzim restriksi yang sama yaitu E. Coli

e. Hasil potongan DNA dengan sifat tertentu disambungkan pada plasmid dngan menggunakan enzim penyambung yaitu DNA ligase. DNA ligase akan mengikat ujung 3'OH dengan ujung 5'P dan membentuk ikatan fosfodiester sehingga plasmid dan DNA asing dengan sifat tertentu bisa bersatu

f. Terbentuklah plasmid rekombinan yang membawa DNA asing dengan sifat tertentu tersebut. Plasmid ini siap ditransfer ke dalam sel inang untuk memperoleh organisme transgenik



Gambar 19. Penggunaan plasmid dalam rekayasa genetika.

2. Metoda hibridoma

Teknologi hibridoma dikenal dengan fusi sel, yaitu peleburan/fusi dua sel yang berbeda menjadi kesatuan tunggal yang mengandung gen-gen dari kedua sel asli. Sel yang dihasilkan dari fusi ini

dinamakan hibridoma (*hibrid* = sel asli yang dicampur, *oma* = kanker).

Sel limfosit manusia mampu menghasilkan antibodi, tetapi jika dikultur dan dipelihara proses pembelahannya sangat lambat. Sel manusia tersebut difusikan dengan sel kanker tikus dengan tujuan dapat membelah dengan cepat karena sel tikus mengandung mieloma yang mempunyai kemampuan untuk membelah dengan cepat. Hibridoma yang terbentuk akan mendapatkan antibodi (sifat sel manusia) dan mampu untuk membelah dengan cepat (sifat sel kanker tikus).

Teknik hibridoma adalah teknik pembuatan sel yang dihasilkan dari fusi antara sel B limfosit dengan sel kanker. Sifat dari sel hibridoma ini adalah immortal. Proses pembuatan dari sel hibridoma adalah sebagai berikut, pertama-tama dilakukan proses imunisasi dengan menggunakan antigen tertentu. Kemudian dipisahkan sel B-limfosit dari organ limpa, lalu sel ini difusikan dengan sel kanker immortal. Tahapan fusi sel hibridoma ini dilakukan dengan membuat membran sel menjadi lebih permeabel. Sel hibrid hasil fusi inilah yang disebut sebagai sel hibridoma yang merupakan sel immortal yang dapat menghasilkan antibodi. Dalam percobaan yang umum dilakukan, proses pembuatan sel hibridoma dilakukan

dengan menggunakan sel mieloma NS-1 dan sel limpa dari mencit.

Hibridoma ini sering digunakan untuk memperoleh antibodi dalam pemeriksaan kesehatan dan pengobatan. Apabila sel-sel sekali melebur menjadi satu, maka sel-sel ini akan menghasilkan protein yang sangat baik. Misalnya, antibodi monoklonal dapat digunakan untuk mendiagnosis penyakit, tes kehamilan, dan mengobati kanker.

3. Metoda Kloning

Teknik cloning (tanpa perkawinan) dilakukan dengan penyisipan potongan gen/ embrio yang dikehendaki dari suatu spesies lain, sehingga spesies yang diklon tadi akan memiliki sifat tambahan sesuai dengan gen yang disisipkan kedalam sel tubuhnya. Memasukkan inti sel kedalam spesies lain, yang sebelumnya inti selnya telah dibuang/dikosongkan. Teknik cloning ini disebut juga transfer gen atau transfer embrio (transfer inti).

Teknik ini menjanjikan berbagai kemampuan yang revolusioner, antara lain cepat, dapat diterapkan secara universal, Dapat dilakukan pengendalian yang ketat terhadap proses manipulasi, Dapat membentuk berbagai kombinasi

genetik baru yang belum diseleksi sebelumnya dengan metode laboratorium.

Yang harus kita ketahui, protein adalah rangkaian molekul yang terdiri dari ratusan mata rantai asam nukleat. suatu tipe dari fungsi protein sebagai balok penyusun struktur sel, dan tipe lain yang berfungsi untuk mengontrol reaksi-reaksi kimia dalam sel. Sebelumnya, insulin didapatkan dengan cara memurnikan protein pankreas babi. Tetapi sekarang dengan tehnik kloning gen, yaitu : memindahkan gen insulin manusia ke dalam sel bakteri. Dengan demikian akan didapatkan produksi insulin dalam jumlah besar oleh bakteri, cara ini lebih mudah. Contoh tehnik rekombinan: pembuatan insulin dengan perantara bakteri. Insulin adalah hormon yang dibutuhkan untuk mengontrol metabolisme gula dalam tubuh kita. Pada penderita penyakit kencing manis (diabetes) terjadi kegagalan dalam mensintesa hormon ini sehingga diperlukan penambahan insulin dari luar untuk kelangsungan metabolisme gula dalam tubuh.

Tingkat keberhasilan kloning dipengaruhi oleh : Pemilihan vector; Pemilihan sistem kloning (tergantung pada penentuan tujuan yang ingin dicapai dari kloning fragmen DNA); Isolasi dan perbanyakan fragmen DNA murni;

preparasi pelacak DNA atau RNA dari urutan spesfik, sequencing daerah penting pada berbagai genom; ekspresi dan pemurnian sejumlah protein biologis; Modifikasi genetik species, modifikasi in vitro dari urutan DNA yang bermanfaat. Adapun garis besar prosedur pelaksanaan cloning gen sebagai berikut:

- Membuka sel hidup dengan cara memblender dan destruksi (memecah sel).

-Mengambil informasi genetik DNA. Karena molekul DNA panjangnya ratusan kali molekul lain didalam sel.

-Memotong gen (DNA) khusus yang diinginkan menggunakan enzim restriksi.

-Menempatkan potongan DNA spesifik kedalam perantara yang disebut "cloning vehicles " yang akan membawa DNA ke sel hidup yang lainnya.

4.4. Teknik rekayasa genetika

Menurut Smith dan Byars (1990) terdapat berbagai teknik yang digunakan dalam rekayasa genetika, misalnya transfer vektor, injeksi mikro, fusi protoplas, dan elektroporesi. Selain teknik-teknik itu, Klug dkk (1949 menambahkan juga teknik kopresipitasi kalsium fosfat dan endositosis.

-Transfer vektor merupakan cara memasukkan suatu gen ke sel baru dengan menggunakan pembawa (*carrier)* khusus. Transfer semacam ini memanfaatkan proses alami seperti yang terjadi pada transfer DNA oleh bakteri dan virus.

-Injeksi mikro menggunakan jarum mikroskopis, untuk memasukkan DNA melalui membran sel sasaran, termasuk ke dalam inti sel.

-Fusi protoplas dilakukan dengan melarutkan dua membran sel dari sel-sel yang berbeda sehingga dua sel dapat digabung menjadi satu. Suatu system transformasi sederhana sudah dikembangkan yang memanfaatkan liposom yang tersusun dari suatu lipida kationik. Dalam hal ini terbentuklah vesikula-vesikula milamellar, DNA dalam larutan secara spontan dan efisien membentuk kompleks dengan liposom-liposom itu.

-Teknik elektroporesi menggunakan listrik untuk menciptakan lubang kecil di membrane sel yang akan dimanfaatkan untuk pemindahan DNA ke dalam sel. Elektroporesi menggunakan kejutan listrik berkekuatan 4000-8000V, sel-sel memperoleh DNA eksogen dan larutan sekitar. Perlakuan kosmid sebelum kejutan listrik akan meningkatkan frekuensi efisiensi transformasi.

- Pada kopresipitasi kalsium fosfat dan endositosis, cara yang umum dilakukan adalah: butir-butir kopresipitasi kalsium fosfat dan DNA masuk ke dalam sel melalui endositosis.

Untuk memasukkan suatu DNA ke dalam sel-sel mamalia, tingkat keberhasilan antara 1-2%. Pada teknik proyektil mikro, DNA ataupun RNA ditembakkan ke dalam sel. Bahkan dinyatakan teknik tersebut merupakan suatu cara yang sama sekali baru untuk memasukkan asam nukleat ke dalam sel tumbuhan memanfaatkan kecepatan tinggi. Hal yang perlu diperhatikan pada teknik proyektil mikro tidak dibutuhkan kultur sel ataupun perlakuan jaringan resipien.

4.5. Organisme Transgenik

Organisme transgenik merupakan merupakan organisme yang mengandung sisipan gen asing di dalam genomnya. Penyisipan gen ini menyebabkan terjadinya perubahan fenotipik yang dapat bersifat menyeluruh maupun parsial. Gen asing dikonstruksi menggunakan teknologi DNA rekombinan

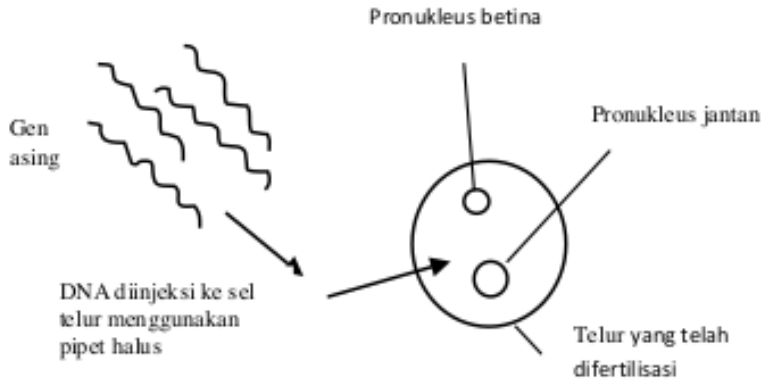
Penyisipan gen diharapkan merangsang pertumbuhan dan produksi susu pada hewan. Saat ini telah domba dan kambing transgenik telah berhasil mengekspresikan protein asing di dalam susunya. Ayam transgenik bisa mensintesis protein manusia di dalam putih telurnya. kambing yang menghasilkan sutra laba-laba.

Dalam bidang pertanian dapat menghasilkan pangan yang lebih sehat dan produksi lebih cepat dan resistensi terhadap infeksi bakteri

yang tersebar bebas. Penyisipan gen untuk produksi protein farmasetik melalui susu, produksi organ tubuh untuk pencangkokan pada manusia, ketahanan terhadap penyakit tertentu, sistem kekebalan tubuh, dan kemampuan pemanfaatan pakan yang lebih baik.

1. Hewan Transgenik

Teknik penyisipan gen dengan cara Mikroinjeksi DNA dilakukan dengan melakukan injeksi langsung gen terpilih yang diambil dari anggota lain dalam spesies yang sama ataupun berbeda ke dalam pronukleus ovum yang telah dibuahi (Gambar 20.). Pada metode ini, sel telur yang telah dihasilkan dari proses superovulasi dan fertilisasi in vitro diinjeksi dengan gen asing.

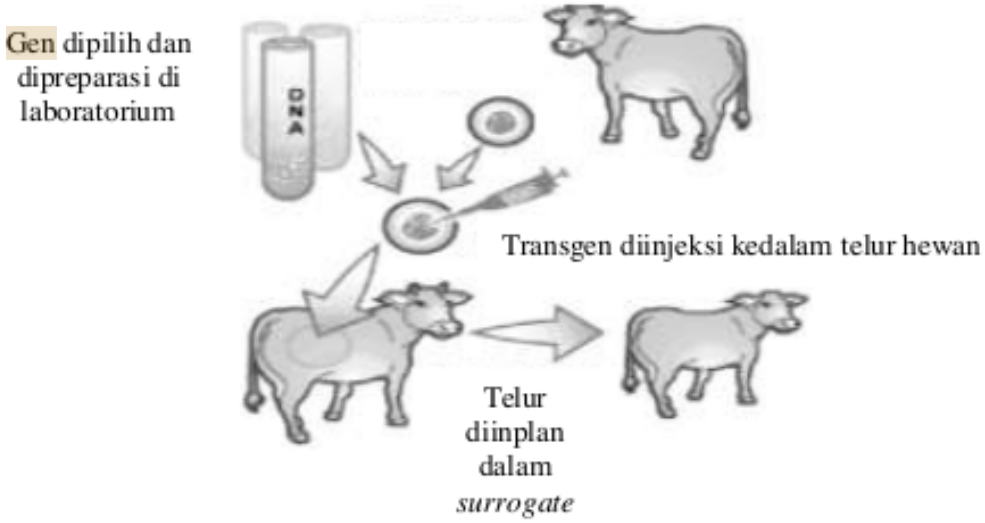


Gambar 20. Penyisipan Gen dengan Mikroinjeksi.

Untuk mempertahankan posisi sel telur digunakan tabung kecil. Proses injeksi larutan yang berisi copy gen asing (transgen) ke dalam pronukleus betina dilakukan dengan menggunakan

jarum yang sangat halus. Selanjutnya sel telur diintroduksikan ke oviduk betina pengganti/ induk angkat

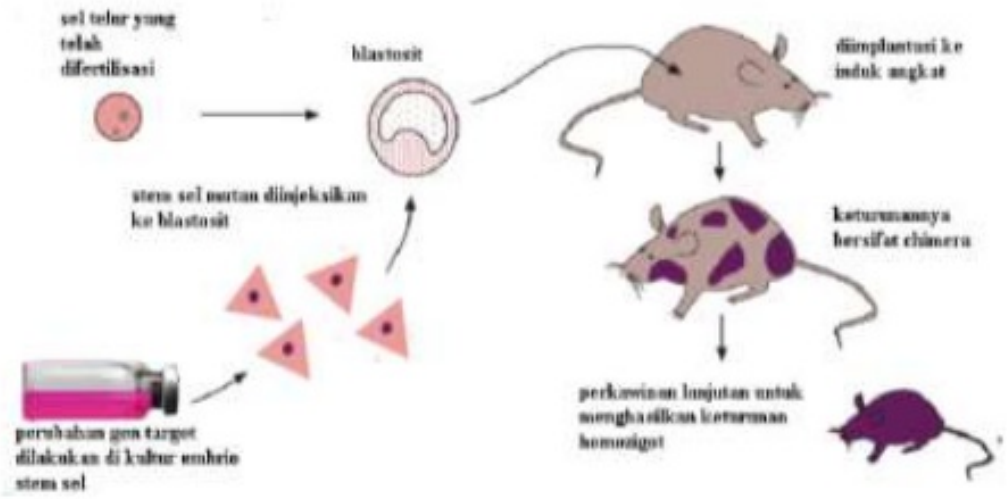
Teknik penyisipan gen dengan cara transfer gen dengan media retrovirus menggunakan retrovirus sebagai vektor, kemudian menginjeksikan DNA ke dalam sel inang. DNA dari retrovirus berintegrasi ke dalam genom untuk bekerja (Gambar 21).



Gambar 21. Penyisipan gen dengan retrovirus

Transfer gen dengan media sel cangkokan embrionik diaplikasikan dengan menggunakan sequence DNA yang diharapkan muncul ke dalam kultur in vitro sel cangkokan embrionik. Sel cangkokan dapat menjadi organisme lengkap. Sel kemudian berikatan dalam embrio pada tahap

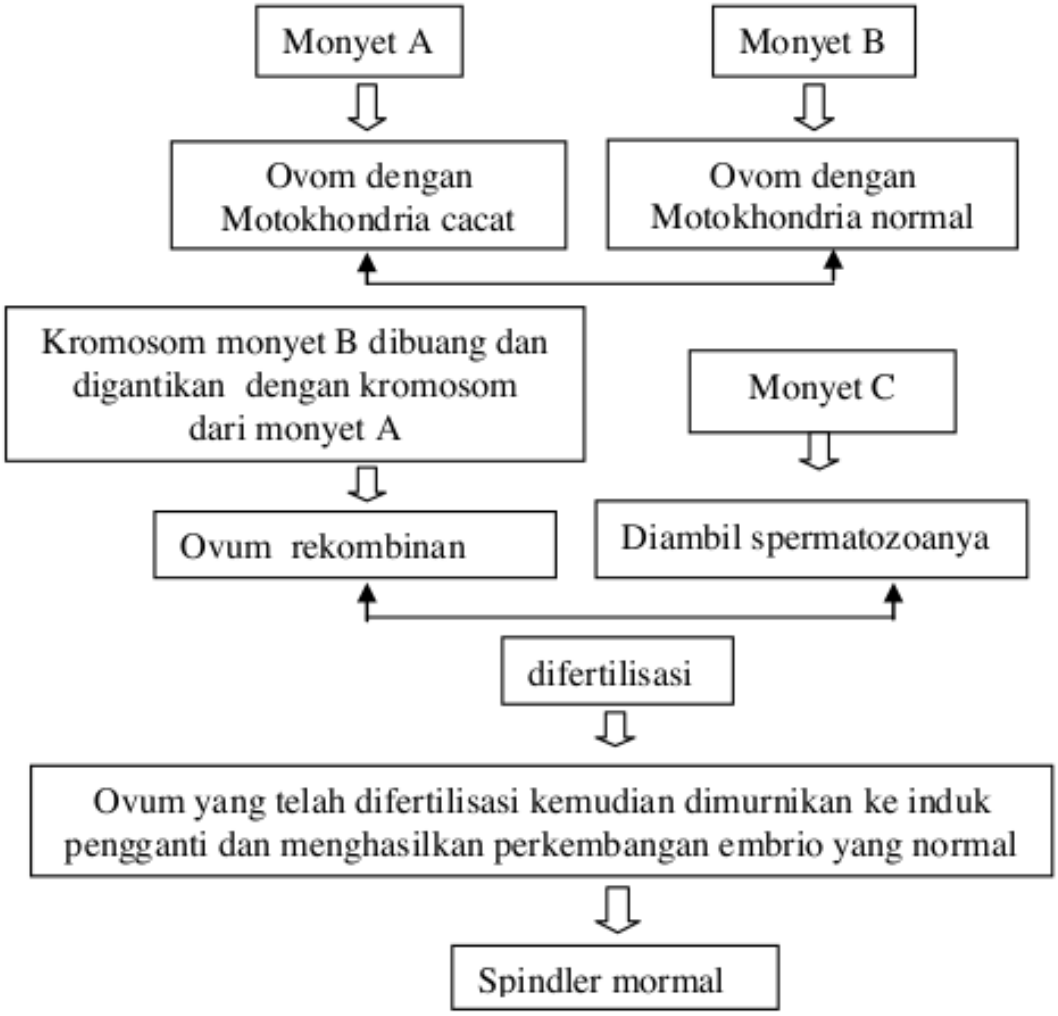
perkembangan blastosit. Blastosit kemudian diimplantasi ke induk angkat sehingga dihasilkan keturunan chimera . Untuk mendapatkan keturunan yang homozigot dilakukan perkawinan secara berulang-ulang antara sesama keturunan chimera (Gambar 22.).



Gambar 22. Transfer gen dengan media sel cangkokan

Terapi gen sel embrional biasanya dilakukan pada hewan untuk membentuk hewan transgenik. Terapi gen jenis ini memungkinkan perbaikan secara genetik yang akan mulai terlihat ketika sel embrional telah berkembang menjadi individu baru. Gambar 23. menjelaskan tahapan dalam terapi gen sel embrional pada monyet. Terdapat dua monyet, yaitu

monyet A yang memiliki kelainan pada mitokondrianya dan monyet B yang merupakan monyet normal.



Gambar 23. Terapi gen sel embrional pada Spindler (monyet ketiga yang lahir dari terapi gen embrional (Oregon National Primate Research, 2015).

Untuk menghasilkan keturunan monyet A yang normal tanpa adanya kelainan pada mitokondria, maka dilakukan terapi gen melalui sel embrional. Kromosom pada ovum monyet A diambil kemudian disisipkan ke dalam ovum monyet B yang memiliki mitokondria normal. Proses pengambilan dan penyisipan tersebut dilakukan secara *ex vivo*. Ovum monyet B yang telah disisipi materi genetik monyet A kemudian difertilisasi oleh sperma dari monyet C yang sejenis dengan monyet A. Ovum yang telah dibuahi sperma tersebut kemudian diinsersikan ke dalam uterus monyet lain yang berperan sebagai induk inang untuk kemudian memfasilitasi embrio tersebut untuk tumbuh dan berkembang. Embrio tersebut kemudian akan dilahirkan dengan kondisi tanpa kelainan mitokondria (Oregon National Primate Research. (2015).

2. Tanaman Transgenik

Sebagian besar rekayasa atau modifikasi sifat tanaman dilakukan untuk mengatasi kebutuhan pangan penduduk dunia yang semakin meningkat dan juga permasalahan kekurangan gizi manusia. Tanaman transgenik tahan suhu tinggi, suhu rendah, kekeringan, resisten terhadap organisme pengganggu tanaman, serta kuantitas dan kualitas yang lebih tinggi dari tanaman alami.

Pembuatan tanaman transgenik gen yang diinginkan dapat diambil dari tanaman lain, hewan, cendawan, atau bakteri. Transfer gen asing tersebut ke dalam sel tumbuhan yang berasal dari bagian tertentu, salah satunya adalah bagian daun. Metoda Transfer tediri dari : metode senjata gen, metode transformasi DNA yang diperantarai bakteri *Agrobacterium tumefaciens*, dan metoda elektroporasi (metode transfer DNA dengan bantuan listrik).

Pada penembakkan mikro-proyektil berkecepatan tinggi ke dalam sel tanaman. Mikro-proyektil akan mengantarkan DNA untuk masuk ke dalam sel tanaman. Penggunaan senjata gen memberikan hasil yang bersih dan aman, meskipun ada kemungkinan terjadi kerusakan sel selama penembakan berlangsung. Digunakan pada spesies jagung dan padi.

Bakteri *Agrobacterium tumefaciens* dapat menginfeksi tanaman secara alami karena memiliki plasmid Ti, suatu vektor (pembawa DNA) untuk menyisipkan gen asing. Di dalam plasmid Ti terdapat gen yang menyandikan sifat virulensi untuk menyebabkan penyakit tanaman tertentu. Gen asing yang ingin dimasukkan ke dalam tanaman dapat disisipkan di dalam

plasmid Ti. Selanjutnya, *A. tumefaciens* secara langsung dapat memindahkan gen pada plasmid tersebut ke dalam genom (DNA) tanaman. Setelah DNA asing menyatu dengan DNA tanaman maka sifat-sifat yang diinginkan dapat diekspresikan tumbuhan.

21

Pada metode elektroporasi, sel tanaman yang akan menerima gen asing harus mengalami pelepasan dinding sel hingga menjadi protoplas (sel yang kehilangan dinding sel). Selanjutnya sel diberi kejutan listrik dengan voltase tinggi untuk membuka pori-pori membran sel tanaman sehingga DNA asing dapat masuk ke dalam sel dan bersatu (terintegrasi) dengan DNA kromosom tanaman. Kemudian, dilakukan proses pengembalian dinding sel tanaman.

Setelah proses transfer DNA selesai, dilakukan seleksi sel daun untuk mendapatkan sel yang berhasil disisipi gen asing. Hasil seleksi ditumbuhkan menjadi kalus (sekumpulan sel yang belum terdiferensiasi) hingga nantinya terbentuk akar dan tunas. Apabila telah terbentuk tanaman muda (plantlet), maka dapat dilakukan pemindahan ke tanah dan sifat baru tanaman dapat diamati. Tabel 3. Dapat dilihat beberapa tanaman transgenik.

Tabel 3. Metoda modifikasi dan sifat beberapa jenis tanaman transgenik

Jenis Tanaman	Sifat Tanaman yang telah dimodifikasi	Metoda Modifikasi
Ubi jalar	Tahan terhadap penyakit tanaman yang disebabkan virus.	Gen dari selubung virus tertentu ditransfer ke dalam ubi jalar dan dibantu dengan

		teknologi peredaman gen
Tembakau	Tahan Terhadap cuaca dingin	Gen untuk mengatur pertahanan pada cuaca dingin dari tanaman *Arabidopsis thaliana* atau dari sianobakteri (*Anacyctis nidulans*) dimasukkan ke tembakau
Pepaya	Resisten terhadap virus tertentu, seperti *Papaya ringspot virus* (PRSV).	Gen yang menyandikan selubung virus PRSV ditransfer ke dalam tanaman pepaya.
Tomat	Proses pelunakan tomat lambat akibatnya tomat dapat disimpan lebih lama dan tidak cepat busuk.	Gen spesial disebut *antisenescens* ditransfer ke dalam tomat untuk menghambat enzim poligalakturonase (enzim yang mempercepat kerusakan dinding sel tomat). Selain menggunakan gen dari bakteri *E. coli*, tomat transgenik juga dibuat dengan memodifikasi gen yang telah dimiliknya secara alami
Jagung kapas, kentang	Menghasil jagung, kapas dan kentang resisten terhadap hama	Gen toksin Bt dari bakteri *Bacillus thuringiensis* ditransfer ke dalam tanaman
Gandum	Gandum Resisten terhadap penyakit hawar yang disebabkan cendawan *Fusarium*.	Gen penyandi enzim kitinase (pemecah dinding sel cendawan) dari jelai (*barley*) ditransfer ke tanaman gandum

Gula bit	Gula bit yang tahan terhadap herbisida glifosat dan glufosinat.	Gen dari bakteri *Agrobacterium* galur CP4 dan cendawan *Streptomyces viridochromogenes* ditransfer ke dalam tanaman bit gula
Kedelai	Mengandung asam oleat tinggi dan tahan terhadap herbisida glifosat sehingga ketika disemprot dengan herbisida tersebut, hanya gulma di sekitar kedelai yang akan mati.	Gen resisten herbisida dari bakteri *Agrobacterium* galur CP4 dimasukkan ke kedelai dan juga digunakan teknologi molekular untuk meningkatkan pembentukan asam oleat.
Kanola	Menghasilkan minyak kanola yang mengandung asam laurat tinggi dengan demikian lebih menguntungkan untuk kesehatan dan ekonomis. Selain itu, juga telah ditemukan kanola transgenik yang disisipi gen penyandi vitamin E.	Gen *FatB* dari *Umbellularia californica* ditransfer ke dalam tanaman kanola untuk meningkatkan kandungan asam laurat.
Melon	Buah melon tahan lama, tidak cepat busuk	Gen baru dari bakteriofag T3 diambil untuk mengurangi pembentukan hormon etilen (hormon yang berperan dalam pemasakan buah) di melon
Padi	Kandungan provitamin A (beta-karotena) dalam jumlah tinggi	Gen tumbuhan narsis, jagung, dan bakteri *Erwinia* disisipkan pada kromosom padi.
Prem (plum)	Resisten terhadap infeksi virus cacar prem (*plum pox virus*).	Gen selubung virus cacar prem ditransfer ke tanaman prem.

BAB 5
BIOTEKNOLOGI KESEHATAN

Setelah membaca Bab 5 ini pembaca diharapkan dapat mengetahui tentang sejarah perkembangan bioteknologi kesehatan, antibodi monoklonal, antibiotik, vaksin, interferon, sel punca dan terapi gen.

5.1 Perkembangan bioteknologi kesehatan

Bioteknologi memiliki manfaat yang sangat besar di bidang kesehatan dimana penerapan bioteknologi pada masa lalu dibuktikan antara lain dengan penemuan vaksin dan antibiotik. Pada Tahun 450 SM, Thucydides mengatakan bahwa orang sakit disebabkan oleh kuman, kemudian Louis Pasteur mengembangkan teori penyakit kuman dan vaksinasi, dimana vaksin digunakan untuk melindungi atau mencegah tubuh dari serangan penyakit. Pada tahun 1891, Robert Koch membuktikan bahwa mikroorganisme merupakan penyebab dari penyakit infeksi dan virus adalah pathogen manusia. Hasil penemuannya itu ia diberikan hadiah nobel Tahun 1905.

Setelah antibiotik penisilin ditemukan, banyak penyakit yang disebabkan oleh infeksi kuman yang dapat disembuhkan. Namun, beberapa jenis bakteri lain menghasilkan enzim yang

dapat menghambat kerja penisilin sehingga tahan terhadap penisilin. Akibatnya, beberapa penyakit yang disebabkan oleh bakteri tersebut tidak dapat sembuh. Kerena itu, para ahli berusaha menemukan obat lain pembasmi bakteri yang kebal terhadap penisilin, antara lain sefalosporin dan streptomisin yang dihasilkan oleh jamur/cendawan

Sebelum rekayasa genetika dikembangkan untuk memerangi diabetes dilakukan ekstraksi insulin dari pancreas babi atau lembu. Metoda ini memakan banyak sekali biaya dan insulin yang dihasilkan dapat mengakibatkan hipersensitivitas maupun resistensi. Setelah teknik rekayasa genetika dikembangkan, maka sekarang telah dapat dibuat insulin manusia oleh bakteri. Ini dilakukan dengan jalan menyematkan gen pengkode pembentukan insulin manusia pada bakteri.

Proses membuat insulin, yaitu pertama-tama membuat rancangan urutan DNA yang mengkode asam amino insulin yang telah diketahui. Kemudian diikuti dengan sintesis kimiawi gen rantai A dan gen rantai B insulin, pembuatannya dilakukan secara terpisah. Masing-masing mengandung kodon metionin pada ujung 5' (yang tentunya menjadi ujung amino protein yang ditranslasikan) dan menghentikan urutan pada ujung 3'.

Masing-masing gen disisipkan ke dalam gen β-galaktosidase plasmid. Kemudian dimasukkan ke dalam *E. coli*. Kemudian *E. coli* dibiakkan dalam medium yang mengandung galaktosa sebagai sumber C dan sumber energi dan bukan glukosa. Sebab itu bakteri akan mensintesis β-galaktosidase. Bersamaan dengan ini disintesis pula rantai A dan rantai B insulin, yang dilekatkan oleh sisa metionin. Setelah pelarutan bakteri, maka perlakuan dengan sianogen bromida akan memecah protein pada metionin. Dengan demikian rantai insulin akan terpisah dari β-galaktosidase. Rantai-rantai dimurnikan dan digabungkan, maka terjadilah insulin asli manusia. Sedang dikembangkan pendekatan sintetik lain, gen untuk molekul pemula insulin atau proinsulin disintesis dan disisipkan ke dalam *E. coli*. Proinsulin yang dihasilkan dimurnikan. Proinsulin dicerna dengan enzim tripsin dan karboksipeptidase, maka terjadilah insulin manusia

Dewasa ini kemajuan dunia kesehatan berkembang sangat pesat, terutama di negara negara maju. Sebagai bukti dengan ditemukannya vaksin, antibiotik, interferon, antibodi monoklonal, dan pengobatan melalui terapi gen. Kemajuan ini ditandai dengan ditemukannya berbagai macam teknologi rekayasa genetika. Teknologi ini memungkinkan manusia untuk memperoleh penyembuhan penyakit-penyakit genetik maupun kronis yang belum dapat disembuhkan, seperti kanker ataupun AIDS. Penelitian di

bidang pengembangan sel induk juga memungkinkan para penderita *stroke* ataupun penyakit lain yang mengakibatkan kehilangan atau kerusakan pada jaringan tubuh dapat sembuh seperti sediakala.

5.2 Antibodi Monoklonal

Antibodi merupakan protein yang dihasilkan oleh sistem kekebalan tubuh yang berfungsi melawan dan melindungi tubuh dari infeksi bakteri. Antibodi monoklonal yaitu antibodi yang diperoleh dari penggabungan sel penghasil antibodi dengan sel yang terkena penyakit. Melalui rekayasa genetika, manusia dapat membentuk antibodi monoklonal. Pada teknologi antibodi monoklonal digunakan sel-sel tumor dan sel-sel limpa manusia. Sel-sel tumor dapat memperbanyak diri tanpa henti, sedangkan sel limpa sebagai antigen yang menghasilkan antibodi. Hasil penggabungan kedua sel tersebut dinamakan sel hibridoma. Sel hibridoma dapat memproduksi antibodi secara kontinyu. Antibodi ini akan menyerang sel-sel kanker tanpa merusak sel-sel yang sehat. Antibodi yang dihasilkan dapat digunakan untuk mengobati penyakit kanker atau tumor.

Antibodi monoklonal merupakan antibodi monospesifik yangdapat mengikat satu epitop saja. Sel hibridoma merupakan fusi sel dan epitop adalah adalah area tertentu pada molekul antigenik, yang mengikat antibodi atau pencerap sel B maupun sel T, umumnya molekul berukuran besar, seperti protein dan polisakarida dapat menunjukkan sifat antigen. Teknik Hibridoma adalah penggabungan dua sel dari organisme yang sama maupun berbeda sehingga

menghasilkan sel tunggal berupa sel hibrid (hibridoma) yang memiliki kombinasi dari sifat kedua sel tersebut. Teknik hibridoma ini sangat penting untuk menghasilkan antibodi dan hormon dalam jumlah besar.

Kegunaan antibodi monoklonal adalah sebagai berikut:

1. Mendeteksi kandungan hormon korionik gonadotropin (HCG) dalam urin wanita hamil.
2. Mengikat racun dan menonaktifkannya, contohnya racun tetanus dan kelebihan obat digoxin dapat dinonaktifkan oleh antibodi ini.
3. Mencegah penolakan jaringan terhadap sel hasil transplantasi jaringan lain.
4. Sekarang telah digunakan untuk banyak masalah diagnostik seperti mengidentifikasi agen infeksi, mengidentifikasi tumor, antigen dan antibodi auto, mengukur protein dan level obat pada serum, mengenali darah dan jaringan, mengidentifikasi sel spesifik yang terlibat dalam respon kekebalan dan mengidentifikasi serta mengkuantifikasi hormon.

5.3. Antibiotik

Kata antibiotik berasal dari bahasa Yunani yaitu "anti" yang berarti menangkal dan "bios" yang berarti hidup. Jadi antibiotik didefinisikan sebagai suatu zat yang dihasilkan oleh organisme tertentu dan berfungsi untuk menghambat, menekan atau menghentikan pertumbuhan organisme lain yang ada di

sekitarnya yang mempunyai efek mengganggu proses biokimia di dalam organisme, khususnya dalam proses infeksi oleh bakteri. Antibiotika dapat diperoleh dari jamur atau bakteri yang diproses dengan cara tertentu. Antibiotik dapat dihasilkan secara alami maupun sintetik, antibiotik sebagai substansi yang bahkan di dalam konsentrasi rendah dapat menghambat pertumbuhan dan reproduksi bakteri dan fungi. Berdasarkan sifatnya (daya hancurnya) antibiotik dibagi menjadi dua:

1. Antibiotik yang bersifat bakterisidal, yaitu antibiotik yang bersifat destruktif terhadap bakteri.
2. Antibiotik yang bersifat bakteriostatik, yaitu antibiotik yang bekerja menghambat pertumbuhan atau multiplikasi bakteri.

Penemuan antibiotik dipelopori oleh Alexander Fleming dengan penemuan penisilin dari *Penicillium notatum*, selanjutnya ditemukan penisilin dari *penicillium* spesies lain, yaitu *P. griseofulvum* yang menghasilkan griseofulvi. *P. chrysogenum* digunakan untuk memperbaiki penisilin yang sudah ada dengan mutasi secara radiasi ultra violet dan sinar X. Selain *P. chrysogenum*, *P. notatum* senyawa antibiotik yang dihasilkan jamur ini sangat efektif terhadap bekteri gram positif, khususnya *pneumokokus* dan beberapa *stapilokokus* serta beberapa bakteri gram negative, spiroketa yang

merupakan penyebab sifilis. Beberapa mikroorganisme lain juga digunakan sebagai sumber antibiotik, antara lain: *Cephalospurium* menghasilkan penisilin dan sefalospurin; *Streptomyces* menghasikkan streptomisin, untuk pengobatan TBC; *Sterptomycetes griseus* menghasilkan streptomycin; *S. erythareus* menghasilkan erythromycin; *S. noursei* menghasilkan nystatin; *S. nodosus menghasilkan a*mphoetericin-B*; S. niveus* menghasilkan novobiocin; *Bacillus licheniforis* menghasilkan bacitracin; *B. polymyxa* menghasilkan polymxyn B; *Aspergillus fumigates* mengasilkan *f*umigilin.

5.4. Vaksin

Kemajuan bioteknologi terutama rekombinan DNA telah membuka peluang baru untuk memproduksi vaksin hidup dengan metoda yang mudah. Pembuatan vaksin yang dilakukan melalui rekayasa genetika, yaitu dengan cara mengisolasi gen yang mengkode antigen dari mikrobia yang bersangkutan. Gen tersebut disisipkan pada plasmid yang sama tetapi telah dilemahkan terlebih dahulu. Mikrobia yang telah disisipi gen tersebut akan membentuk antigen murni. Jika antigen ini disuntikkan pada tubuh manusia, sistem kekebalan tubuh akan

membentuk antibodi yang berfungsi melawan antigen yang masuk ke dalam tubuh.

Pembuatan vaksin membutuhkan organisme vektor yang sesuai, dan virus *vaccinia* merupakan vektor yang paling terkenal saat ini, di samping *cytomegalovirus* sebagai kandidat vektor potensial. Virus *vaccinia* sudah lama dikenal dan telah digunakan untuk vaksinasi *smallpox*. Selama ini penggunaannya sudah tak diragukan lagi efektifitasnnya dan relatif aman, stabil, serta mudah cara pemberiannya. Virus *vaccinia* mempunyai beberapa karakteristik yang khas sehingga terpilih sebagai vektor untuk menghasilkan vaksin rekombinan hidup. Virus ini merupakan virus DNA, manipulasi genetik dapat dilakukan relatip mudah, mempunyai genom yang dapat menerima banyak DNA asing, mudah ditumbuhkan dan dimurnikan serta mempunyai *range host* yang lebar pada manusia dan hewan. Sifat virus vaccinia memungkinkan dilakukan rekayasa genetika dan mampu mengekspresikan informasi antigen asing dari berbagai patogen. Bila vaksin hidup hasil rekombinan ini digunakan untuk vaksinasi binatang maka binatang tersebut akan memperlihatkan respon imunologis terhadap antigen patogenik yang dimaksud.

Beberapa laporan penelitian telah membuktikan bahwa vaksinasi binatang percobaan dengan virus rekombinan berhasil melindungi binatang ini terhadap penyakit yang berhubungan. Beberapa laporan telah mengekspresikan hasil rekombinan ini telah memperlihatkan reaksi kekebalan terhadap patogen-patogen berbagai penyakit, seperti *herpes simplex* (virus glycoprotein), influenza (virus hemagglutinin), hepatitis B (virus antigen permukaan), rabies (virus glycoprotein), plasmodium (antigen lesi *sporozoite*) dan sebagainya.

Selain itu ada juga vaksin yang dibuat dengan menerapkan bioteknologi konvensional, pembuatan vaksin jenis ini tidak melalui rekayasa genetika. Contoh vaksin jenis ini seperti: vaksin poliomyelitis, cacar air, rabies, dan gondong. Vaksin ini berasal dari mikroorganisme yang telah dilemahkan atau toksin yang dihasilkan oleh mikroorganisme itu. Vaksin dimasukkan ke dalam tubuh manusia dengan suntikan atau oral. Dengan demikian, sistem kekebalan tubuh manusia aktif melawan mikroorganisme tersebut. Tetapi vaksin yang dihasilkan kurang aman dan dapat menimbulkan kerugian seperti: 1. mikroorganisme untuk vaksin kemungkinan masih melanjutkan proses reproduksi dan kemungkinan masih dapat

menyebabkan penyakit; 2. Ada sebagian orang yang alergi terhadap sisa-sisa sel dari produksi vaksin walaupun sudah dimurnikan; 3. Vaksin yang disuntikkan ke dalam tubuh seseorang akan membuat tubuh membangun sistem kekebalan tubuh dengan membentuk antibodi.

Proses pembuatan vaksin secara bioteknologi adalah sebagai berikut. Menumbuhkan virus di dalam kultur sel seperti sel embrio ayam atau ginjal monyet. Mengekstraksi virus melalui penyaringan. Kemudian menggunakan hasil ekstraksi untuk mematikan virus tersebut. Melemahkan vaksin lalu menyimpannya pada suhu yang rendah.

5.5 Interferon

Interferon adalah hormon berbentuk sitokina berupa protein berjenis glikoprotein yang disekresi oleh sel vertebrata karena akibat rangsangan biologis, seperti virus, bakteri, protozoa, mycoplasma, mitogen, dan senyawa lainnya. Interferon merupakan sel-sel tubuh yang mampu menghasilkan senyawa kimia. Senyawa kimia tersebut dapat membunuh virus. Interferon berguna untuk melawan infeksi dan meningkatkan sistem kekebalan tubuh. Produksi interferon dilakukan melalui rekayasa genetika

Sejarah penemuan interferon dimulai pada tahun 1954 ketika Nagano dan Kojima menemukannya virus pada kelinci. Kemudian Tahun 1957 Isaacs dan Lindenmann berhasil mengisolasi molekul yang serupa dari sel ayam dan molekul tersebut disebut interferon. Berdasarkan beberapa penelitian ditemukan tiga jenis interferon: yaitu, alfa, beta, dan gamma.

1. Interferon α. Interferon α dihasilkan oleh leukosit dan berperan sebagai molekul anti-viral. Penggunaan interferon-α untuk perawatan penderita hepatitis B dan hepatitis C dapat menginduksi hipotiroidisme atau hipertiroidisme, tiroiditis maupun disfungsi kelenjar tiroid. IFN-α memiliki efek anti-proliferatif dan anti-fibrosis pada sel mesenkimal.
2. Interferon-β. Interferon-β dihasilkan oleh fibroblas dan dapat bekerja pada hampir semua sel di dalam tubuh manusia.
3. Interferon-γ. Interferon-γ dihasilkan oleh limfosit sel T pembantu, hanya bekerja pada sel-sel tertentu, seperti makrofaga, sel endotelial, fibroblas, sel T sitotoksik dan limfosit B.

Interferon, terutama alfa dan beta memiliki peranan penting dalam pertahanan terhadap infeksi virus. Senyawa interferon adalah bagian dari sistem imun non-spesifik dan senyawa tersebut akan terinduksi pada tahap awal infeksi virus, sebelum sistem imun spesifik merespon infeksi tersebut. Pada saat rangsangan atau stimulus biologis terjadi, sel yang memproduksi interferon akan mengeluarkannya ke lingkungan sehingga interferon dapat berikatan

dengan reseptor sel target dan menginduksi transkripsi dari 20-30 gen pada sel target. Hal ini menghasilkan keadaaan anti-virus pada sel target. Aktivasi protein interferon terkadang dapat menimbulkan kematian sel yang dapat mencegah infeksi lebih lanjut pada sel.

Interferon-α dan -β telah digunakan untuk penyembuhan berbagai infeksi virus, salah satunya adalah beberapa hepatitis C dan B. Sementara itu, interferon-γ yang berperan dalam aktivasi makrofag, digunakan dalam penyembuhan kusta lepromatosa, toksoplasmosis, dan leisymaniasis. Efek anti-proliferasi yang dimiliki interferon juga menyebabkan senyawa ini dapat digunakan untuk mengatasi tumor seperti melanoma dan sarkoma kaprosi. Penggunaan interferon dalam pengobatan dibatasi karena adanya efek samping berupa demam, malaise, kelelahan, dan nyeri otot. Selain itu, interferon juga bersifat toksik atau beracun terhadap hati, ginjal, sumsum tulang, dan jantung.

5.6 Sel Punca

Sel punca adalah jenis sel khusus dengan kemampuan membentuk ulang dirinya dan dalam saat yang bersamaan membentuk sel yang terspesialisasi. Sel punca diaplikasi untuk terapeutik *stem cell* embrionik pada berbagai penyakit degeneratif. Dalam dunia kedokteran, meskipun kebanyakan sel dalam tubuh seperti jantung maupun hati telah terbentuk khusus untuk memenuhi fungsi tertentu, *stem cell* selalu berada dalam keadaan tidak terdiferensiasi sampai ada sinyal tertentu yang mengarahkannya

berdiferensiasi menjadi sel jenis tertentu. Kemampuannya untuk berproliferasi bersamaan dengan kemampuannya berdiferensiasi menjadi jenis sel tertentu inilah yang membuatnya unik . Karakteristik biologis dan diferensiasi *stem cell* fokus pada *mesenchymal stem cell*.

Aplikasi dari sel punca diantaranya adalah pengobatan infark jantung yaitu menggunakan sel punca yang berasal dari sumsum tulang untuk mengganti sel-sel pembuluh yang rusak (neovaskularisasi). Selain itu, sel punca diduga dapat digunakan untuk pengobatan diabetes tipe I dengan cara mengganti sel pankreas yang sudah rusak dengan sel pankreas hasil diferensiasi sel punca. Hal ini dilakukan untuk menghindari reaksi penolakan yang dapat terjadi seperti pada transplantasi pankreas dari binatang. Sejauh ini percobaan telah berhasil dilakukan pada mencit.

5.7 Terapi Gen

Rekayasa genetika dalam kesehatan untuk pencegahan dan pengobatan penyakit tertentu dapat dilakukan dengan cara terapi gen. Pemetaan genom manusia serta *karyotyping* memungkinkan adanya rekayasa gen-gen tertentu demi menghasilkan ekspresi gen yang diharapkan. Proses rekayasa genetik pada teknologi terapi gen yaitu dengan menambahkan

gen yang normal ke bagian genom yang mengalami mutasi ataupun kerusakan sehingga fungsi gen tersebut dapat diperbaiki (Kachroo and Gowder, 2016).

Penelitian di bidang terapi gen, meliputi penggantian gen yang termutasi dengan salinan gen sehat, inaktivasi (*knocking off*) gen yang termutasi, serta pengenalan gen baru untuk membantu mengatasi penyakit tertentu (Johnson, 2017). Misra (2013), terapi gen banyak digunakan untuk penyakit yang disebabkan oleh kelainan gen tunggal resesif, seperti fibrosis kistik (*cystic fibrosis*), hemofilia, kelainan *muscular*, anemia sel sabit; serta penyakit lain, seperti kanker maupun AIDS (*Acquired Immunodeficiency Syndrome*).

Tahapan terapi gen meliputi: isolasi gen target, penyisipan gen target ke vektor transfer, transfer vektor yang telah disisipi gen target keorganisme yang akan diterapi, transformasi pada sel organisme target. Gen target yang telah disisipkan pada organisme yang diterapi tersebut diharapkan mampu menggantikan fungsi gen abnormal yang mengakibatkan penyakit pada penderita.

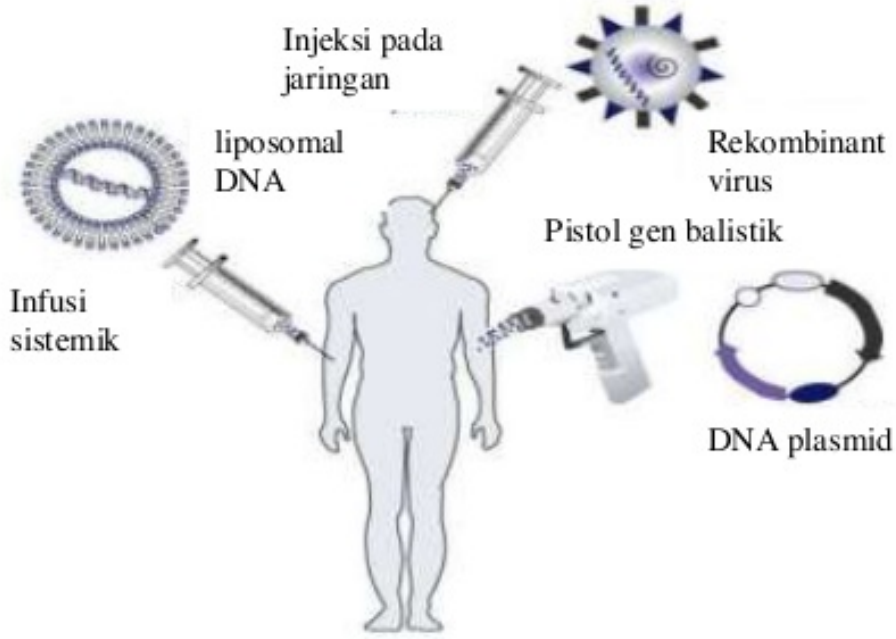
Terdapat dua tipe utama terapi gen, meliputi terapi gen sel embrional *(germ line gene therapy)* dan terapi gen sel tubuh *(somatic gene therapy)* (Misra, 2013):

1. Terapi gen sel embrional *(germ line gene therapy)* Pada terapi gen sel kelamin ini, digunakan sel kelamin jantan (sperma) maupun sel kelamin betina (ovum) yang dimodifikasi dengan adanya penyisipan gen fungsional yang terintegrasi dengan genomnya.
2. Terapi gen sel tubuh *(somatic gene therapy)* Pada terapi gen sel tubuh ini, dilakukan transfer gen fungsional ke dalam sel tubuh pasien sehingga malfungsi pada organ dapat diperbaiki.

Singh *et al*. (2016) menyatakan bahwa terapi gen sel tubuh spesifik untuk setiap pasien dan tidak diturunkan ke generasi berikutnya, tidak akan memberikan pengaruh terhadap sel embrional. Pada terapi gen dengan menggunakan *germ line*, gen akan ditransfer ke dalam ovum ataupun zigot sehingga ketika ovum tersebut mengalami fertilisasi dengan sperma membentuk zigot, maka zigot akan berkembang dengan membawa gen yang telah disisipkan sebelumnya sehingga organisme baru yang terbentuk telah memiliki gen yang berfungsi dalam terapi yang dimaksudkan. Terapi gen sel embrional biasanya dilakukan pada hewan.

Pada terapi gen dengan sel somatik, DNA yang mengandung gen untuk fungsi terapi ditransfer ke dalam sel somatik baik secara *in vivo* maupun *ex vivo*. Transfer gen tersebut biasanya ditujukan secara langsung ke organ atau jaringan spesifik sehingga gen dapat terekspresi dengan baik. Wang *et al*. (2016) menyatakan bahwa terapi gen secara *in vivo* memiliki spesifitas dan efisiensi yang lebih rendah dibandingkan terapi gen secara *ex vivo*. Terapi gen

secara *in vivo* melibatkan proses transduksi secara langsung di dalam tubuh, lebih mudah dilaksanakan dan dikembangkan dalam skala tertentu, dan tidak membutuhkan fasilitas khusus karena injeksi atau transfer gen bisa dilakukan dengan metode umum maupun menggunakan *biolistic gene gun* (Gambar 24.)



Gambar 24. Terapi gen secara *in vivo* (Miesfeld, 2000)

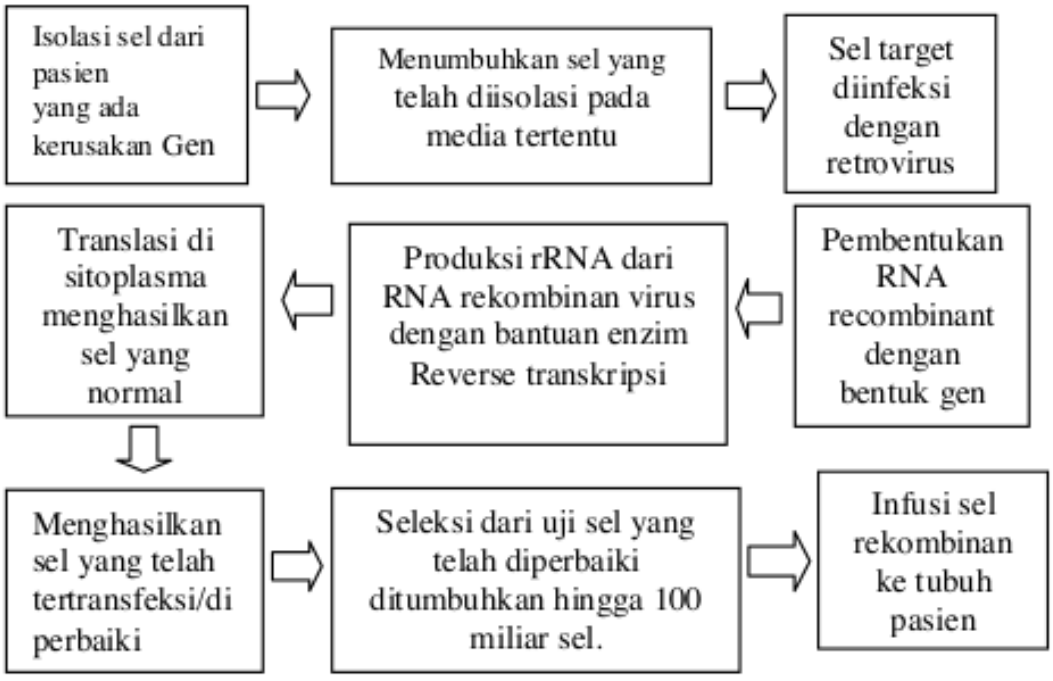
Terapi gen secara *ex vivo* memiliki tahapan yang lebih kompleks dibanding secara *in vivo*. Terapi ini melibatkan transduksi di laboratorium dengan kondisi spesifik tertentu sehingga membutuhkan fasilitas laboratorium yang lebih lengkap. Metode *ex vivo* ini juga mengakibatkan kurangnya populasi sel yang diproliferasi. Tahapan dalam metode terapi gen secara *ex vivo* yang terdiri dari beberapa langkah (Gambar 25), yaitu:

1. Isolasi sel yang memiliki gen abnormal dari pasien penderita penyakit tertentu.

2. Sel hasil isolasi ditumbuhkan pada media kultur tertentu yang sesuai dengan karakteristik sel

3. Sel target yang telah dikultur kemudian diinfeksi dengan *retrovirus* yang mengandung rekombinan gen dalam bentuk gen normal untuk menggantikan gen abnormal pada sel

4. Produksi rDNA dari RNA rekombinan (jika vektor virus merupakan virus dengan materi genetik berupa RNA) dengan transkripsi balik *(reverse transcription)*.



Gambar 25. Prosedur Terapi gen secara *ex vivo* (Baldor, 2012)

5. Translasi gen normal pada sitoplasma sel menghasilkan protein yang bertanggung jawab pada gen yang mengalami kerusakan (terjadi integrasi antara gen target untuk terapi dengan gen pada sel yang dikultur.

6. Seleksi, perbanyakan, dan pengujian sel yang telah ditransfeksi untuk mendapatkan sel normal yang gen abnormalnya telah berhasil digantikan oleh gen baru

7. Injeksi kembali sel yang telah berhasil direkayasa dengan terapi gen ke dalam jaringan atau organ pasien

Transfer gen fungsional ke dalam sel target dalam terapi gen memerlukan vector yang kompeten dan dapat membawa gen target dengan baik. Vektor yang ideal sebaiknya mampu mengantarkan gen ke tipe sel spesifik, mengakomodasi gen asing untuk menyesuaikan ukurannya, mencapai level dan durasi ekspresi transgenik yang mampu memperbaiki kerusakan atau ketidaknormalan gen, serta bersifat aman dan nonimunogenik Penyisipan gen pada terapi gen umumnya menggunakan vektor berupa virus *(viral vector)* maupun senyawa atau molekul selain virus *(non viral vector)*. Transfer gen pada terapi gen dengan menggunakan vektor berupa virus

disebut sebagai transduksi sedangkan transfer dengan vektor selain virus disebut sebagai transfeksi (Mali, 2013).

Menurut Misra (2013), virus yang dijadikan vektor pembawa gen target pada terapi gen haruslah berupa virus yang tidak membahayakan meskipun virus sendiri dapat berevolusi dan mengantarkan gen pada sel manusia melalui jalur patogenik. Namun, patogenitas virus vektor tersebut harus dipastikan tidak akan memberikan efek samping pada pasien yang diterapi gen. Nayerossadat *et al*. (2012) menyatakan bahwa beberapa virus yang dimanfaatkan sebagai vektor dalam terapi gen diantaranya adalah *retrovirus, adenovirus* (tipe 2 dan 5), *adenoassociated virus (AAV)*, virus herpes, virus cacar, *human foamy virus (HFV)*, lentivirus (Gambar 26) serta beberapa jenis lainnya.

1. Adenovirus

Adenovirus termasuk dalam virus ikosahedral yang berukuran antara 90–100 nm, memiliki 252 kapsomer dengan 240 hekson dan 12 penton. *Adenovirus* memiliki protein fibrosa yang memanjang keluar dari penton dan struktur tersebut diketahui sebagai struktur yang mendukung kemampuan *adenovirus* untuk mengenali serta berikatan dengan reseptor sel target. Genom *adenovirus* terdiri dari DNA

yang linear, *double stranded*, dan tidak bersegmen dengan ukuran antara 26– 45 Kbp. Genom *adenovirus* memiliki setidaknya 22–40 gen yang berbeda (Viswanathan *et al.*, 2015). *Adenovirus* memiliki kemampuan untuk menginfeksi sel manusia dan memungkinkan munculnya penyakit pada system pernafasan, pencernaan, maupun indera (Misra, 2013).

2. Retrovirus

Retrovirus merupakan salah satu virus yang menginfeksi sel hewan, termasuk manusia. Pertama kali identifikasi *retrovirus* berhasil dilakukan pada infeksi terhadap ayam sebagai salah satu faktor onkogenik. *Retrovirus* memiliki struktur spheris dengan diameter antara 80–100 nm. *Virion retrovirus* memiliki enzim transkriptase balik (*reverse transcriptase*), integrase, serta juga memiliki dua subunit RNA yang identik dan berikatan membentuk ikatan dimer pada kapsidnya. RNA *retrovirus* akan ditranskripsi balik saat virus ini menginfeksi sel inang (Maurya *et al.*, 2009). Vektor *retrovirus* merupakan salah satu jenis vektor virus yang banyak digunakan dalam terapi gen sel embrional maupun sel somatik. *Retrovirus* dapat menginfeksi sel yang sedang membelah karena virus ini memiliki kemampuan untuk menembus pori nukleus saat siklus mitosis. Berdasarkan kemampuannya tersebut, *Retrovirus* banyak digunakan untuk terapi gen secara *in situ* (Nayerossadat *et al.*, 2012). Misra (2013) kelemahan *retrovirus* adalah adanya kemungkinan penyisipan gen virus di fragmen genom manapun pada

sel inang dimana hal tersebut dapat mengakibatkan terjadinya mutasi apabila penyisipan gen virus terjadi pada bagian tengah dari genom sel inang. Namun sudah ditemukan cara untuk dapat meminimalisasi kelemahan vektor *retrovirus* tersebut, yaitu dengan penambahan *zinc finger nuclease* ataupun penyertaan sekuen beta globin sebagai lokus control, yang dapat memastikan terjadinya penyisipan dan integrasi materi genetik pada sekuen yang tepat.

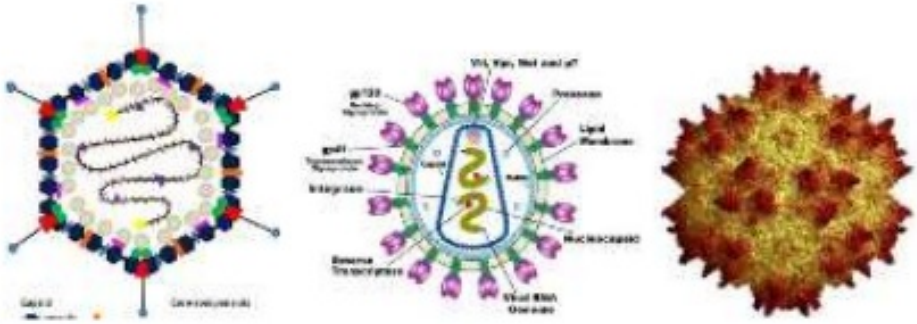
184

3. Adeno-associated virus

Adeno-associated virus (AAV) adalah virus yang tidak memiliki selubung. Virus ini berukuran cukup kecil (25 nm) serta memiliki genom berupa DNA untai tunggal yang linear. Infeksi AAV hanya akan efektif jika terdapat virus pembantu, baik *adenovirus* maupun herpesvirus. AAV memiliki ukuran genom 4,7 Kbp serta memiliki gen *rep* dan gen *cap*. Gen *rep* mengkode protein non struktural yang akan berperan dalam replikasi, pengemasan, dan integrasi genom, sedangkan gen *cap* mengkode protein struktural seperti VP1, VP2, dan VP3 yang akan bergabung membentuk kapsid virus yang berperan dalam transfer gen.

Terapi gen dengan vektor AAV umumnya digunakan dalam terapi in situ karena gen terintegrasi yang terdapat pada AAV rekombinan dapat langsung diinfeksikan pada sel inang. Pada sel inang target, gen rekombinan dari vektor akan dirilis untuk kemudian diekspresikan menjadi protein fungsional tertentu yang dapat mensubstitusi gen yang abnormal pada sel tersebut. Dengan adanya

ekspresi gen fungsional yang telah disisipkan dengan vektor AAV , penyakit akibat ketidaknormalan gen dapat diobati.



Gambar 26. Struktur *adenovirus, retrovirus dan Adeno-associated virus* (Waye & Sing, 2010, US National Institute of Health, 2016, Abs, 2016).

Vektor berupa virus dikhawatirkan kembali virulen saat berada di dalam tubuh pasien sehingga justru dapat membahayakan kesehatan pasien. Pada 24 Juni 2010, Eureka Network melakukan proyek yang dinamakan *Eureka project* E *3371 Gene Transfer Agents* yang meneliti mengenai senyawa turunan dari kation amfifilik 1,4- dihidropiridin/1,4-DHP (*cationic amphiphilic 1,4 dihydropyridin*) yang dapat digunakan sebagai pengantar gen normal ke dalam inti sel dan mengganti gen sebelumnya yang rusak. Proyek ini memungkinkan adanya pengembangan vektor nonviral untuk menyisipkan gen dalam terapi gen pada penyakit tertentu.

Produk vektor ini memiliki kelebihan yang dinilai potensial untuk dikembangkan, yaitu telah siap untuk diproduksi dalam skala besar.

Penyakit yang dapat diobati dengan terapi genetik seperti:

1. Penyakit ADD (*Adenosine Deaminase Deficiency*). ADD yaitu kelainan yang mengakibatkan penderitanya tidak memiliki daya tahan tubuh sama sekali sehingga kontak dengan kuman apapun dapat menyebabkan kematian. Rusaknya sistem kekebalan tubuh pada penderita ADD terjadi karena sel-sel darah tidak mampu membangun enzim adenosine deaminase (AD) yang diperlukan untuk membangun daya tahan tubuh.
2. Defisiensi kekebalan kombinasi akut yaitu penyakit akibat defisiensi dari limfosit T dan limfosit B akibat kekurangan enzim ADA sebagai faktor pematangan dari kedua limfosit tersebut. Terapi yang digunakan dengan cara terapi gen, yaitu mengkultur sel T dari penderita dengan sel T orang normal yang mempunyai DNA penghasil enzim ADA.
3. Penyakit Hemofilia adalah manusia yang faktor VIII dalam darahnya jumlahnya sedikit. Jika orang normal memiliki jumlah faktor VIII dalam darahnya sebanyak 100 unit, maka penderita hemofili ringan hanya memiliki sekitar 30 unit saja (6-30 persen), sedangkan penderita hemofili berat hanya

memiliki faktor VIII dalam darahnya kurang dari 5 unit atau 1 persen saja. Akibatnya penderita tidak memiliki kemampuan dalam pembekuan darah.

4. Penyakit Thallasemia, merupakan penyakit darah bawaan yang menyebabkan sel darah merah pecah (hemolisis). Kelainan gen ini akan mengakibatkan kekurangan salah satu unsur pembentuk hemoglobin (Hb), sehingga produksi Hb berkurang. Terdapat tiga jenis thallasemia yaitu: mayor, intermediate dan karier. Pada thallasemia mayor, Hb sama sekali tidak diproduksi. Akibatnya penderita akan mengalami anemia berat. Selama hidupnya penderita akan tergantung pada transfusi darah. Karena efek samping dari transfusi darah yang terus menerus akan mengakibatkan kelebihan zat besi, terapi gen merupakan harapan bagi penderita thallasemia di masa mendatang. Terapi dilakukan dengan menggantikan sel tunas yang rusak pada sumsum tulang penderita dengan sel tunas dari donor yang sehat.

BAB 6

NUTRIGENOMIK DAN EPIGENETIKA.

Setelah membaca Bab 6 ini pembaca diharapkan dapat mengetahui tentang nutrisi dan faktor genetik, Jenis makanan yang sesuai bagi individu yang memiliki penyakit kelainan genetik serta beragam respons pada individu dengan latar belakang kelainan genetik.

6.1. Nutrisi dan faktor genetik

Konsumsi makanan yang sehat akan memelihara kesehatan dan menghindarkan diri dari risiko terserangnya beberapa penyakit tertentu. Namun, sering dihadapkan dengan kenyataan bahwa jenis makanan yang sama dikonsumsi oleh individu yang berbeda menimbulkan efek yang berbeda pula. Kaitan ini terlihat bahwa Ada orang yang memiliki alergi terhadap makanan tertentu dan ada yang tidak. Begitu pula ada orang yang mudah menjadi gemuk (obesitas) atau kurus dan ada pula yang tidak (Almazini, 2011). Hal ini disebabkan, karena tidak ada dua individu yang sama persis sekalipun saudara kembar. Dalam perjalanan usia tidak ada dua individu yang memiliki "sejarah" dan kegiatan yang sama persis.

Demikian pula kondisi psikologis dan fisiologis tubuh manusia tidaklah stabil selama 24 jam (Raharja, 2006).

Komponen genetik setiap mahluk hidup yang diturunkan dari nenek moyang mempunyai kemampuan yang bervariasi terhadap makanan dan kerentanan terhadap penyakit kronis seperti diabetes melitus, obesitas, dan penyakit lain yang rentan terhadap pola susunan gizi makanan. Beberapa komponen nutrisi essensial seperti karbohidrat, asam amino, asam lemak, kalsium, zinc, selenium, folat dan Vitamin A, C & E dapat mempengaruhi perubahan aktivitas gen dan kesehatan, demikian juga komponen bioaktif non-essesial secara signifikan mempengaruhi kesehatan (Fatchiyah, 2016)

Dengan semakin majunya perkembangan ilmu pengetahuan bidang gizi, biologi molekuler, genetika molekuler, patologi, toksikologi, fisiologi, dan bioinformatika telah membawa kemajuan dalam bidang kesehatan untuk mempelajari interaksi antara nutrisi dan factor genetik guna menghidari timbulnya resiko penyakit, seperti obesitas, diabetes, kardiovaskuler dan lain-lain.

7.2 Nutrigenomik

Nutrigenomik adalah ilmu yang mempelajari hubungan antara faktor genetik dengan nutrisi yang memiliki komposisi

spesifik dan yang mampu menginduksi ekspresi gen dalam tubuh. Nutrigenomik merupakan aplikasi genomik dalam pengembangan teknologi baru, seperti transkriptomik, proteomik, metabolomik, dan epigenomik berbasis pada analisis fungsi gen dan ekspresinya. Pengetahuan ini penting untuk menjaga kesehatan dan menghindar dari potensi penyakit kronis yang mungkin menyerang sehingga kebutuhan terhadap obat juga dapat dikurangi.

Nutrigenomik meliputi pembelajaran yang luas dengan dua tujuan utama. Pertama untuk menganalisis karakter dari masing-masing individu. Kedua menggunakan informasi tersebut dalam pencegahan penyakit yang berhubungan dengan gaya hidup dengan efektivitas dari konsumsi dan komponen makanan.

Beberapa riset nutrigenonik membuktikan bahwa antara peran gen dalam asam deoksiribonukleat, diet yang dikonsumsi, dan penyakit-penyakit tertentu mempunyai hubungan yang sangat kuat. Nutrigenomik ini akan membantu kita untuk mengetahui makanan dan minuman apa saja yang cocok bagi gen tubuh kita sehingga penyakit obesitas, jantung, diabetes, kanker, maupun sejumlah penyakit karena penuaan bisa kita hindari.

Kajian aplikasi ilmu genetika terhadap kesehatan dan nutrisi manusia diharapkan mengeksplorasi bahan-bahan alami baik dari herbal maupun bioaktif peptida produk alami hewan. Pada dasarnya, senyawa dari makanan dapat dipelajari dan dikembangkan sebagai modulator dari ekspresi gen dibandingkan sebagai nutrisi sederhana bagi ilmu gizi dasar.

Fatchiyah (2013) menyatakan komponen genetik secara individual memiliki kemampuan yang bervariasi terhadap makanan dan kerentanan terhadap penyakit kronis seperti diabetes mellitus tipe 2. Dengan mengetahui profil gen, dapat dilakukan diet dengan nutrisi yang benar. Karena setiap gen memerlukan jenis nutrisi berbeda. Saat ini profil genetik seseorang dapat diketahui hanya butuh waktu 2 x 24 jam.

Individu yang memiliki garis keturunan penyakit diabetes melitus dianjurkan melakukan diet serat tinggi dengan memperbanyak konsumsi buah-buahan, sayuran dan juga kacang-kacangan. Diet serat tinggi bekerja lebih baik dalam mengontrol diabetes dibanding diet yang direkomendasikan ADA (*American Diabetes Association*). Diet serat tinggi mampu menurunkan level insulin hingga 12% dan level glukosa hingga 10% pada pasien DM tipe 2 dibanding yang mengkonsunsi diet lain.

Serat yang tinggi dapat mengurangi kebutuhan akan insulin. Diet serat tinggi sangat efektif untuk memperlambat penyerapan glukosa ke dalam sirkulasi darah sehingga mengurangi sekresi insulin. Menurunnya kebutuhan insulin berarti menurunkan aktivitas sel β pankreas dalam produksi insulin. Dengan adanya penurunan aktivitas sel dalam produksi insulin, maka ATP yang seharusnya digunakan untuk sekresi insulin dari vesikel dapat digunakan dalam melakukan regenerasi sel β pancreas. Regenerasi sel β merupakan proses alami untuk menggantikan sel-sel β yang rusak dengan membentuk sel β baru karena adanya mekanisme *feed back* pada jaringan endokrin.

Kerusakan sel β pankreas akibat STZ (Streptozotosin) menginduksi sel-sel β normal untuk melakukan regenerasi. Toksisitas STZ dikarenakan adanya aktivitas alkilasi dari gugus metilnitrosourea, khususnya pada posisi O^6 dari guanin. Transfer gugus *methyl* dari STZ ke molekul DNA menyebabkan kerusakan pada sepanjang rantai yang mengalami alkilasi, yang akhirnya menyebabkan fragmentasi DNA. Kerusakan ini menyebabkan penurunan NAD^+ dan ATP seluler, sehingga sel β mengalami nekrosis.

Pembentukan sel β baru membutuhkan energi berupa ATP untuk melakukan regenerasi melalui siklus sel. Dugaan inilah yang mendukung hasil penelitian yang menunjukkan bahwa terjadi peningkatan level mRNA gen proinsulin pada tikus diabet dengan perlakuan glukomanan. Peningkatan level mRNA ini diduga karena terjadi peningkatan jumlah sel β sehingga berpengaruh terhadap peningkatan hasil aktivitas sel berupa proses transkripsi mRNA dan translasi insulin.

Diet mengandung glucomannan dapat menunda rasa lapar dan meningkatkan secara gradual absorbsi diet gula, sehingga berpengaruh mengurangi peningkatan level gula darah setelah makan. Glucomannan 8 –13 gram per 100 gram kalori perhari dapat menstabilkan gula darah individu dengan sindrom resisten insulin (syndrome-X). Tetapi konsentrasi *glucomannan* yang tinggi bisa menyebabkan menurunnya gula darah secara cepat dan menyebabkan *hypoglycemia* (kadar gula darah sangat rendah) (Fatchiyah, 2016)

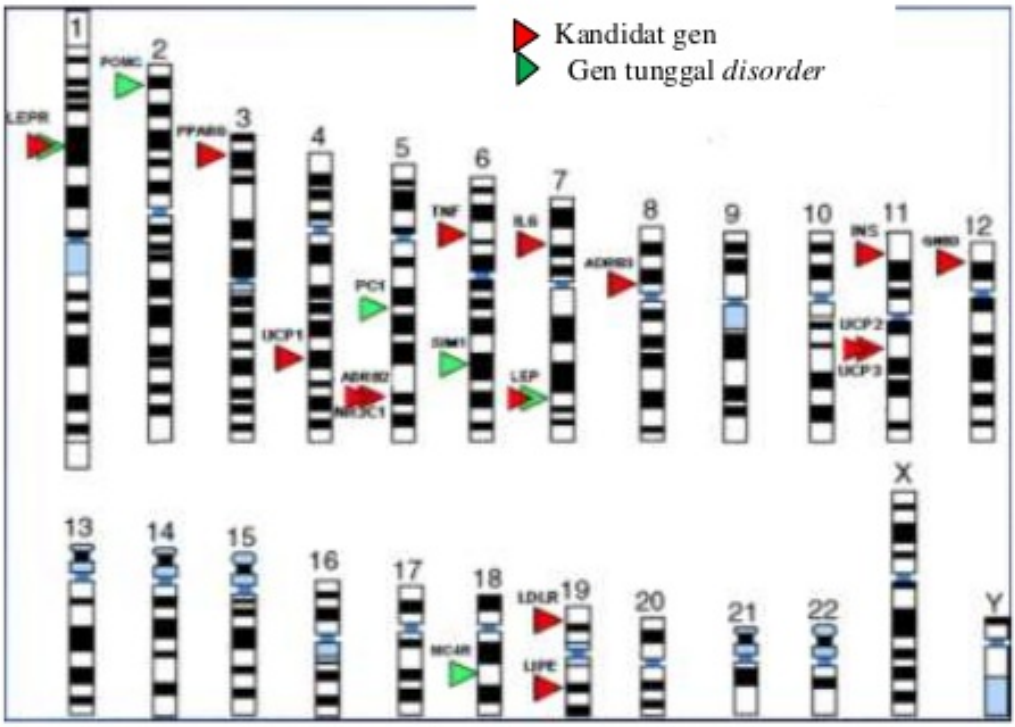
Diet serat tinggi glucomannan bagi penderita gula darah dapat diperoleh dari tepung porang. Tanaman porang di Jawa Timur merupakan komoditi ekspor untuk bahan *konyaku* dan *shiratake* ke Jepang. Jenis *konjac glucomannan* telah banyak diteliti berkaitan dengan pengontrolan DM tipe 2. Namun, tepung porang tidak disarankan untuk tindakan preventif, tetapi sangat baik untuk langkah dini terapi kuratif. Glocomannan dari serat tanaman *konjac*

dan porang (*Amorphopallus mulleri*) memiliki sifat diantaranya tidak larut dalam air dan berbentuk seperti gel. Karena tubuh tidak bisa menyerap *glucomannan*, sehingga menghasilkan massa lunak yang besar kemudian bergerak menembus usus dan akan merangsang kontraksi otot usus. Penggunaan glucomannan dari tepung porang yang ada di Indonesia menemukan masalah, karena kandungan kalsium oksalat yang dapat menyebabkan rasa gatal dan iritasi jika dikonsumsi, bahkan dapat menyebabkan kristalisasi dalam ginjal. Oleh karena itu, untuk mendapatkan glucomannan yang aman terhadap kalsium oksalat, perlu pengolahan lebih spesifik terhadap tepung porang agar lebih aman dikonsumsi (Fatchiyah, 2016)

Obesitas adalah salah satu kelainan yang disebabkan oleh pola makan. Ketidakteraturan pola makan menyebabkan terjadinya gangguan interaksi antara nutrisi sehingga mengganggu DNA (genenome), mRNA (transkriptome), enzim (proteom) dan subtrat (metabolome). Dampak yang terjadi akibat gangguan interaksi tersebut adalah terjadinya penyakit. Obesitas mempunyai faktor resiko penyakit sindroma metabolik seperti hipertensi, atherosklerosis, kanker, diabetes mellitus dan penyakit degenerative (*Almazini, 2011*).

Saat ini para ilmuwan sudah berhasil menemukan gen-gen mempengaruhi obesitas dan lokasi kromosom gen tunggal "disorder serta fitur fenotip utama bentuk monogenik obesitas manusia (Gambar 27). Sebuah terapi bisa jadi lebih efektif atau kurang efektif

pada seorang pasien obesitas bergantung pada profil genetiknya. Gen-gen yang mempengaruhi obesitas. yaitu: LEP (leptin), LGPR (leptin reseptor), POMC (pro-opiomelanocortin), PCI prohormon convertase; MC4-R melanocortin-4 receptor, ACTH adreno corticotropik hormone; α=MSH (α-melanocortin-4 reseptor) (Tabel 4). Nutrigenomik membantu dokter untuk memilih pengobatan yang bersifat individu berdasarkan profil genetik pasien *(Almazini, 2011)*.



Gambar 27. Lokasi kromosom untuk gen tunggal "disorder"yang telah dikenal dan kandidat gen yang sedang diteliti pada diabetes miletus II (Loos and Bouchard, 2003).

Tabel 4. Fitur fenotip utama bentuk monogenik obesitas manusia

Gen	obesitas	Berat lahir	Abnormalitas Endokrin	Hyper-pagia	Pewa-risan	Kromo-som
LEP	berat	normal	Leptin rendah Hormon stimulating tiroid tinggi Insulin tiggi Leptin tinggi disfungsi pituitari	+	resesif	7q31.1 1p31
LEPR	berat	?	Hypogonadotropi hypogonadism Disfungsi simpatek Insulin tinggi			
POMC			Pigmentasi rambut merah Difesiensi ACH hipocortisolism A-MSH rendah	+	resesif	2p233
PCI	severe	?	Hypogonadotropi hypogonadism hipocortisolism Proinsulin tinggi, rendah insulin Postpandrialhypoglicemia POMC tinggi	?	resesive	5q1.5-2.1
MC4R NROB2	Berat biasa	normal tinggi	Tidak terobservasi Mild-hiperinsulinmenia	+ -	dominan dominan	18q22 1p361

Sumber: LeRoith, Tailor and Olefsky (2004)

57

Ket: LEP leptin, LEPR leptin reseptor, POMC pro-opiomelanocortin; PCI prohormonconvertase; MC4-R melanocortin-4receptor, ACTH adrenocorticotropik hormone; α=MSHα-melanocortin-4 reseptor;

Terapi leptin akan efektif pada pasien yang terdapat mutasi pada gen leptin. Leptin, adipositokin yang disekresi oleh adiposit, pada keadaan obesitas telah terjadi akumulasi kadar leptin dalam darah manusia. Leptin ini juga diketahui sebagai proinflamasi sehingga dapat menyebabkan inflamasi dan menstimulasi terjadinya penyakit kardiovaskuler seperti aterosklerosis (Almazini, 2011).

Yasko (2004), seorang ahli biologi molecular telah sukses besar dalam menerapkan terapi nutrigenomik berbasis RNA untuk mengobati autisme. Ia telah menemukan bahwa toksin dari lingkungan, toksisitas logam berat, infeksi virus kronik, radang dan defisiensi genetik sebagai penyebab utama autisme. Dia telah berhasil menyembuhkan banyak anak autism dengan suplemen gizi berbasis RNA sehingga diberi nama terapi nutrigenomik berbasis RNA (Judarwanto, 2016).

Tahap-tahap terapi autisme meliputi pemetaan genetik untuk menentukan program nutrisi, program pembersihan usus besar, detoksifikasi logam berat, pembuangan toksin lingkungan, menghambat inflamasi, dan memanfaatkan dukungan nutrisi berbasis RNA untuk mengkoreksi mutasi genetik dan memperbaiki tautan genetik yang lemah. Memperbaiki defek DNA yang spesifik adalah target utama

terapi gen tetapi ini tidak dipakai dalam aplikasi klinik. Lebih masuk akal dan lebih mudah untuk mengkoreksi masalah pada tingkat RNA. Mengkoreksi seluruh defek DNA tidak praktis secara klinik. Namun, memberikan pengganti nukleotida RNA spesifik untuk memperbaiki defek cetakan asli DNA dapat dilakukan oleh terapi berbasis RNA (Judarwanto, 2016).

Galaktosemia pertama kali ditemukan tahun 1917 oleh F Goppart, adalah varian genetik di mana individu sejak lahir tidak memiliki kemampuan memetabolisme galaktosa (tidak memiliki aktivitas enzim galaktosa-1-phosphat uridyl tranferase). Sebagai akibatnya pada individu ini jika mengonsumi makanan yang mengandung galaktosa akan terjadi akumulasi galaktosa dalam darahnya yang berimplikasi munculya berbagai gangguan kesehatan, termasuk gangguan pertumbuhan mental (Raharja, 2006)

Phenylketonuria ditemukan tahun 1934 oleh Asbjorn Folling, adalah varian genetik pada individu yang menyebabkan tidak adanya aktivitas enzim phenilalanin hidroksilase. Sebagai akibatnya pada individu ini jika mengonsumsi makanan yang mengandung phenilalanin akan terjadi akumulasi phenilalanin dalam darahnya yang bisa berakibat terjadinya kerusakan neurologis. Namun, adanya

kedua varian tersebut sudah bisa diketahui sejak dini setelah lahir dan ditangani dengan mengelola makanannya agar rendah galaktosa atau rendah phenilalanin (Raharja, 2006).

Rheumatoid arthritis (RA) atau adalah penyakit keturunan, yang diinisiasi oleh sel-sel CD4+. Menurut Fatchiyah, 2016, individu yang memiliki keturunan penyakit rheumatic disarankan untuk mengonsumsi susu kambing peranakan etawa. Karena protein susu di dalam susu kambing etawa mampu menjadi daya imun bagi kerusakan tulang Pola konsumsi nutrisi yang salah berdampak pada ketidak nampaknya jenis kelamin bayi. Di RSSA Malang, dicatat dari 3500 kelahiran ada 35 bayi yang tidak kelihatan jenis kelaminnya, itu karena kesalahan pola nutrisi. Profil genetik juga penting dilakukan bagi wanita hamil. Untuk itu bagi ibu hamil harus segera mungkin memeriksakan kromosom sejak kehamilan masuk empat bulan. Berdasarkan hasil scan kromosom itu, maka jenis kelamin bayi akan diketahui. Setelah jenis kelamin diketahui, maka pola nutrisi dapat diatur dan sebaiknya tetap berpedoman pada empat sehat lima sempurna. Begitu pula bagi ibu calon bayi yang memiliki garis keturuan penyakit diabetes harus mulai mengurangi konsumsi gula,

mengganti gula dengan madu untuk menghindari penyakit diabetes ibu membahayakan bayi (Fatchiyah, 2016)

7.3 Epigenetika

Epigenetika adalah ilmu yang mempelajari tentang perubahan fenotipe atau ekspresi genetika yang disebabkan oleh faktor non genetika tetapi tidak ada perubahan pada sekuens DNA dasar. Contoh terbaik perubahan epigenetika pada eukariotik adalah proses diferensiasi sel. Selama morfogenesis, sel induk totipoten berubah menjadi bermacam-macam sel pluripoten pada embrio yang kemudian akan berubah menjadi sel yang berdiferensiasi secara penuh. Dengan kata lain, zigot, sebuah sel telur yang telah dibuahi, berubah menjadi berbagai jenis sel, seperti neuron (sel saraf), sel otot, epitel, pembuluh darah dan sebagainya, yang kemudian akan terus membelah. Hal ini terjadi di mana pengaktifan beberapa gen dapat mengakibatkan peredaman gen lainnya. Contoh lainnya adalah seperti dua tikus hasil kloning dengan gen yang sama dan status metilasi DNA yang berbeda menghasilkan ekspresi genetika yang berbeda.

Tujuan utama pemahaman nutrigenetik adalah pemberian gizi sehari hari harus sesuai dengan variasi genetik yang mempengaruhi cara pencernaan dan metabolisme nutrisi

yang dipengaruhi dengan diet. Epigenetik gizi menyangkut pengetahuan tentang efek nutrisi pada ekspresi gen. Gizi pada awal kehidupan atau dalam periode perkembangan kritis, mungkin memiliki peran dalam modulasi ekspresi gen, dan memiliki efek kesehatan di kemudian hari.

Nutrisi tidak harus dianggap hanya sebagai sumber energi atau sebagai faktor yang terlibat dalam pengembangan organisme. Penelitian biologi molekuler telah menunjukkan bahwa nutrisi, baik secara langsung atau dengan aktivitas hormonal, dapat secara signifikan mempengaruhi ekspresi gen. Melalui nutrigenomik dimungkinkan untuk mengidentifikasi mekanisme yang menggarisbawahi variasi individu dalam persyaratan makanan, serta kapasitas untuk menanggapi intervensi berbasis pangan. Dengan cara ini nutrigenomik mungkin dapat memberikan rekomendasi nutrisi pribadi dalam rangka meningkatkan pencegahan dan terapi patologi di mana masing-masing individi berbeda. Penelitian, yang bertujuan untuk menganalisis pengaruh nutrisi pada kesehatan melalui nutrigenomik, menemukan dasar bahwa diet mengubah ekspresi gen (epigenetik gizi) (Judarmanto, 2016).

Proses metabolisme nutrisi sangat bervariasi dan dapat mempengaruhi keadaan kesehatan tergantung pada genotipe

individu (nutrigenetik). Nutrigenetik, cabang fundamental nutrigenomik, memiliki tujuan untuk mengidentifikasi variasi genetik yang mempengaruhi cara pencernaan dan metabolisme molekul yang berkaitan dengan pemberian diet.

Analisis Single Nukleotida Polimotfisme (SNP) telah mengidentifikasi variasi genetik terkait dengan risiko masing-masing individu. SNP, satu perbedaan pasangan basa dalam urutan DNA, merupakan bentuk utama dari variasi genetik manusia. Adanya perbedaan materi genetik karena nukleotida tunggal mungkin menjelaskan tidak hanya timbulnya kondisi patologis tertentu, tetapi juga respon yang berbeda untuk nutrisi / makanan dalam diet.

Penerapan konsep nutrigenetik menyangkut hubungan antara apolipoprotein E polimorfisme gen dan diet. Subyek dengan promotor gen apoE (-219G/T) polimorfisme menunjukkan tingkat kolesterol LDL dan apoB konsentrasi plasma setelah mengkonsumsi diet kaya asam lemak jenuh. Polimorfosme 219G / T sebagian dapat menjelaskan perbedaan individu dalam reapon terhadap diet sehingga kemungkinan dapat melakukan pencegahan hiperkolesterolemia dan komplikasinya mengkonsumsi asam lemak jenuh pola makan yang buruk pada individu dengan genotipe tertentu.

Penelitian menunjukkan bahwa genom mungkin dapat mempengaruhi gizi, nutrisi mungkin dapat mengatur ekspresi gen. Gen dan nutrisi tampaknya mungkin berada dalam hubungan timbal balik. Epigenetik berarti di atas genetika dan mengacu pada proses yang menyebabkan perubahan dalam ekspresi gen yang diwariskan tanpa mengubah urutan gen. Proses epigenetik merupakan bagian integral dalam menentukan kapan dan di mana gen spesifik disajikan. Perubahan dalam regulasi epigenetik gen dapat menyebabkan perubahan besar di fenotipe. Proses epigenetik utama meliputi metilasi DNA, modifikasi histon, kromatin renovasi dan microRNAs.

Sampai saat ini, kebanyakan studi tentang pengaruh gizi awal kehidupan pada pola epigenetik gen telah difokuskan pada metilaai DNA. Metilasi posisi 5 ‘dari sitosin dalam genom terjadi dengan famili enzimatik methyltransferases DNA membentuk 5-methylcytosine (5-mC), yang hadir di sekitar 4% -6% dari basis sitosin dalam genom manusia. Sebagian besar metilasi DNA terjadi dalam dinukleotida CpG, meskipun metilasi di luar konteks CpG telah dilaporkan dalam DNA manusia dalam beberapa tahun terakhir. Genom manusia mengandung sekitar 30 juta dinukleotida CpG yang ada dalam

bentuk methyl atau unmethylated. Nukleotida CpG disebut pulau CpG dan terjadi di seluruh genom. Metilasi CpG pulau yang terletak di daerah promotor gen biasanya berbanding terbalik dengan transkripsi gen yang karena pengikatan metil-CpG mengikat protein, yang merekrut protein untuk promotor dari gen, sehingga menghalangi transkripsi.

Epigenetik adalah variasi antar-individu dalam pola metilasi DNA dan kromatin renovasi, memberikan penjelasan potensial untuk bagaimana faktor lingkungan misalnya, komponen bioaktif makanan, nutrisi, diet tertentu dapat memodifikasi risiko terjadinya penyakit umum tertentu. Usia, genetika, dan lingkungan dapat bersama-sama berinteraksi untuk mempengaruhi regulasi epigenetik. Epigenetik penentu dapat mengganggu setiap saat selama kehidupan individu. Beberapa studi telah menunjukkan bahwa lingkungan dan gizi, pada tahap awal atau pada periode kritis perkembangan, dapat mempengaruhi ekspresi gen dengan efek jangka pendek dan jangka panjang pada setiap organisme.

Data yang diperoleh dari model hewan menunjukkan bahwa kekurangan gizi ibu selama kehamilan menyebabkan retardasi pertumbuhan tetapi juga di modifikasi dari ekspresi mekanisme biokimia terkait dengan endokrinologis dan kontrol

metabolis. Faktor keturunan ibu dalam diet protein dibatasi, mulai dari konsepsi selama kehamilan, menyajikan fenotipe yang dapat merubah fungsi metabolik dapat menunjukkan sejumlah fitur penyakit cardio-metabolik manusia, termasuk hipertensi, peningkatan penumpukan lemak, gangguan homeostasis glukosa, dislipidemia dan disfungsi vaskular.

Sebuah protein yang rendah diet pada induk babi mempengaruhi metilasi DNA global dalam keturunan yang baru lahir melalui perubahan ekspresi methyltransferase DNA (Dnmt1, Dnmt2 dan Dnmt3) baik dalam hati dan otot rangka. Beberapa penelitian, berfokus pada individu terkena bencana kelaparan di dalam rahim yang terjadi di Belanda selama musim dingin tahun 1944, dilaporkan bahwa individu yang ibunya terkena kelaparan periconceptually pada trimester pertama kehamilan menunjukkan berat badan lahir rendah dibandingkan dengan individu yang tidak terpapar dan sebagai orang dewasa, menunjukkan peningkatan risiko obesitas dan penyakit kardiovaskular (Judarmanto, 2016).

Selain itu nutrisi dalam kehidupan postnatal awal dapat mempengaruhi kerentanan terhadap obesitas di masa depan. Mengejar pertumbuhan pada bayi yang lahir prematur, yang juga memiliki massa lemak berkurang saat lahir, dan yang

memberi susu formula menunjukkan peningkatan risiko penyakit kardio-metabolik di kemudian hari, termasuk obesitas (Judarmanto, 2016).

ASI merupakan nutrisi yang sangat penting bagi kesehatan bayi, karena kemampuannya dalam mencegah beberapa penyakit akut dan kronis. Bayi-bayi yang diberi ASI ditemukan memiliki risiko lebih rendah mengalami *neonatal necrotizing enterocolitis* (NEC), penyakit menular, dan juga penyakit tidak menular, seperti obesitas dan gangguan terkait lainnya.

NEC adalah gangguan inflamasi usus yang parah. Telah dilaporkan dalam beberapa penelitian bahwa kejadian NEC lebih tinggi pada bayi diberi susu formula dari pada bayi ASI. Salah satu faktor penyebab mengapa NEC pada bayi yang diberi ASI lebih ringan adalah meningkatnya produksi dari sekretori IgA (sIgA) yang memberikan perlindungan terhadap serangan organisme patogen. Produksi IgA seringkali produksinya berkurang pada neonatus prematur sehingga dapat memfasilitasi translokasi bakteri di mukosa usus. Selain itu, ASI memberikan banyak protein dengan sifat anti-inflamasi, baik menurut in vitro dan in vivo, seperti sitokin anti-inflamasi (misalnya, TGF β, mengubah faktor pertumbuhan beta). ASI

memiliki persentase besar *undigestible* oligosakarida (8% dari total kalori), yang berfungsi sebagai prebiotik, menyediakan substrat untuk produksi asam lemak rantai pendek, yang mengarah ke proliferasi bakteri mempromosikan kesehatan, seperti *Bifidobacteria* dan *Lactobacillus*. Terdapat hubungan antara tingkat sekretori IgA dalam sekresi usus dengan jumlah *Bifidobacteria* dalam usus pada usia satu bulan. Sehingga ASI mungkin memiliki peran penting dalam mencegah NEC dengan ekskresi sIgA melalui pengaruh pada komposisi usus mikrobiota. Selain itu, bakteri komensal dapat mengatur ekspresi gen penting untuk fungsi penghalang, pencernaan, dan angiogenesis (Judarmanto, 2016).

BAB 7
BIOTEKNOLOGI PERIKANAN DAN KELAUTAN

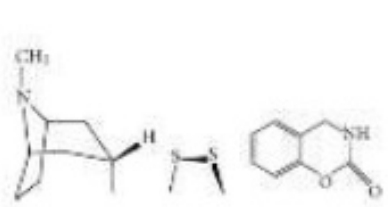
Setelah membaca Bab 7 ini diharapakan pembaca dapat mengetahui tentang ruang lingkup bioteknologi hasil perikanan dan kelautan, bioaktif bahan alamiah produk perikanan, bioteknologi pengolahan dan biteknologi pengemasan dengan bahan alamiah.

7.1 Bioaktif Hasil Perikanan Dan Kelautan

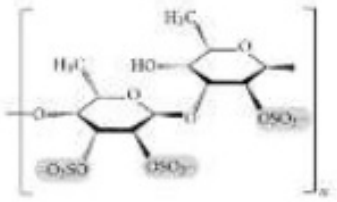
Produk perikanan sekarang banyak diteliti mengandung senyawa bioaktif yang sangat bermanfaat untuk kesehatan dan pangan dan obat-obatan. Poduk perikanaan terdiri dari ikan, algae, mangrove, invertebrate laut, dan mikroalgae merupakan sumber senyawa bioaktif yang tinggi, seperti: polifenol, karotenoid, protein, asam lemak esensial, serat makanan, vitamin dan mineral.

Berdasarkan banyak penelitian produk-produk perikanan telah lama digunakan sebagai obat tradisional sebagai antioksidan anti kolesterol, anti peradangan, antidiabetes, anti obesitas dan antikanker. Saat ini produk hasil laut sudah dimanfaatkan dalam industri farmasi untuk pencegahan dan pengobatan penyakit tertentu serta banyak yang sudah dimasukkan dalam komposisi makanan atau minuman

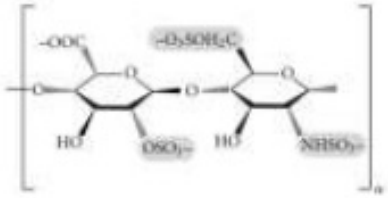
obat dan obat antikanker. Beberapa senyawa kimia antikanker flora laut dapat dilihat pada Gambar 28.



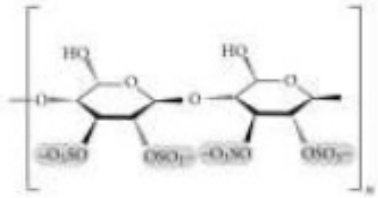
Brugine Benzoxazolinone



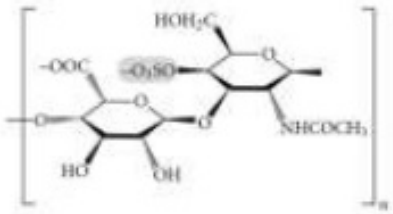
Fucoidan



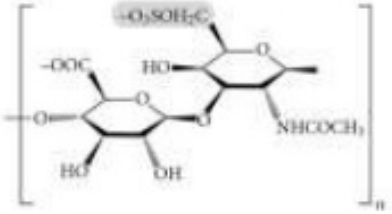
Heparin/Heparan



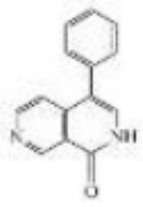
Pentosan polisulphate

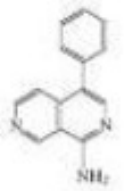


Chondroitin 4 sulphate

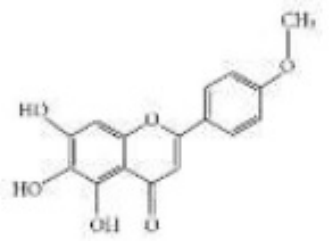


Chondroitin 6 sulphate

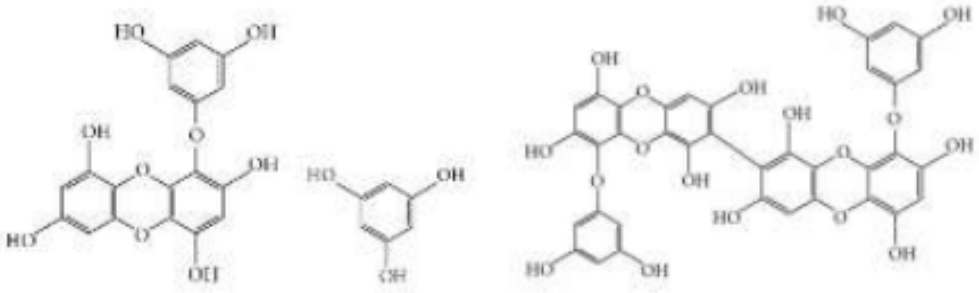




LO A LO B



Flavonoid



Phloroglucinal Ecol 8,8′-Biecol

Gambar 28. Beberapa Senyawa antikanker flora Laut (Boopathy and Kathiresan, 2010).

1. Ikan

Kebutuhan akan minyak ikan saat ini meningkat pesat sebagai sumber utama omega-3 PUFA (omega-3 polyunsaturated fatty acid) (n-3 PUFA) yang digunakan untuk makanan manusia, nutaceutical dan pharmaceutical. n-3 PUFA terdiri dari asam alpha-linolenat (ALA C18:3) dan metabolit rantai panjangnya, yaitu asam eicosapentaenoat (EPA C20:5) dan asam docosahexaenoat (DHA C22:6). EPA dan DHA bermanfaat bagi kesehatan terutama didalam pencegahan penyakit kardiovaskuler, lipotoksisitas, kanker payudara manusia, penyakit peradangan, asma dan penyakit Alzheimer (Martinez *et al.*, 2010).

Minyak hati ikan Cod menyediakan vitamin A, D dan E, dimana vitamin D dapat mencegah osteomalacia. Minyak hati

ikan cod ini mengandung yang berhubungan dengan osteoporosis. Minyak hati ikan cod mengandung asam eicosapentaenoat dan asam docosahexaenoat yang telah digunakan sebagai supplement untuk penderita penyakit kardivaskuler (Lentjes *et al*., 2014).

Kandungan lipida *Dasyatis pastinaca* (58.27%), *D. violacea* (57.33%) dan *Rhinoptera marginata* (10.90%). Kandungan mineral Kalium dan Natrium mempunyai nilai tertinggi pada *R. marginata* (rata-rata 153.7 dan 115.86 mg/100 g). Profil asam lemak menunjukkan dominasi asam lemak tak jenuh melebihi 65 % dari total asam lemak. C16:0, C18:0 and C14:0 yang adalah asam lemak utama. MUFA (Mono Unsaturated Fatty Acid) yang paling melimpah adalah C18:1 (10.88–21.98%) and C16:1 (4.47–23.95%). Profil omega-3 PUFA menunjukkan dominan adalah asam pentaenoat (3.36–5.51%) dan asam docosahexaenoat (9.07–30.50%). *D. pastinaca* mengandung karotenoid tinggi dan total phenolic dengan kemampuan meredam radikal bebas terkuat. Disarankan hati ikan yang sebenarnya adalah *waste product* dapat digunakan sebagai *raw material* baru untuk produksi minyak n-3 PUFA dan sebagai sumber karotenoid dan senyawa fenolik (Selami *et al*., 2014). Jeroan *Sardinella*

aurita, Sarpa salpa dan *Sepia officinalis* juga telah diteliti tinggi akan kandungan n-3 PUFAs, lebih besar 20% meliputi EPA and DHA sebagai komponen utama (Kacem *et al*., 2011).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kepala ikan Sunglir mengandung 84% asam lemak bebas + 0,85% asam linolenat (ALA), + 2,80% asam eikosatrienoat (ETA), + 0,73% asam eikosapentaenoat (EPA), dan + 2,41% asam dokosaheksaenoat (DHA). Bilangan penyabunan dan bilangan iod dari minyak kepala ikan adalah sebesar 248,24 mg KOH/g minyak dan 227,16 g Iod/100 g minyak. Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah soxhletasi dengan pelarut *n*-heksana, dilanjutkan dengan proses hidrolisis trigliserida. Selanjutnya untuk analisis dengan kromatografi gas digunakan asam lemak etil ester hasil esterifikasi enzimatik minyak ikan Sunglir (Handayani, 2013).

Ikan gabus *Ophiohepalus striatus)* memiliki kandungan nutrisi yang sangat baik untuk kesehatan, dengan kandungan protein yang tinggi terutama albumin. Ikan gabus memiliki semua asam amino esensial, sedangkan kelompok asam amino non esensial penting pada ikan gabus seperti asam glutamat (14.253%), arginin (8.675 %), dan asam aspartat (9.571%) relatif tinggi. Ketiga asam amino non esensial tersebut sangat

penting dalam membantu penyembuhan luka . Selain itu, secara klinis konsentrat protein ikan gabus dalam bentuk suplemen telah membantu mempercepat penyembuhan pasien pasca-operasi, luka bakar dan stroke. kapsul konsentrat ikan gabus selama 14 hari, sebesar 0.7 g/dl mempercepat penyembuhan luka operasi. Hal yang sama ditunjukkan pada pemberian kapsul ikan gabus pada pasien malnutrisi ODHA, terjadi peningkatan kadar albumin darah sebesar 0.6 g/dl. pemberian protein albumin ikan gabus selama 30 hari dapat meningkatkan kadar hemoglobin (Hb) lansia sebesar 0,373 g/dl. Dan dilaporkan bahwa pemberian kapsul ikan gabus selama 30 hari dapat meningkatkan kadar albumin, asupan energi, dan karbohidrat lansia masing-masing sebesar 1,79 mg/dl; 103,5 kal; dan 70,3 g (Asfar *dkk*, 2014).

2. Mikro algae

Lebih dari 50% mikroalga *cyanobacteria* laut potensil dieksploitasi untuk senyawa bioaktifnya yang efektif didalam membunuh sel-sel kanker. Ekstrak sel *Calothrix* menghambat pertumbuhan in vitro parasit malaria, *Plasmodium falciparum*, dan sel kanker HeLa manusia. Karakterisasi struktur *Calothrixin* A (I) and B (II) diperoleh metabolit sekundernya adalah indole [3, 2-j] phenanthridine alkaloids (Boopathy and Kathiresan, 2010).

Tetrasemis chuii adalah mikroalga laut dikenal sebagai phytoplankton. *T. chuii* mempunyai aktiftas fungsional sebagai

antibakteri. Ekstraksi menggunakan aseton dan kloroform) , identifikasi senyawa antibakteri menggunakan GC-MS, senyawa antibakteri dalam T.Chuii. adalah: asam tetradekanoad, neopytadiene, 9,17-Octadecadienal, (Z)-,1,13-Tetradecadiena, asam 1-docosene,9-Hexadekanoid, metal ester, (Z)-,Methyl palmitat, asam palmitoleat, asam palmitat, ethyl 9-hxadekanoat, isopropyl palmitat, Dioctyl aipat dan Bis (2-etilheksil). Proses ekstraksi m*icrowave assisted extracton,* adalah salah satu jenis ekstraksi yang mempuyai banyak keuntungan, seperti menggunakan pelarut yang sedikit, waktu ekstraksi singkat, jika dibandingkan dengan metoda ekstraksi konvensional dan hasil esktraksi yan lebih besar (Maligan *dkk*., 2016)

3. Invertebrata

33

Teripang adalah salah satu biota laut Indonesia yang sangat prospektif untuk dikembangkan sebagai makanan obat. Ekstrak dari hewan ini secara luas digunakan sebagai komposisi didalam obat tradisional. Berdasarkan beberapa hasil penelitian teripang laut ini mengandung senyawa antioksidan, antimikroba dan anti kanker. Senyawa metabolisme sekunder yang ada dalam ekstrak teripang meliputi fenolik, glikosida terpen, saponin asam lemak dan

sitotoksin. dimana senyawa-senyawa ini empunyai aktifitas biofungsional. Dari 14 spesies teripang berdasarkan hasil ekstraksi dengan etanol menunjukkan bahwa *Holothuria sp* mempunyai aktifitas sitotoksik paling tinggi. Berdasarkan hasil isolasi dengan teknik kromatografi flash dan preparasi fase terbalik (C18) dan elusidasi struktur yang menggunakan teknik spektroskopi NMR (*Nuclear Magnetic Resonance*) dan GC (Gas Chromatography-Flame Ionisation Detector) ditemukan bahwa komponen paling aktif pada ekstrak *Holothuria sp* adalah asam lemak stearat. Uji sitotoksisitas dari fraksi-fraksi yang dihasilkan dari fraksi-fraksi proses kromatografi terhadap sel lestari tumor MCF-7. menunjukkan bahwa persen penghambatan senyawa asam lemak stearat ini terhadap pertumbuhan sel lestari MCF-7 sebesar IC_{50} 10.32 ppm (Januar et al., 2014).

7.2. Bioteknologi Pengolahan Pangan

Bioteknologi pangan didefinisikan sebagai aplikasi teknik biologis untuk hasil tanaman pangan, hewan dan mikroorganisme dengan tujuan meningkatkan sifat, kualitas, keamanan, dan kemudahan dalam pemrosesan dan produksi makanan. Hal ini termasuk proses produksi makanan

tradisional seperti roti, asinan/ acar, dan keju yang memanfaatkan teknologi fermentas. Aplikasi bioteknologi untuk makanan yang lebih modern adalah *Genetic Modification* (GM) yang diketahui sebagai teknik rekayasa genetik, manipulasi genetik dan teknologi gen atau teknologi rekombinan DNA.

Bioteknologi tanaman pangan melibatkan penggunaan mikroba atau bahan biologi untuk melakukan proses spesifik pada tanaman untuk kepentingan manusia. Hal ini dilakukan dengan menciptakan species tanaman yang metabolismenya disesuaikan untuk menyediakan bahan baku sesuai dengan kualitas, fungsionalitas dan ketersediaannya. Akibatnya, banyak tanaman pangan yang secara genetik termodifikasi untuk berbagai tujuan. Banyak tanaman penting yang tumbuh dari benih hasil rekayasa genetik dengan kekebalan terhadap herbisida, virus, serangga dan penyakit. Bahan makanan dari tanaman rekayasa genetik (misalnya minyak, tepung, sirup, pewarna) telah digunakan di berbagai industri pangan (Bio, 1998). Lebih dari setengah makanan olahan di Amerika Serikat telah mengandung bahan hasil rekayasa genetik seperti bioteknologi pangan tradisional.

Proses fermentasi adalah proses tradisional untuk meningkatkan daya simpan hasil pertanian seperti susu, sayuran, dan daging. lebih banyak orang dan perusahaan makanan tertarik pada makanan alami dan tradisional. Industri makanan dan minuman terus mengalami inovasi untuk memenuhi daya tahan dan kealamiannya. Fermentasi membawa rasa yang unik dan bermanfaat bagi konsumen. Fermentasi adalah cara tradisional yang dapat dikembangkan menjadi proses yang lebih besar, seperti produksi kefir (Dobson *et al*., 2011). Kefir adalah minuman tradisional cair terfementasi mengggunakan campuran bakteriasam laktat, yeast, dan jamur untuk fermentasi susu. (Guzel-Seydim *et al*., 2011). Sekarang ini, perusahaan susu meng-*upscale* proses ini dalam skala industri menggunakan kultur starter aktif dan stabil. Fermentasi harus menggunakan control dengan kultur starter yang terstandardisasi dan kondisi fermentasi yang sama (temperatur rendah).

Proses fermentasi diakui dapat meningkatkan tingkat vitamin pada makanan dan minuman. Pada aplikasi produk peternakan yang mengalami peningkatan secara alami antara lain riboflavin, folat, vitamin B, vitamin K2 dan vitamin lainnya. Beberapa proses fermentasi terbaru menunjukkan

peningkatan vitamin karena menggunaan bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum*, ini dapat ditemukan pada hasil pertanian termasuk produk hewan. *Lactobacillus plantarum* dapat menghasilkan folat. Fermentasi melon menggunakan bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus reuteri* menunjukkan produksi folat yang lebih tinggi dibandingkan dengan substrat alami lain.

Fermentasi dapat mencegah obesitas, dimana fermentasi akan mengurangi kalori dengan mengkonversi gula menjadi asam organik atau etanol, meskipun maksimum kalori yang dapat dikurangi tidak lebih dari 25%. Makanan dan minuman non alkohol terfermentasi biasanya masih mengandung banyak residu gula dan beberapa asam amino, vitamin, dan mineral yang dapat menjadi tempat pertumbuhan mikroorganisme. bakteri asam laktat yang dapat memproduksi komponen antifungal. Beberapa komponen antifungal seperti 3- fenil laktat. Produsen anti fungal dapat digunakan untuk memperpanjang daya simpan buah segar seperti anggur dan pir.

Kecap ikan selama ini dilakukan secara tradisional. Pembuatan kecap ikan secara tradisional tersebut relatif memerlukan waktu yang panjang. Selain cara tradisional yang

hanya menggunakan ikan dan garam, pembuatan kecap ikan dapat pula digunakan enzim. Rekayasa penambahan enzim proteolitik sebelum fermentasi dapat mempersingkat waktu pembuatan kecap ikan. Dalam hal ini tidak diperlukan lagi waktu adaptasi mikroorganisme untuk menghasilkan enzim yang dapat menghidrolisis protein. Enzim proteolitik diantaranya terdapat dalam getah papaya (disebut enzim papain) dan kulit nanas (enzim bromelin). Papain murni dengan kadar 0,2% b/b pada suhu 55 °C dapat menghidrolisis sebanyak 80% protein ikan menjadi N terlarut dalam waktu 4 jam, sedang bromelin hanya 71,5%. Namun demikian, penggunaan enzim ini tidak mendukung pembentukan rasa dan aroma, oleh sebab itu, jika akan digunakan enzim papain harus ditambahkan bumbu-bumbu pembentuk rasa dan aroma.

Transglutaminase adalah enzim yang pemanfaatannya sangat luas baik dari segi ilmiah maupun untuk aplikasi pada bahan pangan. Sejak ditemukannya enzim ini yang berasal dari mikroorganisme yaitu *Streptomyces mobaraensis* maka produduksi enzim ini mendapat perhatian yang besar. Transglutaminase adalah kelompok enzim yang mengkatalisis substitusi amoniak amide dengan amin lainnya pada posisi y pada residu glutamin, normalnya sebuag golongan amin dari sebuah residu lysin yang cocok. Penstabilan dari 1-(y-glutamyl) ikatan isopeptida lysin menghasilkan baik ikatan silang intra atau inter protein, yang menyebabkan polimerisasi.

Saat ini transglutamin mikroba telah digunakan untuk prosesing bahan makanan, yang menunjukkan perbaikan dalam flavor, penampakan dan tekstur dari berbagai makanan berprotein. MTGase telah berhasil digunakan dalam surimi untuk memperkuat gel, meningkatkan tingkat kekerasan, kemampuan mengikat air dari daging *common carp*. Transglutaminase aktif pada pH optimum 6 - 7, suhu 50 -55^{0}C (stabil 0 - 60^{0}C) inaktif diatas 60^{0}C dengan durasi inaktif tergantung pada type bahan pangan

Alginat yang diekstraksi dari rumput laut dapat menurunkan kadar logam berat dalam bahan pangan, seperti pada kerang hijau. Kerang hijau merupakan salah satu hasil laut yang banyak dikonsumsi masyarakat dan memiliki sifat menetap (*filter feeders*). Cara hidup dari kerang hijau yang menetap menyebabkan banyaknya kandungan logam berat yang terdapat dalam tubuhnya. Kadmium (Cd) adalah salah satu jenis logam berat yang berbahaya karena elemen ini beresiko tinggi terhadap pembuluh darah. Apabila Cd masuk ke dalam tubuh maka sebagian besar akan terkumpul di dalam ginjal, hati dan sebagian yang dikeluarkan lewat saluran pencernaan. Cd dapat mempengaruhi otot polos pembuluh darah secara langsung maupun tidak langsung lewat ginjal, akibatnya terjadi kenaikan tekanan darah. Perendam dengan larutan alginat 4% selama 30 menit penurunan kadar cadmium sebesar 65,26%. Sedangkan perendam dengan larutan alginat 4% selama 15 menit yaitu 0,309 ppm, penurunannya sebesar (23,32%) (Chotimah *dkk*, 2016).

Pemanfaatan karagenen sebagai bahan dasar coating dengan ZnONPs sebagai filler untuk menjaga kwalitas buah . ZnO NPs (0.5% dan 1% w/w karagenan) yang dicampur kedalam polimer karagenan untuk menghasilkan larutan nanokomposit karagenan menyimpulkan bahwa pemberian 0.5% ZnO NPs menghasilkan penambahan kekuatan tarikan film nanokomposit sampai 43%, tingkat transmisi uap air menurun dari 65%.88 – 59.9 g/m^2 h (1% penambahan ZnO NPs. 1% nano ZnO NPs adalah formula nano komposit coating paling efektif dalam memperlambat kehilangan berat, total aktifitas, produksi CO2 mangga serta memperlambat pembusukan disebabkan oleh anthracnose dan penyakit akar dan batang dan menghambat aktifitas mikroba melawan E.coli (Suyatma *dkk,* 2016).

Salah satu menghambat kemunduran ikan menggunakan perhambat enzim proteolitik alami yang dapat berasal dari kulit ikan patin. Katepsin merupakan enzim yang paling bertanggung jawab dalam kemuduran ikan. Katepsin ditemukan dalam lisosom serat daging dan dan sel fagosit. Lisosom merupakan organel intraselular yang banyak mengandung enzim hidrolitik dan berperan dalam pencernaan dalam sel. Beberapa jenis katepsin yang telah diidentifikasi berdasarkan pola kandungan asam amino yang berbeda disisi aktifnya. Katepsin B dan katepsin L merupakan protease sistein yang paling peting dalam kemunduran tekstur daging, dengan aktifitas optimum 40-50°C dan pH optimum pH 3 -4.

Mengingat pentingnya peranan serat untuk membantu menjalankan diet bagi penderita obesitas dan memperlancar pencernaan, maka penggunaan rumput laut sebagai sumber serat dalam minuman pelangsing merupakan salah satu alternatif yang dilakukan dalam upaya memenuhi kebutuhan tubuh akan serat. Rumput laut telah telah banyak diolah menjadi minuman, tetapi hasil olahannya mempunyai rasa dan aroma yang masih kurang disenangi. Pengolahan minuman rumput laut merah *Euchema cootonii* dan *Halimenia durvilae* dengan mencampurnya dengan buah nenas dan jeruk menghasilkan produk minuman yang digemari karena mempunyai citarasa yang disukai. Disamping itu minuman dari *H.durvilae* mempunyai pigmen phycobiliprotein (merah muda) alamiah yang menarik (Rarung *dkk*., 2017; Sanger *et al*., 2017).

7.4 Bioteknologi pengemas bahan Alami.

Pengemas pangan berupa *edible film* dapat dibuat dari ekstraksi bahan alami kulit ikan dan rumput laut. Selain berfungsi sebagai pengemas, penggunaan bahan alami memberikan nilai yang bermanfaat bagi kesehatan karena mempunyai aktifitas biofungsional. Pengemas dapat juga dibuat melalui bioproses dengan penambahan enzim dan zat kimia tertentu.

Plastik merupakan pengemas makanan yang berpotensi menyebabkan keracunan bila digunakan pada makanan, sehingga diperlukan bahan kemasan berupa *edible film* yang aman apabila dikonsumsi oleh manusia. *Edible film* terbuat dari protein

mempunyai sifat hidrofilik sehingga dapat menyerap sejumlah air pada Rh tinggi. Penggunaan *transglutaminase* membantu memperbaiki kualitas *edible film*. *Transglutaminase* adalah enzim yang mengkatalisa pembentukan ikatan silang antar molekul protein. Pembentukan polimer antar molekul memiliki sifat fungsional yang berbeda dari protein aslinya. Perubahan sifat fungsional tersebut dapat memperbaiki sifat *edible film*. Dengan adanya ikatan silang tersebut akan membuat pori-pori film dari protein semakin kecil. Sehingga daya serap uap air akan semakin rendah. Selain itu *transglutaminase* menjadikan polimerisasi intramolekuler yang kuat dari gelatin sehingga mempengaruhi nilai kekuatan tarik dan persen pemanjangan.

Pembuatan *edible film* gelatin kulit ikan kakap putih dengan penambahan *transglutaminase* mengacu pada metode Piotrowsska (2008) dengan modifikasi, gelatin kulit ikan (5% w/v) dilarutkan dalam aquades yang mengandung 0,75% gliserol. *Edible film* dibentuk dengan penambahan *transglutaminase* (0,2%; 0,4%; 0,6%). Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan *transglutaminase* dapat menurunkan permeabilitas uap air 0,775 -1,13 (g.m-1.s-1.pa-1) dan kadar air 13,45 - 15,26 (%) serta meningkatkan ketebalan ketebalan (0,081 – 0,107 mm), kekuatan tarik 5,18 – 39,71 (MPa) dan persen pemanjangan 14,13 – 79,67 (%). Penelitian menunjukkan bahwa penambahan *transglutaminase* dibandingkan tanpa penambahan *transglutaminase* dapat merubah nilai permeabilitas uap

air 0,775 -1,13 (g.m-1.s-1.pa-1), kadar air 13,45 - 15,26 (%), ketebalan 0,081 – 0,107 (mm), persen pemanjangan 14,13 – 79,67 (%), kekuatan tarik 5,18 – 39,71 (MPa).

Salah satu komponen penyusun *edible film* adalah berasal gabungan dari lipida dan komponen hidrokoloid atau sering disebut dengan komposit. *Edible film* komposit dapat dibuat dari ekstraksi rumput laut (*Eucheumma cottoni)* yaitu *semirefined* karaginan dan golongan lipida yang digunakan adalah *beeswax*. Pada umumnya *edible film* yang terbuat dari hidrokoloid mempunyai sifat mekanis yang baik namun kurang efisien dalam menahan uap air karena sifatnya yang hidrofil. Penambahan lipida berfungsi untuk mengurangi penyerapan terhadap uap air.

Pembuatan *edible film* hidrokoloid (*semirefined* karaginan) memerlukan bahan *plasticizer* untuk mengatasi sifat rapuh pada *edilbe film*. Bahan *plasticizer* merupakan bahan *non volatile* yang apabila ditambahkan kedalam bahan lain akan merubah sifat fisik atau sifat mekanik dari bahan tersebut. Gliserol merupakan salah satu jenis *plasticizer* yang dapat digunakan dalam *edible film*. Park (1996), menyatakan bahwa *film* yang terbuat khususnya kappa karaginan mempunyai sifat *film* yang sangat baik namun tidak baik sebagai penahan uap air dan sifatnya rapuh. Pembuatan edible film dengan menggunakan *semi refined* karagenan (0,8%), *beeswax* (0,3%) *dan gliserol*. Berdasarkan pengujian kriteria mutu menunjukkan bahwa: persen pemanjangan 63,039 %, uji kuat tarik

8,360 N/mm2, uji kadar air 15,68% dan uji kelarutan 71,977% (Harumarani dkk, 2016).

Edible film yang dibuat dari *refined carageenan* mempunyai karakteristik yang rapuh. Oleh karena itu, ditambahkan minyak atsiri Lengkuas merah (*A. purpurata*) untuk memperbaiki karakteristik dari *refined carrageenan,* minyak atsiri Lengkuas merah (*A. purpurata*) juga sebagai antibakteri alami. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi berbeda nyata (p <0,05) terhadap uji kuat tarik, laju transmisi uap air, uji antibakteri tetapi tidak untuk uji persen pemanjangan. *Edible film refined carageenan* dengan perbedaan konsentrasi minyak atsiri terbaik pada konsentrasi 1% dengan kriteria mutu : Uji kuat tarik 28,39 MPa, uji laju trasmisi uap air 3,71 g/(m2.24Jam), persen pemanjangan 13,95%. Penambahan minyak atsiri 0,1% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Bahan tambahan yang digunakan dalam pembuatan *Edible film* yaitu *gliserol* dan minyak atsiri dari lengkuas merah (*A. purpurata).* Penambahan *gliserol* akan menghasilkan film yang fleksibel dan halus. Sedangkan minyak atsiri dari lengkuas merah (*A. purpurata)* adalah minyak volatil hasil metabolisme sekunder tumbuhan. yang diperoleh dari seluruh bagian tumbuhan. Minyak atsiri mengandung campuran berbagai senyawa yaitu terpen, alkohol, aseton, fenol, asam aldehid dan ester. Minyak atsiri pada lengkuas mengandung senyawa antibakteri yang tinggi. Senyawa yang berperan sebagai antibakteri adalah sineol dan dodekatriena.

BAB 8.
BIOTEKNOLOGI RUMPUT LAUT

Setelah membaca Bab 8 ini diharapkan pembaca dapat mengetahui tentang senyawa bioaktif rumput laut, ekstraksi senyawa bioaktif, aktifitas biofungsional rumput laut yang terdiri dari antioksidan, antikanker, antidiabetes dan antimikroba

8.1. Biofungsional rumput laut

Rumput laut atau alga laut merupakan salah satu sumber daya laut yang potensil, karena pemanfaatannya yang sangat luas dalam kehidupan sehari-hari sebagai sumber pangan, kesehatan, obat-obatan dan bahan baku industry. Kira-kira 6000 spesies alga laut telah diidentifikasi dan diklasifikasi kedalam 3 golongan, yaitu: alga hijau (*Chlorophyceae*), alga coklat (*Phaeophyceae)* dan alga merah (*Rhodophyceae*) (Devi *et al*., 2011, Chandini *et al*., 2008). Alga laut dilaporkan memiliki kurang lebih 2400 komponen alami yang potensil bermanfaat dalam industry pharmaceutikal, biomedikal dan nutraceutikal.

Menurut Kim *et al*., (2006), rumput laut merupakan sumber senyawa bioaktif yang tinggi, seperti: karotenoid,

protein, asam lemak esensial, serat makanan, polisakarida sulfat, vitamin dan mineral. Rumput Laut mempunyai aktifitas antioksidan, anti peradangan anti kanker dan anti diabetes, antiobesitas dan lain-lain. Senyawa flavonoid dan polifenolat bersifat antioksidan, antidiabetik, antikanker, antiseptik, dan anti inflamasi, sedangkan senyawa alkoloid mempunyai sifat antineoplastik yang juga ampuh menghambat pertumbuhan sel-sel kanker. Penduduk Asia Timur menggunakan sayuran alga laut secara teratur sejak dahulu kala, mengakibatkan insident penyakit kanker paru-paru yang rendah. Konsumsi serat dan antioksidan alamiah dapat mengurangi kematian akibat penyakit jantung koroner, diabetes dan kanker.

Ekstraksi senyawa biofungsional komponen bahan alamiah dapat menggunakan pelarut yang berbeda–beda tingkat polaritasnya. Ekstraksi padat cair paling banyak digunakan dalam usaha mengisolasi substansi berkhasiat yang terkandung didalam bahan alam. Sifat-sifat dari bahan alam tersebut merupakan faktor yang berperan sangat penting terhadap sempurna atau mudahnya ekstraksi dijalankan. Kesempurnaan suatu ekstraksi tergantung pada beberapa faktor seperti: pH, jenis pelarut, konsentrasi pelarut dan volume pelarut. Pada

umumnya dalam suatu ekstraksi digunakan beberapa macam pelarut.

8.1. Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menghambat oksidasi molekul lain. Mekanisme aktifitas antioksidan seperti penghambatan inisiasi rantai, dekomposisi perosida, pencegahan berlanjutnya abstraksi hidrogen, penangkapan radikal bebas, daya reduksi dan pengikatan katalis ion logam transisi. Tubuh tidak mempunyai sistem pertahanan antioksidatif yang berlebihan, sehingga jika terjadi paparan radikal bebas berlebihan tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Kekhawatiran terhadap efek samping antioksidan sintetik, maka antioksidan alami menjadi alternatif yang terpilih. Antioksidan alami mampu melindungi tubuh terhadap kerusakan yang disebabkan spesies oksigen reaktif, mampu menghambat penyakit degeneratif serta mampu menghambat peroksidasi lipid (Ganesan *et al*., 2008).

Yuan *et al*., (2005[b]) melaporkan bahwa alga laut mengandung senyawa antioksidan, seperti fukosantin dan astaxantin, pholorotannin, klorofil, fosfolipid, flavonoid, bromfenol dan polisakarida. Senyawa antioksidan aktif dari alga laut yang telah didentifikasi adalah phylopheophylin

didalam *Eisenia bucyclis*, phlorotannin didalam S*argassum kjellamanianum*, fucoxantin didalam *Hijikia fusiformis* (Ganesan *et al.,* 2008).

Alga laut menghasilkan polifenol untuk melindungi dirinya dari kondisi eksternal seperti stres dan herbifora. Fenolik mempunyai aktifitas antioksidan yang kuat, jenis-jenis senyawa fenolik adalah; flavonoid, isoflavon, asam sinamat, asam benzoat, quercetin dan lignan (Gupta dan Ghannan, 2011). Fukosantin terdapat pada alga laut coklat bermanfaat sebagai anti defisiensi retinol. Phlorotannin yang tedapat pada *Sargassum pallidum* dan *Fucus vesiculosus* bersifat sebagai anti peradangan, bakteriosidal, dan anti hipertensi (Cornich dan Garbary, 2010).

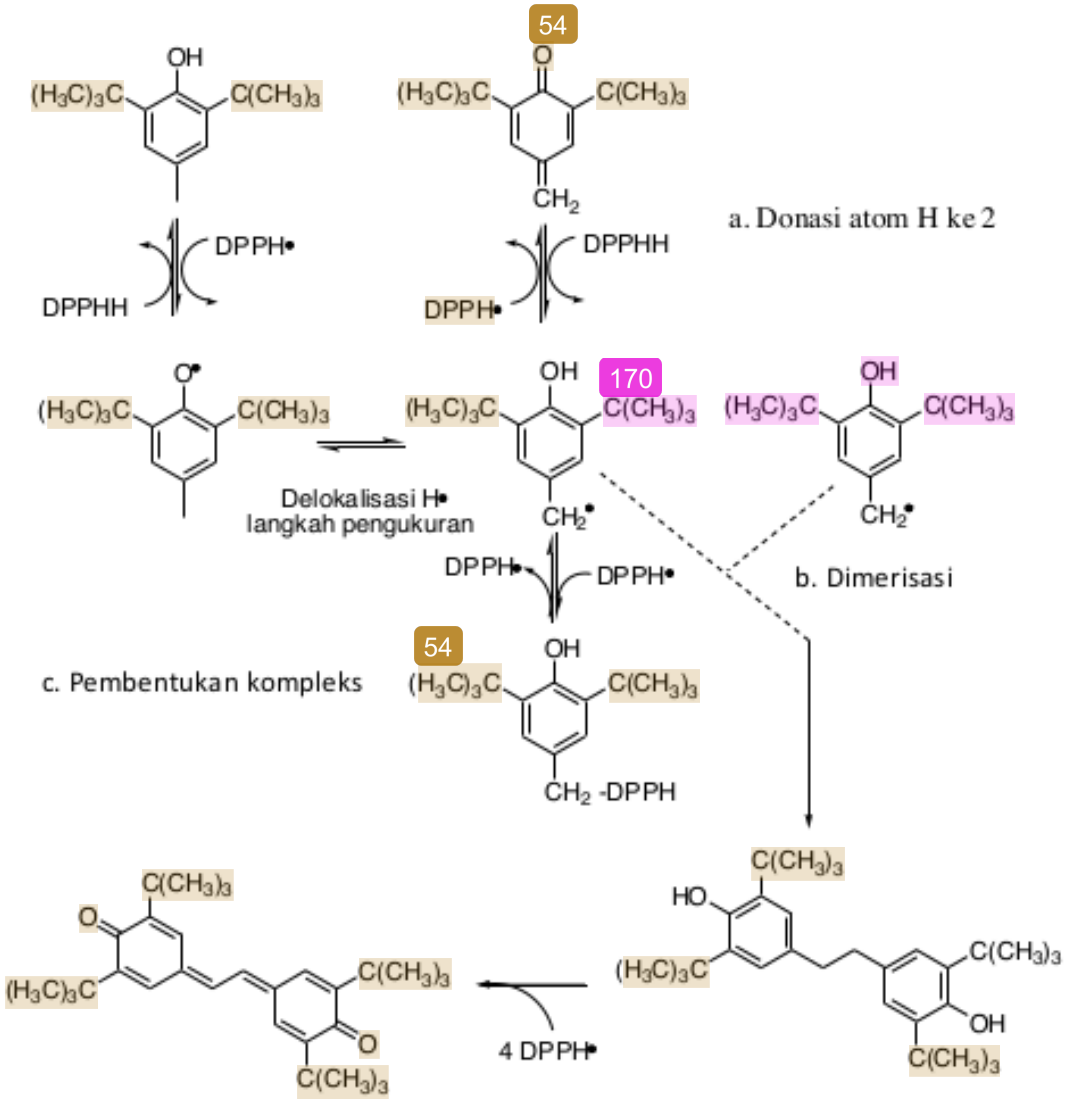
Prabhansankar, *et al.,* 2009), melaporkan bahwa polisakarida seperti alginat dan fucoidan pada *Ascophyllum* adalah lebih efektif dari phlorotannin dalam kemampuan mengkelat ion logam untuk detoksifikasi. Beberapa peptida dan juga protein ditemukan dalam ekstrak alga laut mempunyai kemampuan aktifitas pengkelat ion.

Fereira *et al., (2012)* melaporkan bahwa alga laut merah mengandung antioksidan antheraxanthin (karotenoid), phikoeritrin (pigmen bikobilin), galaktan dan sulfat galaktan. Alga laut coklat mengandung fukosantin dan phlorotannin dan polisakarida sulfat. *Halimeda sp* mengandung katekhin (polifenol), *Sargassum sp* mengandung asam askorbat. Sedangkan senyawa aktif *Sargassum fillipendula* merupakan karotenoid dan asam *benzena dikarboksil*

Alga laut mengandung fenolphloroglucinol (phlorotannin) yang berfungsi sebagai peredam spesies oksigen reaktif, pengkelat logam, modulator enzim dan mencegah peroksidasi lipida (Mantanjun *et al*., 2008). Chew *et al*., (2008) melaporkan kadar total fenol ekstrak metanol 20, 50 dan 100% *P. antilarum, Caulerpa rasemosa* dan *Kappaphycus alvarezii*, menunjukkan bahwa pada konsentrasi 50% mengandung kadar total fenol tertinggi yaitu masing-masing sebesar 243±2,08,144±2,20, 115±1,38 mg GAE/gr ekstrak.

Pengujian aktifitas antioksidan menggunakan metoda DPPH yaitu berdasarkan kemampuan sampel untuk mereduksi radikal bebas stabil DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) (Huang and Prior (2005). DPPH menerima elektron atau radikal hidrogen akan membentuk molekul diamagnetik yang stabil. Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH, akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH (Gambar 29)

Menurut Chakraborty *et al*., 2013, fraksi etil asetat *Turbinaria sp* mengandung metabolik sekunder potensial, dilihat dari kemampuan meredam radikal bebas DPPH. Yuan *et al*., 2005 melaporkan bahwa fraksi heksana, kloroform dan ekstrak metanol *Porphyra yezoen*sis menunjukkan aktifitas antioksidan dengan kehadiran β-karoten, klorofil analog (fephitin) dan senyawa amin (leusin, fenilalanin dan asam amino mikosporin).



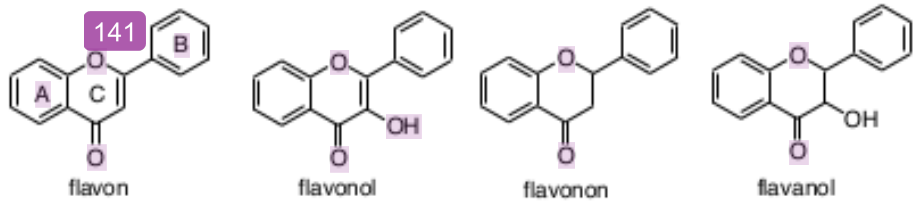
Gambar 29. Mekanisme Reaksi Senyawa Antioksidan dengan DPPH (Brand-Williams, 1995).

Uji Pengkelat Ion (*Ferrous Ion Chelating/FIC*), yaitu pengukuran aktifitas antioksidan berdasarkan pengikatan antioksidan pada ion logam. Ekstrak dengan kemampuan

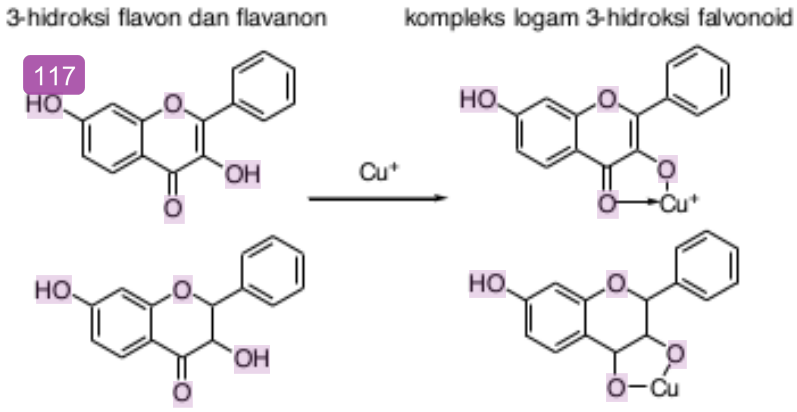
mengikat lebih tinggi akan mencegah atau menghambat reaksi, seperti *Fenton reaction type* yang menghasilkan radikal hidroksil reaktif. Dilaporkan bahwa zat-zat pengkelat yang membentuk ikatan σ dengan sebuah logam, adalah efektif sebagai antioksidan sekunder karena mereduksi potensial redoks, karena itu mengstabilkan bentuk teroksidasi ion logam (Kuda *et al*., 2005).

Senyawa berat molekul rendah pada alga laut coklat *Scitosiphon lomentaria* mempunyai aktifitas pengkelat Fe^{2+}. Phlorotannin yang biasanya hadir didalam fraksi pelarut polar dari alga laut coklat adalah pengkelat logam berat yang kuat. Kemampuan mengkelat Fe^{2+} alga laut karena kehadiran senyawa non-fenolik, seperti karbohidrat yang ada dalam ekstrak alga laut. Molekul dengan hidroksil, sulfhidril, karbonil dan golongan fosfat memiliki konfigurasi gugus fungsi yang menguntungkan didalam kemampuan mengkelat Fe^{2+}, Senyawa-senyawa asam fenolik, quercetin, flavonoid, dan glikosida fenolik dapat mengkelat ion logam transisi seperti Fe^{2+}. Senyawa-senyawa aktif ini dapat mempunyai pengaruh sinergis, berperan penting mengatur aktifitas antioksidan melalui penghambatan oksidasi dan pengaruh pengkelat ion (Ahn *et al*., 2004).

`Menurut Swaran, 2005, flavonoid adalah polifenol dengan berat molekul rendah yang adalah turunan benzo-**γ**-piron. Golongan flavonoid utama terdiri flavan, flavonol, flavonon dan flavanol (Gambar 30). Flavonoid berfungsi sebagai penangkap radikal bebas dan pengkelat ion logam. Menurut Pokorny *et al*., 2001, ikatan rangkap yang berkonyugasi dengan C-4 karbonil dapat menstabikan radikal melalui "rearrangement" elektron. Aktifitas pengkelat ion flavonoid membutuhkan kehadiran konfigurasi 3',4' dihidroksi dan lebih penting C-4 quinon dan C-3 atau C-5-OH. Hidrogenasi C2:C3 ikatan rangkap mengakibatkan hilangnya aktifitas pengkelat logam, yang dapat diasumsi akibat kekurangan "rearrangement" elektron selama pembentukan kompleks logam-flavonoid (Gambar 31).



Gambar 30. Golongan Flavonoid Utama (Pokorny *et al*., 2001)



Gambar 31. Mekanisme Reaksi Pengkelat Ion Flavonoid (Pokorny *et al.*, 2001)

Alga laut coklat ditemukan pada beberapa ekstrak menunjukkan nilai nutraceutikal sebagai antioksidan potensil melalui pengurangan radikal toksisitas yang terinduksi, antiobesitas, daya reduksi dan pengkelat ion. *Turbinaria* menunjukkan potensil mempunyai kemampuan meredam DPPH$^{\bullet}$, kapasitas reduksi HO$^{\bullet}$ dan aktifitas pengkelat ion Fe^{2+} (Kim *et al*., 2006, Mantanjun *et al*., 2008).

Menurut Swanson dan Druehl 2002, kadar total fenol dan aktifitas pengkelat ion menunjukkan korelasi yang negatif, karena itu kehadiran beberapa senyawa lain selain fenol, beberapa peptida dan protein yang menyebabkan kemampuan mengkelat logam transisi. Prabhansankar, *et al*., 2009), melaporkan bahwa polisakarida seperti alginat dan fucoidan

pada *Ascophyllum* adalah lebih efektif dari phlorotannin dalam kemampuan mengkelat ion logam untuk detoksifikasi. Beberapa peptida dan juga protein ditemukan dalam ekstrak alga laut mempunyai kemampuan aktifitas pengkelat ion. Menurut Sanger *et al*., 2013, hasil analisa kadar total fenol aktifitas antioksidan alga laut segar *S. oligocystum, T. decurens* dan *H. macroloba* menunjukkan bahwa: kadar total fenol bervariasi dari 2.07±0.33 sampai 18.83±0.77 mg equivalen asam galat (GAE) per 100 gr sampel. *H.durvilae* mempunyai kadar total fenol dan DPPH tertinggi, *G.salicornia* mempunyai daya reduksi tertinggi. *Halimenia durvilae* mengandung senyawa fitokimia yang setelah dianalisis mempunyai aktifitas sitotoksik serta berdasarkan penelitian mempunyai aktifitas anti-kanker serviks dan antidiabetes.

Chew *et al*. (2008) mengemukakan bahwa uji Daya Reduksi (FRAP/ ferric Reducing antioxidant Power) adalah uji aktifitas antioksidan diukur berdasarkan kemampuan senyawa antioksidan didalam sampel untuk mereduksi senyawa ferri (III) menjadi senyawa Ferro (II) didalam reaksi colorimetric redox yang meliputi transfer single electron. Kemampuan mereduksi ekstrak kimia atau senyawa umumnya tergantung pada reduktan yang menunjukkan ambil bagian sebagai aksi

antioksidan melalui memecah rantai radikal bebas dengan donasi atom hydrogen .

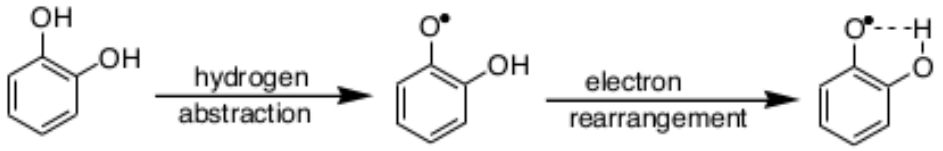
Daya reduksi alga laut merah eksrak 1-butanol *Palmaria palmate sebesar* 4.48 μg EAC (equivalent asam askorbat) g^{-1} (Yuan and Walsh, 2006). Polyfenol adalah senyawa pereduksi dan bersama-sama dengan pereduksi lainnya seperti vitamin C,E dan karotenoid dapat melndungi jaringan tubuh melawan oxidatif stress, yang sangat berhunungan dengan patologis kanker, penyakit jantung koroner dan inflamasi (Tapiero *et al*., 2002). Sifat pereduksi mengindikasikan bahwa senyawa antioksidan adalah donor electron yang dapat menurunkan proses peroksidasi lipida, sebab itu dapat berperan sebagai antioksidan primer dan sekunder (Yen and Chen 1995).

Menurut Lopez *et al*., 2012, umumnya penggolongan polifenol pada tumbuhan darat berdasarkan struktur, yang terdiri dari polimer flavonoid dan asam galat. Dalam alga laut adalah adalah phlorotannin dengan besar molekul 126- 650 kDa). Salah satunya phloroglucinol (unit-unit 1,3,5 trihidrobenzena).

Aktifitas antioksidan asam fenolik dan turunannya tergantung pada banyaknya dan posisi group hidroksil yang

diikat pada cincin aromatik, sisi ikatan dan jenis dari subsituent.

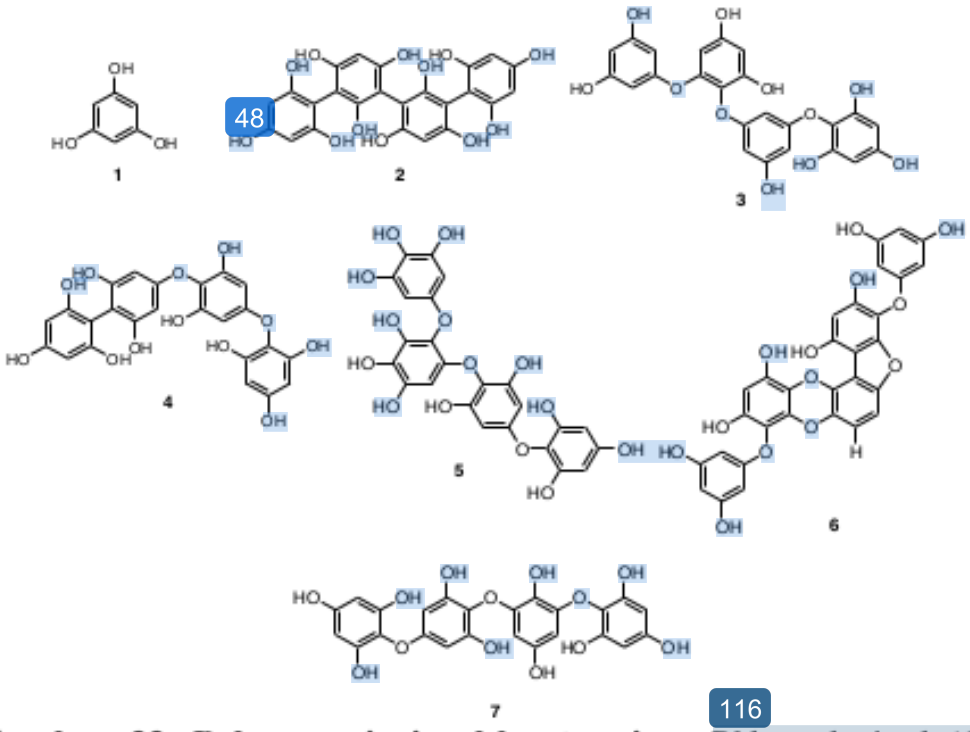
Pokorni (2001) melaporkan bahwa kapasitas mendonasi elektron metil, etil tertier dan butil pada posisi orto dan para pada golongan hidroksil memperkuat aktifitas antioksidan fenol, demikian pula substitusi hidroksil pada posisi ini. Fenol tersubtitusi ortho seperti 1,2-dihidroksibenzena akan membentuk ikatan hidrogen intramolekular selama reaksi radikal, akan memperkuat stabilisasi radikal fenoksil (Gambar 32) Methoksi tersubstitusi ortho pada hidroksil memberikan aktifitas antioksidan yang lemah.



Gambar 32. Ikatan Hidrogen Fenol Tersubstitusi Ortho pada Reaksi Radikal (Pokorsny *et al.*, 2001).

Pholorotanin potensial berguna untuk kesehatan, sifat-sifat phlorotannin dalam sistim biologi seperti antiperadangan, antialergi, antivirus, antikanker, antibakteri, antioksidan dan aktifitas antidiabetes (Lopez *et al*., 2012). Phlorotannin dapat dibagi dalam 6 golongan spesifik (fucol, phlorethol,

fucophlorethol, fuhalol, isofuhalol dan echol) yang dibedakan pada gugus hidroksil yang mengikat unit phloroglucinol, Beberapa Jenis Pholorotannin dapat dilihat pada Gambar 33.



Gambar 33. Beberapa jenis phlorotannin; Phloroglucinol (**1**), Tetrafucol A (**2**), Tetraphlorethol B (**3**), Fucodiphlorethol A (**4**), Tetrafuhalol A (**5**), Phlorofucofuroeckol (**6**),dan Tetraisofuhalol (**7**). (Lopez *et al.*, 2012

Kandungan fosfat polisakarida *Porphyra yezoensis* menunjukkan aktifitas antioksidan. *K.alvarezii* disusun oleh karagenan yaitu sebuah polisakarida sulfat, mempunyai kemampuan antioksidan, disamping kehadiran asam askorbat,

vitamin A dan senyawa fenolik. *K.alvarezii* sebagai sumber karagenan (D-galaktosa 4-sulfat dan residu 3,6-anhidro D-galaktosa) yang potensil sebagai antioksidan. Senyawa-senyawa seperti polisakarida berat molekul rendah, pigmen, protein atau peptida juga mempengaruhi aktifitas antioksidan (Siriwardhana *et al*., 2003).

Senyawa-senyawa antioksidan mungkin berperan melalui penghambatan atau pencegahan oksidasi selular substrat yang dapat teroksidasi dan secara selektif menghambat aliran spesies osigen reaktif. Ekstrak yang mempunyai aktifitas antioksidan tinggi menunjukkan tingginya kadar total fenol. *Epigallokatekhin galat, epigallokathekhin, epikatekhin galat* dan *epikatekhin* adalah senyawa yang paling penting dalam kemampuan antioksidan.

Senyawa berat molekul rendah pada alga laut coklat *Scitosiphon lomentaria* mempunyai aktifitas pengkelat Fe^{2+}. Phlorotannin yang biasanya hadir didalam fraksi pelarut polar dari alga laut coklat adalah pengkelat logam berat yang kuat. Kemampuan mengkelat Fe^{2+} alga laut karena kehadiran senyawa non-fenolik, seperti karbohidrat yang ada dalam ekstrak alga laut. Molekul dengan hidroksil, sulfhidril, karbonil dan golongan fosfat memiliki konfigurasi gugus fungsi yang

menguntungkan didalam kemampuan mengkelat Fe^{2+}, Senyawa-senyawa asam fenolik, quercetin, flavonoid, dan glikosida fenolik dapat mengkelat ion logam transisi seperti Fe^{2+}. Senyawa-senyawa aktif ini dapat mempunyai pengaruh sinergis, berperan penting mengatur aktifitas antioksidan melalui penghambatan oksidasi dan pengaruh pengkelat ion (Ahn *et al*., 2004).

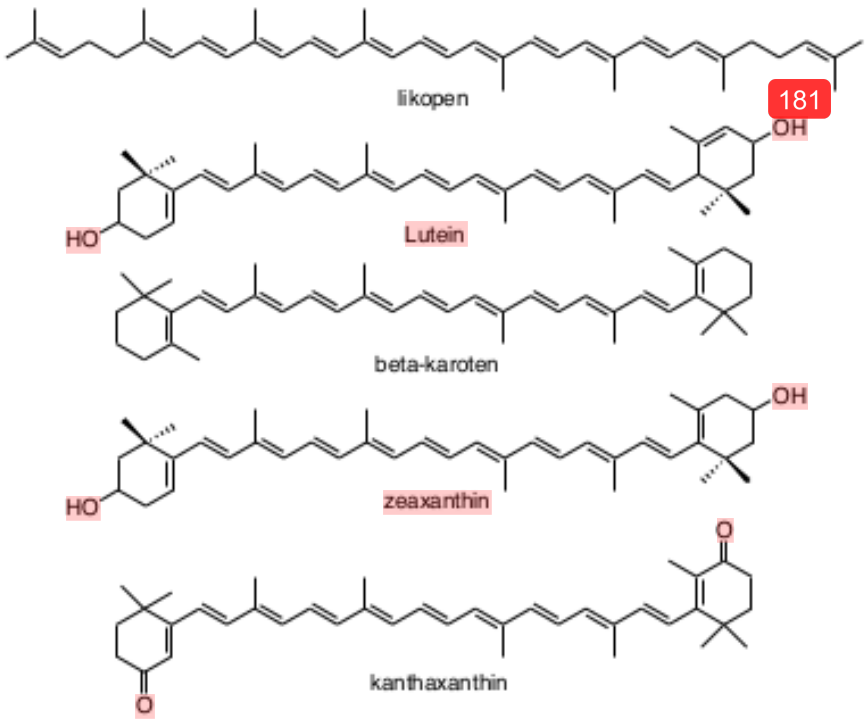
8.2. Anti kanker

Menurut WHO 80% penduduk dunia terutama mereka yang berada dinegara berkembang menyadari obat-obat dari tumbuhan bermanfaat untuk memelihara kesehatan. Produk alam dan turunannya mempersembahkan lebih dari 50 % obat didalam penggunaan kecara klinis. Lebih dari 60% dari obat-obat untuk mengobati kanker berasal dari bahan alamiah (Boopathy and Kathiresan, 2010).

Banyak penelitian telah membuktikan bahwa senyawa bioaktif dalam rumput laut dapat mencegah ataupun mengobati beberapa penyakit (Chew *et al*., 2008, Kim *et al*., 2006) β-karoten dan lutein berfungsi sebagai antimutagenik dan dapat melawan kanker payu darah. Karagenan dan oligosakarida sebagai antitumor, fucoidan sebagai anti-HIV, anti-kanker dan neurodegenerative. Phlorotannin berfungsi sebagai

antiproliferasi, bakterisidal, menghambat H_2O_2 yang memediasi kerusakan DNA dan hipertensi (Gornish and Garbary, 2010).

Karotenoid mempunyai pengaruh antiproliferasi pada beberapa *cell lines* kanker. Jenis-jenis karotene seperti likopen lutein, β-karoten, Zeaxanthin, kanthaxantin dan lain-lain (gambar 34).



Gambar 34. Beberapa Jenis Karotenoid (Akoh and Min, 2001).

dimana likopen menunjukkan penghambatan perkembangan siklus sel pada payu darah, paru-paru dan prostat. β-karoten menunjukkan penghambatan pada ekspresi antiapoptotis protein Bcl-2 pada sel kanker, mereduksi pertumbuhan sel kanker dan menurunkan resiko kanker paru-paru. Karotenoid paling banyak pada pangan adalah: α dan β-karoten, β-kriptosantin, likopen, lutein dan zeazantin (Gambar 2. (Holdt and Kraan, 2011; Fang *et al*., 2002).

Menurut WHO, di Indonesia penderita kanker serviks tertinggi di dunia setiap tahun tidak kurang dari 15.000 kasus kanker serviks ditemukan (Magdalena, 2012). Karsinoma serviks uterus adalah tumor wanita yang menempati peringkat ke dua didunia setelah kanker payudara, dimana insiden terbesar terjadi dinegara berkembang (> 80%) dan sekitarnya. Pencegahan secara kimia adalah strategi menghambat, dan memperlambat carcinoma kanker manusia dengan cara menginduksi kerusakan struktur DNA, menghambat sintesis RNA, mencegah proses transkripsi atau mempengaruhi fungsi dan sintesis protein. Ekstrak atau bubuk rumput laut dapat mereduksi tingkat proliferasi seltumor in-vitro maupun in vivo. Ekstrak metanol (100μg/ml) algae merah *Asparagopsis taxiformis* menghambat proliferasi carcinoma sel kucing kira-

kira 40%. Ekstrak methanol *Gracilaria corticata* menghambat aktifitas HepG2 dan sel kanker payudara and human breast adenocarcinoma (MCF-7) cells. Dengan rata-rata aktifitas penghambatan 91% dan 93%. menggunakan 500 μg/ml ekstrak (Gomes *et al*., 2015)

Untuk 30 tahun terakhir ini *Artemia salina* telah digunakan didalam beberapa sistim bioassay. Uji in-vitro sitotoksik menggunakan BSLT (*brine salina lethality test*) adalah sederhana, umum, tidak mahal dan cepat. BSLT diangkap sebagai sebuah pemeriksaan yang cocok untuk penentuan awal toksisitas, mendeteksi toxin jamur, logam berat, pestisida dan uji toksisitas material gigi. BSLT dapat juga dieksplorasi untuk aktifitas sitotoksik cell-line dan aktivitas antitumor. BSLT sangat bermanfaat untuk isolasi senyawa biogenik dari aktifitas sitotoksik metabolism sekunder makroalga. Sifat sitotoksik melalui material tanaman penting untuk mengetahui kehadiran senyawa antitumor. Banyak senyawa metabolism sekunder dihasilkan oleh algae merah laut yang dikenal bersifat sitotoksik (Zakaria *et al*., 2011).

Ekstrak etil asetat dan metanol 50% dari algae merah *Hypnea flagelliformis* menunjukkan toxisitas yang signifikan pada uji Brine larva *S. artemia* demikian juga pada uji

toksisitas dengan menggunakan bioassay anti-bakteri dan anti-jamur menggunakan organisme yang berbeda (Saedinia *et al*., 2009). Ekstrak alga merah *Amphiroa zonata* menunjukkan bersifat sitotoksik pada leukemia cell line. Algae merah *Laurencia brandenii* yang diekstrak dan difraksinasi dengan kromatografi kolom menggunakan sistim pelarut yang berbeda. Fraksinya diuji untuk aktifitas sitotoksik. Fraksi yang dielusi dengan petroleum:chloroform (6:4) menunjukkan aktifitas yang ekselent. Pada analisis GC-MS pada dosis 200 µg/ml fraksi algae aktif diperoleh penghambatan 100%. Dimana pada uji toxisitas menunjukkan nilai LD=93µg/ml, yang memiliki aktifitas sitotoxik aktif (Manilal *et al*., 2009).

Rumput laut diketahui kaya akan senyawa bioaktif dan aktifitas biologi dikenal aktfitas yang potensial untuk pengobatan kanker. Yuan dan Walsh (2006) melaporkan aktifitas antiproliferatif ekstrak didalam cervical adeno-carcinoma cell-line (HeLa). Ekstrak *Stypopodium zonale* menunjukkan aktifitas sitotoksik melawan kanker mela-noma line. Fucan dengan berat molekul rendah diekstraksi dari *Ascophyllum nodosum* menunjukkan aktifitas antiproliferative melawan adenocarcinoma colon manusia dan bronchopulmonary carcinoma cell line (Ellouali *et al*. 1993).

Sterols yang diisolasi dari *Galaxaura marginata* and *G. oblongata* menunjukkan sitotoksik (Huang et al. 2005). Meningkatnya penelitian menggunakan model roden telah menunjukkan aktifitas antikarsinogenik dari spesies alga merah dan alga hijau melawan kanker payu darah, intestinal, karsinogenesis kulit (Yamamoto and Maruyama, 1985). Kenyataannya mengkonsumsi alga disarankan sebagai zat chemopreventif melawan kanker payu (Boopathy and Kathiresan, 2010).

Rumput laut adalah sumber penting protein, iodium, vitamin dan menunjukkan aktifitas melawan insiden kanker. Rumput laut kaya akan cathecin, epicatechin, epigallocatechin galat dan asam galat. *Palmaria palmitat*, edible seaweed, menunjukkan efektif sebagai antioksidan, mampu menghambat proliferasi sel kanker. Ekstrak alkohol algae merah *Acanthophora spicifera* menghambat aktifitas carcinoma cell Ehrlich´s ascites yang dikembangkan didalam *mice* pada dosis 20 mg/kg, yang dibandingkan dengan obat standart 5-flurouracil, yang dapat meningkatkan waktu survife, menurunkan volume tumor dan jumlah sel aktif. *Acanthaphora spicifera, Ulva reticulata, Gracilaria foliifera, and Padina boergesenii* dilaporkan menunjukkan aktifitas

sitotoksik pada ekstrak metanolnya (Vasanthi, Rajamanickam, and Saraswathy, 2004).

Menurut Mc Laughlin and Rogers (1998) sitotoksisitas yang didasarkan pada uji BSLT dibagi dalam 3 kategori sebagai berikut LC50 >1000 ppm mengekpresikan tidak aktif, LC50 30-1000 ppm aktif dan LC50<30 ppm sangat aktif. Hal ini sejalan dengan yang dilaporkan oleh Sukoso *et al*., 2012 pada rumput laut merah *Porphyra sp* dari ekstrak n-heksan IC 50=567.49 ppm, Etil asetat 108,29 dan metanol 270.46 ppm. Berdasarkan kategori Mc Laughlin and Rogers (1998) semua ekstrak dinyatakan aktif dan ekstrak etilasetat paling aktif sebagai senyawa sitotoksik.

Dietary fiber rumput laut mempunyai berbagai fungsi sebagai antioksidan, antimutagenik, antikoagulan dan juga sebagai antitumor (Yamamoto dan Maruyama H. 1995, Boopathy dan Kathiresan, 2010) .

Penelitian obat laut secara besar-besaran difokuskan pada penemuan untuk pengobatan kanker. Ada 2 turunan alkaloid yaitu lophocladine A dan lophocladin B diisolasi dari alga merah L*ophocladia sp*. yang diambil dari kepulauan Fiji, New Zealand mempunyai aktifitas antikanker dan terbukti berhasil pada beberapa cell line kanker.

Beberapa spesies agae lau ditemukan memproduksi metabolik sekunder dengan aktifitas antitumor (blund, *et al*., 2006). *Sargasum stenophyllum, Capsosiphon fulvescens* menghambat migrasi dan viabilitas cell melanoma manusia in-vitro dan in-vivo (Dias *et al*. 2005) dan rata-rata menginduksi apoptosis pada sel gastrik manusia. Fucans dengan berat molekul rendah yang diekstraksi dari *Ascophllum nodosum* menunjukkan aktifitas antiproliferatif melawan adenocarcinoma kolon manusia dan cell line carcinoma bronchopulmonary (Riou *et al*, 1996, Ellouali *et al*, 1993)). Sterol yang diisolasi dari *Galaxaura marginata* dan *G. oblongata* mempunyai aktifitas sitotoksik untuk beberapa type sel kanker.

Banyak peneliti melaporkan bahwa polisakarida sulfat dapat memperkuat immune respons alamiah melalui promosi aktifitas tumorsidal macrophage dan sel pembunuh alamiah. Sel-sel antigen bermigrasi kedalam dan keluar jaringan tumor ke antigen tumor T-herper sel sama seperti memproduksi cytokine seperti interleukin-1-beta dan TNF-alfa yang menstimulasi T-helper sel. Sebagai akibat T-helper sel mempromosikan aktifitas sitotoksik T-sel, yang mempunyai pengaruh sitotoksik yang kuat.

Baikalein. quercetin, luteolin and apigenin adalah jenis flavonoid mempunyai aktifitas sebagai anti karsinogenik (Yoshie *et al*., 2002).. β-karoten dan lutein yang terdapat pada *Chondrus crispus* dan *Mastocarpus stellatus* mempunyai aktifitas sebagai antimutagenik sebagai proteksi melawan kanker payu darah.

8.4. Antidiabetes.

Menurut WHO, Penderita diabetes Indonesia 9,1 juta, menempatkan Indonesia dalam posisi kelima dunia, diperkirakan Tahun 2035 sekitar 14,1 juta penduduk Indonesia menderita diabetes jika tidak ada perhatian dan penanganan yang serius (Cho, 2014),

Diabetes Type 2 adalah penyakit metabolik hiperglisemik, adalah suatu kondisi yang disebabkan oleh tidak cukupnya sekresi insulin atau resisten insulin. Penggunaan insulin untuk mempertahankan gula darah mendekati normal, dibatasi karena terbukti dapat menimbulkan efek samping yang tidak diinginkan.

Saat ini pendekatan untuk mengontrol hyperglicemik postprandial adalah untuk menghambat enzim yang menghidrolisa karbohidrat seperti α-amilase dan α-glukosidase

didalam sistim pencernaan. Penghambatan α-amylase pankreas memperlambat pencernaan karbohidrat dan menyebabkan reduksi absorbsi kadar gula, yang menyebabkan menurunkan kadar serum glukosa post-prandial.

Karbohidrat adalah bahan bakar yang utama untuk organisme sebab karena proses metabolismenya lebih sederhana dari lemak atau asam amino. Didalam hewan karbohidrat yang paling penting adalah glukosa. Konsentrasi glukosa didalam darah digunakan sebagai kontrol untuk pusat metabolisme hormon insulin. Karbohidrat adalah sebuah polimer yang panjang dari molekul-molukul glukosa dengan ikatan glikosida, untuk pembentuk struktur (Chitin dan selulosa) untuk disimpan (glikogen dan pati). Tetapi afinitas yang kuat terhadap air dari paling banyak karbohidrat mengakibatkan penyimpan karbohidrat dalam jumlah besar tidak efisien karena berat molekulnya yang besar. Paling banyak organisme keberadaan karbohidrat dikatabolisme secara teratur membentuk acetyl-CoA, yang diperlukan untuk jalur sintesa asam lemak, triglyserida dan lipida lain yang umum digunakan penyimpanan energi untuk waktu yang lama. Sifat hydrophobik lipida membuat mereka jauh lebih kompak sebagai bentuk penyimpanan energi daripada karbohidrat

hidrophylik. Hewan ataupun manusia kurang akan mesin enzim yang dibutuhkan karena itu tidak mengsintesa gula dari lipida, walaupun gliserol dapat diubah menjadi glukosa.

Konsentrasi glukosa plasma merupakan fungsi dari tingkat glukosa masuk sirkulasi ("glucose appearance") diimbangi oleh tingkat glukosa yang berpindah dari sirkulasi ("glucose disappearrance"). Sirkulasi glukosa diturunkan dari 3 sumber: absorbsi intestinal selama waktu makan, glikogenolisis dan gluconeogenesis. Pengukuran utama bagaimana glukosa nampak dengan cepat didalam sirkulasi selama saat makan adalah tingkat pengosongan lambung. Sumber lain dari sirkulasi glukosa adalah diturunkan dengan mudah dari proses hepatik glikogenolisis, yaitu pemecahan glikogen bentuk polimernya disimpan dalam bentuk glukosa Glukoneogenesis adalah pembentukan gula terutama dari asam laktat dan asam amino selama fase puasa. Glikogenolisis dan gluconeogenesis adalah secara terpisah dibawah kontrol glukagon, sebuah hormon yang diproduksi α-cell pancreas. Selama 8-12 jam puasa, glikogenolisis adalah mekanisme utama dimana glukosa dibuat tersedia. Glukagon memfasilitasi proses ini dan memunjulkan glikosa nampak didalam sirkulasi. Periode puasa yang lebih lama glukosa diproduksi oleh

glukoneogenesis, dilepaskan dari hati. Hormon-hormon glukoregulatori termasuk insulin, glucagon, amylin, GLP-1, *glucose-dependent insulinotropic peptide* (GIP), epinephrine, cortisol dan hormone pertumbuhan insulin dan amilin diturunkan dari β-cell, glucagon dari α-cell dari penkreas dan GLP-1 dan GIP dari L-cell dari intestinal.

Beberapa penghambat seperti acarbose, dan miglitol yang saat ini digunakan didalam klinik menghambat α-amilase dan α-glukosidase demikian juga dengan voglibose. Zat hypogycemik sintetik ini mempunyai keterbatasan masing-masing. Obat ini non-spesifik, memproduksi efek samping yang serius dan gagal untuk mereduksi komplikasi diabetes. Efek samping dari penghambat ini adalah gangguan pada gastrointestinal seperti mengembung, ketidak nyamanan abdominal, mencerat dan flatulensi. Penggunaan produk alam untuk pengobatan, efek samping dapat diabaikan, tersedia dengan mudah dibandingkan dengan sintetik hypoglycaemik (Senthil *et al*., 2013).

American Diabetes Association merekomendasikan konsumsi 30-35 g dari total sumber serat yang meliputi serat larut maupun tidak larut. Konsumsi diet serat akan memperbaiki control glicemik, mereduksi total energy intake

dan lipida darah. Rumput laut kaya akan polisakarida non-pati dan kadar lemak yang rendah. Dietary fiber rumput laut berbeda dalam komposisinya struktur kimia, sifat fisiko kimia, efek biologi dari tumbuhan darat (Kim *et al*., 2008).

Asam oleat yang terdapat pada rumput laut mempunyai pengaruh melawan kardiovascular, komplikasi diabetes, menurunkan aktifitas faktor jaringan didalam penderita diabetes-hiperglicemik dan dapat melindungi jaringan dari resiko thrombosis (Deveri *et al*., 2001).

Polifenol seperti lutein, quercetin, katechin dan flavonoid mempunyai aktifitas penghambatan α-amilase dan α-glukosidase Senyawa polifenolik seperti phlorotannin bereaksi sebagai penangkap elektron yang bertanggung jawab sebagai sifat antioksidan multifungsi seperti penangkap radikal hidroksil, radikal peroksil atau radikal superoksida. (Chakraborty *et al*., 2013) Fucan dari *Himahthalia elongada* merendahkan glycemia (Kim *et al*., 2008).)

Fraksinasi ekstrak *A.nodosum* menunjukkan bahwa penghambatan α-glukosidase berhubungan dengan senyawa polyfenol, bertanggung jawab untuk menstimulasi glukosa *up take*, Tetapi ekstrak kasar polifenol dan polyfenol yang diperkaya 200 mg/kg berat badan memperbaiki tingkat serum

glukosa saat puasa pada tikus diabetic yang diinduksi streptozotocin sampai 4 minggu. Tikus mengalami penurunan total kolesterol darah tingkat glikasi serum protein dibandingkan dengan mice yang tidak di treatment dengan diabetis. Ekstrak kasar polyfenol juga menormalisasi penurunanan tingkat glikogen hati. *A. nodosum* memperbaiki capasitas antioksidan darah (Zhang *et al*., 2007). Artikel yang telah dipublikasikan tentang mekanisme aktifitas penghambatan α-glukosidase senyawa poliphenol adalah penangkap hidrogen, karena α-glukosidase menyediakan hidrogen untuk mengkatalisa hydrolysis ikatan α-(1,4)-glikosida (Borges de Melo et al., Mohan dan Pinto, 2007). Aksi penghambatannya melalui penangkapan ion hidrogen bebas dari sisi katalis α-glukosidase. Sejumlah senyawa penolik seperti flavonol, katechin dan theaflavin mempunyai aktifitas penghambat α-glukosidase. dimana intensitas aktifitas tergantung pada struktur dan konformasi fenol.

Pengaruh fraksi fenol dan fraksi polysakarida yang diperkaya yang diberikan pada diet mice (200 mg/kg) ditemukan bahwa fraksi fenol mengurangi kadar glukosa dengan cepat sesudah 14 hari diet, tetapi fraksi polisakarida yang diperkaya secara significant tidak menurunkan kadar gula

darah (Zhang et al., 2007). Penghambatan α glukosidase rumput laut segar IC 50 0.14 µg, dan penghambatan α-amilase rumput laut segar IC 50 1.34 µg (Apostolidis & Lee., 2010).

8. 5 Antimikroba.

Spesies alga memiliki senyawa yang bersifat bakterisidal atau bakteriostatik. Senyawa antimikroba yag disekresikan oleh alga memepunyai aktifitas biologi spectrum luas sebagai anti bakteri, anti jamur, anti virus, antineopastik, anti fouling, antiinflamasi, antitumor, citotoksik, antimitotik.

Senyawa antibakteri yang ditemukan didalam algae, meliputi: asam amino, terpenoid, phlorotannin, asam acrylat, senyawa fenolik, steroid, keton terhalogenasi, alkana, polisulfida siklik dan asam lemak, Didalam sejumlah besar alga laut aktifitas antibakteri disebabkan karena kehadiran asam acrylat, phlorotanin, terpenoid dan sterol (Sudjatha *et al*., 2012). Aktifitas antibakteri alga karena kemampuannya untuk mengsintesa senyawa nitrogen dan diterpen pada *Chlorophyceae*; nitrogen, diterpen dan terpen halogenat pada Rhodophyceae dan metabolik aromatik pada *Pheophycea*.

Rumput laut terutama memproduksi terpen dan fenolik yang bermanfaat untuk kesehatan manusia, hewan dan produksi pertanian. Aktivities antimikroba 10 jenis rumput laut : *Stypopodium zonale*, *Laurencia dendroidea*, *Ascophyllum nodosum*, *Sargassum muticum*, *Pelvetia canaliculata*, *Fucus spiralis*, *Sargassum filipendula*, *Sargassum stenophyllum*, *Laminaria hyperborea* dan *Gracilaria edulis* diujikan pada *Colletotrichum lagenarium* dan *Aspergillus flavus*. Ekstrak *S. zonale*, *L. dendroidea*, *P. canaliculata*, *S. muticum*, *A. nodosum* and *F. spiralis* signifikan menghambat pertubuhan *C. lagenarium* tetapi tidak signifikan menghambat pertumbuhan *A. flavus*. Senyawa Terpen terdapat semua ekstrak yang dideteksi dengan TLC, sedangkan senyawa fenolik terdapat hanya pada ekstrak *P. canaliculata*, *A. nodosum* dan *S. muticum*. Analisa dengan kolom kromatografi dikuti dengan GC/MS terpenes neophytadiene, cartilagineol, obtusol elatol; dan ester etill hexadecanoat teridentifikasi pada ekstrak *L. dendroidea* (Peres *et al*., 2012).

Menurut Sudjatha *et al*., 2012 Keberadaan nutrient, ephyteal debris dan sekresi membuat rongga mulut merupakan habitat yang baik sejumlah besar bakteri mulut seperti *streptococci, Lactobacilli, Staphylococci, Corynebacteria*

dengan sejumlah besar anaerob ,seperti bacteriosida. Plague adalah biofilm yang terdapat pada permukaan gigi. Akumulasi plague menyebabkan dental *caries* yang akan mengakibatkan penyakit ginggifitas dan periodontal. Penelitian saat ini menunjukkan bahwa bakteri mulut menkontribusi meningkatkan serangan jantung, stroke dan penyakit paru-paru. Dan memungkinkan kelahiran bayi prematur pada beberapa perempuan. *Chaetomorpha antennina, Cladospora fascicularis, Spongomorpha indica dan Ulva vasciata (Chlorophyceae)* melawan bakteri mulut *Streptococcus mutant*, *Streptococcus mitis*, dan *Actomyces viscoccus* yang terdapat pada permukaan gigi.

Ekstrak metanol rumput laut *Laminaria digitata, Laminaria saccharina*, *Himanthalia elongata, Palmaria palmate, Chondrus crispus* dan *Enteromorpha* spirulina menghambat bakteri pembusuk dan patogen makanan *Listeria monocytogenes*, *Salmonella abony*, *Enterococcus faecalis* dan *Pseudomonas aeruginosa*, kecuali ekstrak *C. crispus*. Ekstrak metanol rumput laut merah dan hijau kering mempunyai aktifitas lebih rendah dari rumput laut coklat. *H. elongate* mempunyai aktifitas antimikrba tertinggi. Antimikroba rumput laut merah dan hijau mempunyai aktifitas tinggi menggunakan pelarut aceton dan etanol melawan *E. faecalis* dan *C. crispus* (Cox *et al*., 2010)

BAB 9

BIOTEKNOLOGI MANGROVE

Setelah membaca Bab 9 pembaca diharapkan mengetahui tentang biofungsional manggrove, ekstraksi senyawa bioaktif, aktifitas biofungsional mangrove yang terdiri dari antioksidan, antikanker, antidiabetes dan antimikroba.

9.1 Biofungsional Mangrove

Keunzer *et al.*, (2011) menyatakan bahwa telah diidentifikasi lebih kurang 110 spesies tumbuhan mangrove di dunia. Dari 110 spesies mangrove tersebut, 54 spesies diantaranya yang termasuk dalam 20 genus dari 16 famili - digolongkan sebagai mangrove sejati. Dari banyak jenis spesies mangrove yang telah dikenal, spesies yang paling sering ditemukan di Indonesia adalah dari kelompok mangrove sejati seperti *Avicennia officinalis*, *Rhizophora apiculata*, *Rhizophora mucronata*, *Rhizophora stylosa*, *Sonneratia caseolaris*, *Excoecaria agallocha*, dan *Xylocarpus moluccensis* serta *Terminalia catappa*. Mangrove di Indonesia merupakan yang terbanyak di dunia baik dari segi kuantitas area maupun jumlah spesies.

Dewasa ini pemanfaatan buah mangrove sebagai bahan pangan sumber nutrisi mulai banyak dilirik dan dianjurkan. Buah mangrove mengandung zat nutrisi yang baik, dengan kandungan protein, lemak serta serat dan kalsium yang tinggi. Buah atau bagian lain tanaman mangrove yang dapat dikonsumsi tidaklah ditujukan sebagai makanan utama, melainkan lebih untuk tujuan penganekaragaman pangan. Selain untuk mengurangi konsumsi makanan pokok (nasi, beras, jagung dan sagu. Buah mangrove yang berupa tepung dapat digunakan sebagai bahan baku untuk menggantikan terigu sebagai sumber karbohidrat dalam pembuatan aneka macam penganan.

Tanaman mangrove merupakan salah satu sumber bahan obat tradisional yang dapat digunakan sebagai sumber senyawa bioaktif diantaranya golongan tanin, saponin, terpenoid, alkaloid dan steroid dengan aktivitas sebagai anti mikroba, antifungi, antivirus, antitumor, insektisida dan antileukemia. Pemanfaatan tanaman mangrove sebagai bahan obat tradisional telah lama digunakan oleh masyarakat dalam terapi penyakit gastroenteritis dan antikanker. Bagian tumbuhan yang dapat digunakan sebagai antikanker adalah kulit batang, akar, daun, bunga dan buah. Sulfur yang

mengandung alkaloid, 1,2-dithiolane (Brugine) diisolasi dari *Bruguiera sexangula* menunjukkan aktifitas antitumor melawan sarcoma 180 dan Lewis. Tannin berfungsi sebagai antikanker melawan carcinoma paru-paru. Turunan ribose 2-Benzoxazoline diisolasi dari *Acanthus ilicifolius* bersifat antikanker dan antivirus. Tea dari mangrove *Ceriops decandra* mencegah dimethyl benz[a]anthracine sebagai karsinogenesis yang diinduksi pada hamster sehingga dapat juga memicu perkembangan bakteri yang bermanfaat seperti *lactobacilli* rongga mulut hewan (Boopathy and Kathiresan, 2010)..

9.2. Antioksidan

Menurut Mahera *et al.*, (2011), mangrove api- api (*Avicennia marina*) merupakan salah satu spesies mangrove yang sangat penting, tersebar di seluruh Indonesia dan tersedia melimpah serta etnobotanis memberikan berbagai manfaat, yang mempunyai aktivitas antimalaria dan aktivitas sitotoksik, anti nematoda, antibakterial dan antivirus. Selain itu, daun api-api juga telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional untuk pengobatan penyakit kulit, rematik, cacar, bisul dan pakan hewan. Menurut Bandaranayake (2002), komposisi kimia mangrobe api-api sebagai berikut: kadar air

68,16%, protein 3.67, lemak 0.72%,au 4.45%, karbohidrat 23.00% dan serat kasar 4.12%. Kandungan fitokimia daun api-api terdiri dari flavonoid dan steroid. Ekstrak kasar daun api-api yang diekstraksi dengan metanol, etil asetat dan heksana berturut-turut memiliki nilai IC50 sebesar 257,58 ppm, 182,33 dan 1003,66 ppm. (Jacoeb *dkk*, 2011).

Pengujian aktivitas antioksidan buah mangrove *S.alba* dengan DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) menunjukkan nilai penghambatan IC_{50} 296.54 ppm . Hasil analisa fitokimia menunjukkan bahwa buah *S. alba* mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik, tannin, dan steroid. (Paputungan *dkk*, 2017). Ekstrak kloroform kulit batang *S.alba* dianalisis aktivitas antioksidannya dengan DPPH menunjukkan nilai penghambatan IC_{50} 41,9 μg/ml. Aktivitas antioksidan ekstrak kloroform tersebut termasuk kuat. Berdasarkan kriteria Blois nilai <100 μg/mL termasuk antioksidan kuat, namun aktivitas ini lebih rendah dari kontrol positif asam askorbat dengan nilai IC_{50} sebesar 17,64 μg/mL (Herawati *dkk*, 2011).

Kandungan fitokimia ekstrak, heksana, etil asetat pada Lindur Stem Bark (*Bruguiera gymnorrhiza*) adalah sebagai berikut: ekstrak heksana terdapat saponin; ekstrak etil asetat terdapat steroid, flavonoid, fenol, hidroquinon, saponin dan

tannin, sedangkan pada ekstrak metanol terdapat steroid dan flavonoid. Pengukuran aktifitas antioksidan peredam radikal DPPH dari ekstrak heksana, etil asetat dan metanol masing-masing IC_{50} 1858.36 ppm, 37.23 ppm dan 56,93 ppm. Kandungan proximat *B. gymnorrhiza* terdiri dari kadar air 65.18 %, protein 1.89, lemak 0.66%, abu 1.99, serat kasar 6.48% (Nurjana-Nurjana *et al*, 2015).

9.3. Antikanker.

WHO melaporkan bahwa 12% dari seluruh kematian di dunia disebabkan oleh penyakit kanker. Di Indonesia kanker menduduki peringkat ke-6 penyakit yang mematikan dengan angka kejadian 4,3% (Dep.Kes RI., 2005). Penyakit kanker terjadi pada organisme multisel, ditandai dengan hilangnya fungsi kontrol sel terhadap regulasi siklus sel maupun fungsi homeostasis sel dan mengarah pada invasi jaringan sekitarnya serta dapat menyebar ke bagian lain dalam tubuh. Sel kanker dapat berproliferasi terus-menerus secara tidak normal menyebabkan timbulnya jaringan abnormal yang tidak terkontrol dan berlebihan (Harwoko dan Utami, 2010)

Serbuk kulit batang Rhizoporamucronata diekstraksi dengan metanol dengan cara maserasi kemudian ekstrak metanol dipartisi berturut-turut dengan kloroform, etil asetat,

dan metanol. Fraksi kloroform kemudian difraksinasi dengan campuran n-heksan dan kloroform (3:2) dan diuji sitotoksisitas pada sel myeloma dengan metode MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide). Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi n-heksana : kloroform dari ekstrak metanol kulit batang *Rhizopora mucronata* bersifat sitotoksik pada sel myeloma dengan nilai IC_{50} 15 µg/mL dan hasil uji kualitatif fraksi tersebut mengandung senyawa flavonoid dan terpenoid. Nilai ini lebih kecil jika dibandingkan dengan IC_{50} dari fraksi kloroform ekstrak etanol kulit batang *R. mucronata yaitu* sebesar 91,49 µg/mL (Diastuti *et al*., 2008) karena tingkat sitotoksisitas fraksi *n*-heksana: kloroform kulit batang *R. mucronata* pada sel kanker dengan IC_{50} kurang dari 1000 µg/mL sehingga dapat dilanjutkan pengecatan DNA.

Pengecatan DNA dilakukan untuk mendapatkan data kualitatif morfologi sel yang dilakukan dengan memfiksasi sel menggunakan metanol kemudian dicat dengan campuran akridin oranye dan etidium bromida yang dapat berinteraksi dengan DNA maupun RNA. Hasil pengecatan ini dapat diamati di bawah mikroskop flouresens. Hasil pengecatan DNA terlihat bahwa sel kontrol mengandung DNA yang masih utuh, tampak terang dan berwarna hijau, berbeda dari sel dengan perlakuan

kadar 15 µg/mL tampak berwarna jingga terang dengan inti sel mengkerut terjadi *blebing* dan ada yang telah terfragmentasi atau tidak utuh lagi, menunjukkan terjadi kematian sel dengan mekanisme apotopsis.

Pada sel Myeloma kontrol tidak terjadi apotopsis karena regulator apotopsis pada sel Myeloma, yaitu protein p53 akan diikat dan didegradasi oleh protein E6 dari HPV (*Human Papiloma Virus*). Pada kadar fraksi 15 µg/mL mengindikasikan terjadinya mekanisme *cell cycle arrest* dan diduga ada kematian sel. Data pengecatan DNA dapat mendukung dugaan adanya kematian sel dengan kemungkinan melalui mekanisme apotopsis (Harwoko Dan Utami, 2010).

Warsinah *dkk.*, (2005) melaporkan bahwa ekstrak etanol kulit batang *Bruguiera gymnorhiza* (famili Rhizophora) secara in vitro mampu menghambat pertumbuhan sel kanker Hela dengan nilai LC_{50} 301,78 µg/mL dan sel Myeloma dengan LC_{50} Sebesar 582,00 µg/mL. Senyawa yang terkandung pada ekstrak etanol kulit batang *B. gymnorhiza* adalah terpenoid. Myeloma termasuk jenis sel kanker darah, yang merupakan kanker sel plasma. Sel plasma merupakan bagian penting dari sistem kekebalan tubuh yang memproduksi antibodi. Sel Myeloma diisolasi dari sumsum tulang. Sel ini akan merusak

dan melemahkan tulang sehingga penderita sulit bergerak. Myeloma juga dapat menyebabkan hiperkalsemia, mencegah sumsum tulang memproduksi sel plasma dan sel darah putih yang normal sehingga mempengaruhi sistem immun, selain itu juga dapat menghambat pembentukan sel darah merah sehingga menimbulkan anemia.

Nilai penghambatan LC_{50} (µg/mL) menggunakan larva *Artemia saline* ekstrak daun *R. mucronata* sebagai berikut: ekstrak Etanol 416,01, Fraksi kloroform 290,92, Fraksi etil asetat 292,46, Fraksi methanol 339,97. Sedangkan nilai LC_{50} ekstrak etanol daun *R. mucronata* terhadap sel kanker Myeloma. Nilai LC_{50} untuk ekstrak etanol 97,46, Fraksi kloroform 28,72, Fraksi etil asetat 172,65, Fraksi methanol 352,18 (µg/mL)

Pengecatan DNA perlu dilakukan untuk menunjukkan bahwa sel yang mati benar-benar disebabkan oleh efek toksik dari ekstrak yang diujikan yaitu ekstrak etanol *R. mucronata,* bukan dari pemberian dosis atau kadar yang terlalu tinggi. Pengecatan DNA dilakukan dengan menginkubasi masing-masing sel uji dengan perlakuan fraksi kloroform ekstrak etanol daun *R. mucronata* dibandingkan dengan kontrol positif. Hasil pengecatan DNA menunjukkan adanya peristiwa

apoptosis yang dialami oleh sel kanker Myeloma. Hal ini ditunjukkan dengan adanya sel berwarna jingga pada perlakuan dengan fraksi kloroform daun *R. mucronata*, sedangkan pada kontrol positif menunjukkan sel tetap hidup yang ditunjukkan dengan sel berwarna hijau terang (Hartiwi *dkk*., 2014).

9.4 Antidiabetes

Diabetes melitus adalah gangguan metabolisme dicirikan oleh hyperglycemima kronis dengan gangguan didalam metabolisme karbohidrat, lemak dan protein akibat kekurangan absolut atau relatif sekresi insulin. Pada diabetas fase postprandial dicirikan oleh peningkatan yang cepat tingkat glukosa darah, dan postprandil "hyperglicemik spike" relevan dengan kondisi phatophysiology dari type II diabetes. Mengkonsumsi penghambatan α-amilase dan α-glukosidase bersama-sama dengan diet akan menolong untuk mengatur hyperglicemik postprandial. Karena itu obat melawan hyperglicemik postprandial penting didalam mengatur kondisi phatophysiology diabetes melitus.

Xiancui *et al*., 2005 mengatakan bahwa Alpha-glukosidase adalah enzim yang penting untuk pencernaan dietary karbohidrat dan proses post-translasi glikoprotein,yang diabsorbsi melalui dinding usus menjadi glukosa darah. Dan

menyebabkan postprandial hyperglycemia. Telah diketahui bahwa penghambatan α-glukosidase dapat mencegah melawan beberapa penyakit seperti: diabetes, obesitas, hiperlipoproteinaemia, hiperlipidemia serta mempunyai aktifitas anti tumor dan HIV.

Diabetes mellitus adalah metabolism yang terganggu yang serius dengan komplikasi mikro vascular dan makrovaskuler yang menakutkan dan mematikan. Peroksidasi lipida diimplikasikan didalam pathogenesis yang terjadi secara alamiah atau diabetes yang diinduksi. Beberapa antioksidan pertahanan yang melawan produksi radikal bebas in-vitro. Streptozotocin sering digunakan untuk menginduksi diabetes mellitus didalam experiment hewan melalui pengaruh toxic pada β-sel pancreas. STZ induksi diabetes dihubungkan dengan pembentukan spesies reakktif menyebabkan kerusakan oksidatif. Diabetes dan model eksperimen menunjukkan stress oksidatif yang tinggi yang mengarah pada hyperglycemik yang terus menerus dan kronis yang menghabiskan aktifitas antioksidan pertahanan yang mengarah pada pembentukan radikal bebas denovo. Sifat antioksidan dan peredam radikal bebas dapat membantu didalam regenerasi β-sel pancreas. Buah berry sumber vitamin A,C,E,K, flavonoid, karotenoid,

asam organik mempunyai pengaruh perlindungan melawan oksidatif stress yang diinduksi oleh STZ (Sharma *et al*.,2011).

Dewasa ini penelitian tentang senyawa-senyawa bioaktif yang berperan sebagai antidiabetes telah banyak ditemukan. Beberapa senyawa antidiabetes mangrove dapat dilihat pada Gambar 35. Das *et al*, 2016, melaporkan fungsi senyawa-senyawa bioaktif pada mangrove sebagai berikut:

1. Alkaloids

   Alkaloid sebagai antihiperglikaemik yang berfungsi mengsekresi pankreatik insulin dari β sel atau memperlanjar transport gula darah ke jaringan peripheral. Aktifitas antidiabetes daun dan akar *Justia adhatoda* melawan tikus diabetes yang diinduksi dengan allozan. Jenis alkaloid seperti: xylogranatinin, granatoin, acanthicifolin dan trigonellin terdapat dalam mangrove *Xylocarpus granatum* dan *Acanthus sp*.

2. Polisakarida

   Pengaruh antihyperglycaemik polisakarida yaitu meningkatnya kadar insulin serum, mereduksi gula darah dan mendorong toleran pada glukosa. *S.alba* bersifat hypoglycaemik karena mengandung molekul polisakarida komplex.

3. Flavonoids

Flavonod terbukti penting sebagai pengobatan alternative diabetes, karena falvonoid dapat mencegah apoptosis β-sel, mendorong prolifarasi β-sel dan sekresi insulin dan memperkuat aktifitas insulin. Mangrove *Avicennia marina*, *X. granatum* dan *Bruguiera sexangula* kaya flavonoid seperti quercetin, kaempferol, katechin, epikatechin dan rutin, yang menunjukkan aktifitas hypoglycaemik

4. Saponins

Triterpenoid dan glikosida steroid tergolong saponins. mempunyai aktifitas hipoglycaemik potensil. *Avicennia marina* mengandung stigmasterol-3-O-β-d-galakto pyranosida dan α-amyrin yang mempunyai aktifitas antidiabetis; Asam bartogenik dari biji *Barringtonia racemosa* Roxb memiliki aktifitas penghambatan α-glucosidase, Pentasiklik triterpenoids seperti asam oleanolat, asam ursolat dan lupeol ditemukan pada *A. marina* dan *Sonneratia caseolaris* mempunyai aktifitas antidiabetik. Asam Oleanolat adalah senyawa aktif penghambat α-glucosidase dan antihyperglycemik buah *S. caseolaris*.

5. Senyawa fenolik

Senyawa fenolik menunjukkan aktifitas hipoglycaemik, tebukti dengan adanya peningkatan kadar serum insulin, meningkatkan sensifitas jaringan pada aktifitas insulin, menstimulasi penguraian enzim glukosa dan menghambat

aktifitas α-amylase. *B. racemosa* diteliti mengandung senyawa senyawa fenolik, seperti asam galat yang mempunyai aktifitas antidiabetes

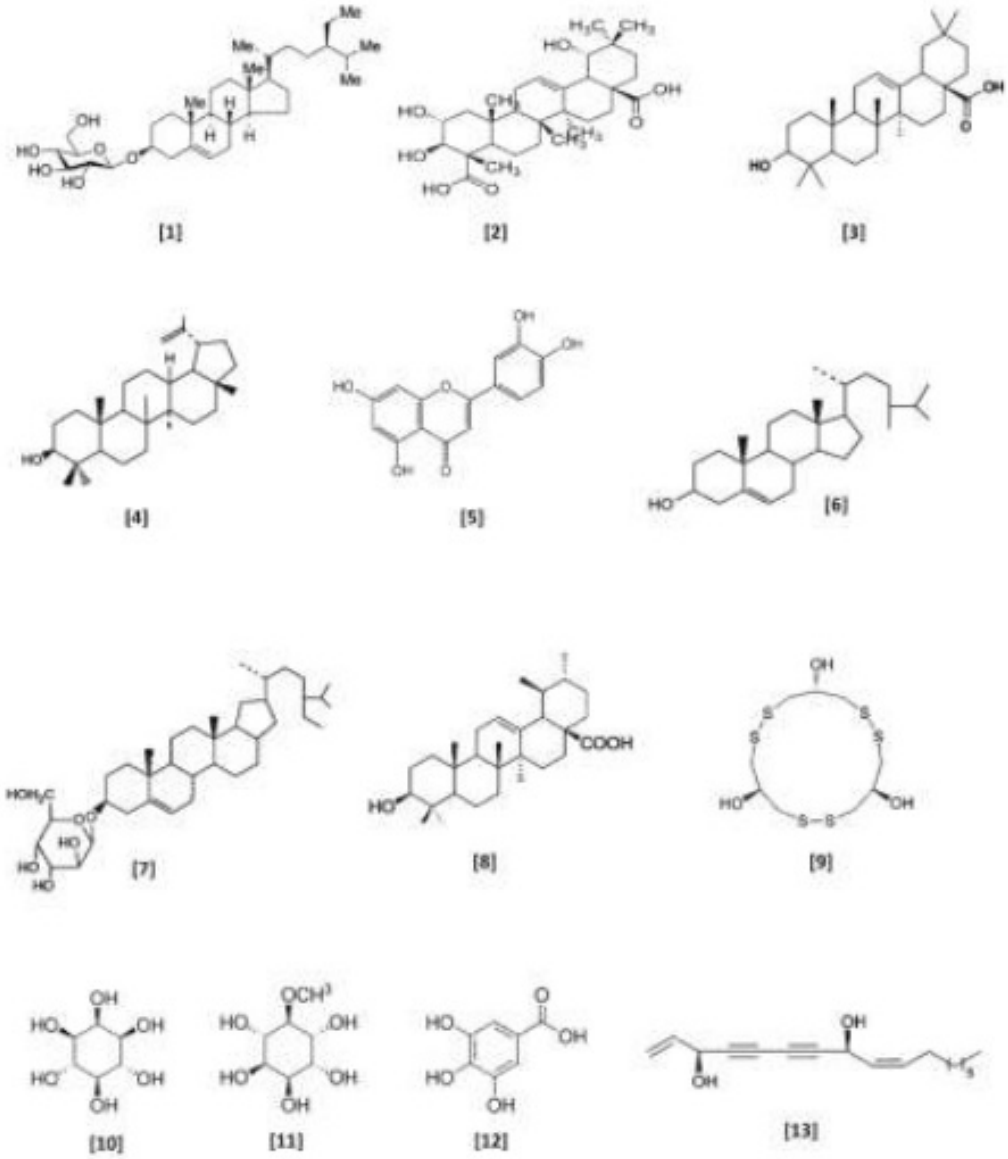
6. Tannins

Tannin penting peranannya didalam mencegah komplikasi diabetes dengan mereduksi pembentukan stress oksidatif. Daun *Psidium guajav* mempunyai pengaruh yang potensial pada diabetik myocardium. Famili *Avicenniaceae, Rhizophoraceae* dan *Sonneratiaceae* adalah sumber tannin yang kaya. *Xylocarpus moluccensis* kaya akan tannins *non-hydrolysable* seperti procyanidin decamer dan procyanidinundecamer

7. Senyawa-senyawa lain

Beberapa senyawa makrosiklik polidisulfida seperti gymnorrhizol terdapat pada *Bruguiera gymnorrhiza* dan polyacetylenes pada *Aegiceras corniculatum*. Gymnorrhizol sebuah makrosiklik polidisulfida pada Chinese mangrove *Bruguiera gymnorrhiza* juga memiliki aktifitas antidiabetes.

Batang *Aegiceras corniculatum* L. (mangrove hitam), family *Myrsinaceae* digunakan secara tradisional untuk pengobatan rheumatik, arthritis, peradangan, antioxidant, peredam radikal bebas dan sebagai hepatoprotektif.



Gambar 35. Beberapa senyawa antidiabetes mangrove

(1.β-Sitosterol-3-O-β-D-glukopiranosida; 2. Asam bartonat; 3.Asam oleanolat; 4.Lupeol; 5.Luteolin; 6.β-Sitosterol; 7.β-sitosterol-β-D-glukosida; 8. Asam urosolat (R=COOH); 9.Gymnorrhizol; 10.Inositol; 11.Pinitol; 12. Asam galat; 13. Falcarindiol) (Das *et al*., 2016).

Ekstrak etanol daun *A. corniculatum* mengatur kadar glukosa darah. Mengatur gula darah tikus diabetes yang diinduksi aloxan dengan dosis of 100 mg/kg. Mempebaiki berat badan tikus diabetes yang diinduksi dengan aloxan, diamati bersama-sama dapat menurunkan akifitas glucose-6-phosphatase, fructose 1,6-bisphosphatase dan glycosylated haemoglobin.

Ekstrak etanol *Acanthus ilicifolius* (*sea holly*) family *Acanthaceae* yang diberikan secara oral yang diberi makan glukosa dan alloxan pada tikus diabetes *dengan* dosis 200 dan 400 mg/kg berat badan, signifikan mereduksi kadar gula darah menjadi normal pada tikus hyperglycaemik. Flavonoids, alkaloids, terpenoids, tannins dan steroids pada ekstrak akar mempunyai aktifitas hypogycaemik.

Ekstrak etanol daun *Aotal marina*, family *Avicenniaceae* (250 and 500 mg/kg) untuk pengobatan tikus diabetes selama 15 hari, signifikan menurunkan kadar gula darah, bersama-sama dengan meningkatnya total haemoglobin, protein dan kadar insulin serum. Ekstrak daun *Aotal marina* dapat mereduksi kadar urea serum yang menegaskan kemampuan melindungi jaringan vital seperti ginjal, hati dan pankreas, juga memperbaiki parameter biokimia seperti serum fosfor albumin dan globulin. Aksi antihyperglycaemik *A.*

marina yaitu menstimulasi ketahanan β-cells melepaskan insulin lebih. Triterpenoids seperti stigmasterol-3-*O*-β-d-glucopyranosida adalah senyawa hypoglycaemik yang mungkin bertanggung jawab sebagai antiglikasi.

Barringtonia. *racemosa* (*evergreen mangrove*), famili *Lecythidaceae,* kulit dan daunnya sudah digunakan secara tradisional untuk antikanker, analgesik, antibakteria, antikolik dan anti jamur. Batang dan akar *B*. *rasemosa* mengandung beberapa komponen senyawa seperti asam 3,3′-dimethoxy ellagat, dihydromyticetin, asam gallat , asam bartogenat, stigmasterol, olean-18-en-3-β-*O*-ecoumaroylester dan ester olean-18-en-3-β-*O*-Z-coumaroyl bersama-sama dengan germanicol, germanicone, asam betulinat, lupeol, taraxerol, neo-clerodane jenis diterpenoids, nasimalun A dan B.

Ekstrak heksana, etanol, metanol biji *B*. *racemosa* mempunyai aktifitas penghambatan α-glucosidase dan α-amylase. Penghambatan α-glucosidase dan amylase oleh asam bartogenat yang diisolasi dari biji *Barringtonia racemosa* Roxb. Oleanane, isomerik triterpenoids dari *Barringtonia racemosa* bersifat antidiabetes demikian juga pentasiklik triterpenoid, asam bartogenat didalam ekstrak metanol *Barringtonia racemosa* bersifat antidiabetes.

Ekstrak etanol kulit *Bruguiera gymnorrhiza,* family *Rhizophoraceae* menunjukkan pengaruh antihyperglycaemik pada tikus diabetes yang diinduksi dengan streptozotocin (STZ). Senyawa fitokimia antidiabetes potensial meliputi: bruguierol, β-sitosterol, α-amyrin, β-amyrin, lupeol, asam oleanolat, asam ursolat, taraxerol, gymnorhizol dan asam ellagat. Pemberian ekstrak ethanol kulit (400 mg/kg) untuk 21 hari dilaporkan signifikan mereduksi tingkat gula darah tikus diabetes yang diinduksi STZ, dibandingkan dengan obat standart glibenclamide 0.5 mg/kg. Juga diikuti dengan penurunan total kolesterol, triglycerida, *very low density lipoprotein, low density lipoprotein* bersama sama dengan peningkatan *high density lipoprotein*.

Genus *Ceriops* (*Ceriops decandra*, *Ceriops tagal* , family *Rhizosphoraceae*) Etanol ekstrak daun *Ceriops decandra,* family *Rhizosphoraceae* (120 mg/kg) signifikan menurunkan glukosa serum pada tikus yang diinduksi dengan aloxan secara oral (Obat standart glibenclamide 0.1 mg/kg). Ekstrak hydroalkohol kulit *C. tagal* potensial menghambat α-glucosiadase.

Excoecaria agallocha, family *Euphorbiaceae* menunjukkan aktifitas antihyperglycemik. *E. agallocha*

mengandung b-amyrin asetat, triterpenoids dan steroids. Ethanolik ekstrak daun *E. agallocha* signifikan menunjukkan aktifitas hypoglycaemik dengan keberadaan flavonoids, triterpenoids, alkaloids and phenolics.

Ekstrak metanol kulit *H. fomesmereduksi (family* Sterculiaceae) setelah pemberian 60 menit menurunkan glukosa serum 49.2% dengan dosis 250 mg extract/kg body berat badan, dengan penggunaan glibenclamide penurunan glukosa serum 43.5%

Genus *Rhizophora*, family Rhizosphoraceae terdapat 10 species, genus *Rhizophora* berperan sebagai antidiabetes yaitu: *R. apiculata*, *R. annamalayana* dan *R. mucronata*. Ekstrak etanol akar *R. apiculata* mempunyai aktifitas antihyperglycaemic pada 250 mg/kg tikus. Purifikasi dan isolasi diperoleh 7 senyawa murni (lupeol, oleanolic acid, β-sitosterol, asam palmitat, β-sitosterol-β-d-glucosida, inositol dan pinitol. inositol dan pinitol) menunjukkan aktifitas pada model STZ model 100 mg/kg. Antidiabetik *R. mucronata*, karena kapasitasnya menghambat pencernaan dan absorbsi karbohidrat.

Nypa fruticans (*Arecaceae*) adalah mangrove palm digunakan secara tradisional di Bangkok. Ekstrak methanol

daun dan kulit 500 mg/kg, signifikan antihyperglycaemic pada tikus diabetes.

Genus *Sonneratia*, family *Lythraceae*. Buah *S. caseolaris* telah banyak digunakan untuk terapi *folklore medicine* (Bandaranayake, 2002). Senyawa-senyawa seperti asam oleanolat, β-sistosterol-β-d-glucopyranosida dan luteolin yang diisolasi dari ekstrak methanol buah menunjukkan penghambatan α-glucosidase. Asam Oleanolat sebagai penghambat α-glucosidase dan sebagai senyawa aktif antihyperglycemik dari buah *S. caseolaris*.

Aktifitas antihyperglycaemic disebabkan karena sejumlah factor seperti menurunnya absorbs gula intestinal meningkatnya sekresi pankreatik, glukosa uptake, insulin sekresi dan kontrol gliceamik lebih baik. Ekstrak daun *S. alba* significant mereduksi tingkat gula darah enam jam pertama (19.2%) dan 12 h (66.9%) pada tikus diabetes.

Genus Xylocarpus, famili *Meliaceae*, terdapat 3 spesies yaitu *X. granatum, X. mekongensis* dan *X. moluccensis*. Aktifitas antihyperglycemik dan antidyslipidemik ekstrak etanol *X. granatum* berpengaruh merendahkan gula darah dan memperbaiki resisten insulin. Biomarker umum diabetes (*glucose-6-phosphatase, phosphorfructokinase, phosphoenol*

pyruvate carboxy kinase, pyruvate kinase, laktate dehydrogenase dan *glycogen phosphorylase)* dari hati dan ginjal pada tikus yang dinduksi STZ, mengalami normalisasi sesudah pengobatan oral dengan dosis 250 mg/kg selama 3 minggu. Pengaruh antidiabetes karena meningkatnya pelepasan insulin dan penghambatan α-glucosidase. Fraksi etil asetat epikarp *Xylocarpus* signifikan meningkatkan baik insulin serum dan HDL. Memperbaiki fungsi hati dan ginjal dengan menurunnya AST, ALT, urea, asam urat dan keratin. Serta memperbaiki beberapa enzim regulator metabolism karbohidrat didalam otot, hati dan jaringan ginjal tikus diabetes yang diinduksi dengan STZ, seperti *glucokinase, phospho-fructokinase, pyruvate kinase, glucose-6-phosphatase, fructose-1,6-bisphosphatase* dan *glycogen phosphorylase*.

9.5. Anti bakteri

Pada penelitian menunjukkan bahwa ekstrak buah Rhizophora *mucronata* yang sering disebut sebagai mangrove asia menunjukkan aktifitas antimikroba yang sangat kuat terhadap *Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus, Candida albicans, Aspergillus fumigatus* dan *Aspergillus niger*, dan cukup efektif dalam menghambat pertumbuhan *Pseudomonas*

aeruginosa dan *Proteus vulgaris* (Kusuma *dkk*., 2011). Hasil yang sejalan ditemukan dalam penelitian terpisah oleh Ravikumar *dkk*. (2010) yang menemukan bahwa ekstrak *Rhizophora mucronata* dan *Avicenna marina* menunjukkan aktifitas yang tinggi terhadap isolasi bakteri *Escherichia coli, P aeruginosa, Klebsilia pneumonia, Enterobacter sp*. dan *Streptococcus aureus*. Dari bagian-bagian tanaman yang diekstrak ditemukan bagian hipokotil memiliki aktifitas tertinggi dibandingkan dengan ekstrak bunga maupun bagian ranting.

Penelitian Saad *dkk*. (2012), menunjukkan adanya aktifitas antimikrobial dari bagian-bagian tanaman *Sonneratian alba*, khususnya terhadap *E. Coli, S. Aureua* dan *B. aureus*. Lebih jauh ditemukan oleh Mahadlek (2012) bahwa pada *Sonneratia caseolaris* terdapat komponen fenolik yang bertanggung jawab terhadap aktifitas antimikroba, yakni asam gallat dan dua jenis flavonoid yakni luteonin dan luteolin 7-O-β-glycoside. Ekstrak *Sonneratia caseolaris* aktif menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*, tetapi tidak dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*. Demikian juga pada ekstrak daun *Avicennia marina*, memiliki

aktifitas sebagai antimikroba alami (Alizadeh-Behbahani dkk (2012)

Beberapa ilmuwan menyebutkan bahwa bioaktif yang terdapat dalam bagian-bagian mangrove tersebut tidak selalu berasal dari tanaman mangrove itu sendiri, tetapi dapat berasal dari makhluk lain yang mensintesis bioaktif tersebut didalam bagian mangrove tersebut. Berdasarkan asumsi ini maka dapat diduga bahwa kemungkinan terdapat jamur atau bakteri endofit yang mendiami tumbuhan tersebut dan berperan sebagai penghasil bioaktif yang sebenarnya. Studi terakhir menunjukkan bahwa tumbuhan mangrove adalah sumber yang kaya jamur endofit. Jamur endofit diketahui sebagai sumber metabolit sekunder yang melimpah. Banyak jamur endofit menproduksi metabolit sekunder yang sangat menarik dari segi aktivitas maupun struktur kimianya. Metabolit sekunder jamur endofit mempunyai aktifitas sebagai antibiotik dan sitotoksik. Dalam akar akar mangrove *Sonneratia caseolaris* telah dapat diisolasi jamur *Penicillium sp*. R1M (Asep, 2011).

Untuk mengetahui aktivitas antibakteri akar mangrove *S. caseolaris* dan isolat *Penicillium sp*. R1M yang merupakan salah satu jamur endofit akar *S. caseolaris*. Perbandingan inang (akar) dan jamur endofit ini akan menunjukkan asal bioaktif

antibakteri yang sesungguhnya. Metode cakram digunakan untuk mengukur aktivitas anti bakteri kedua sampel terhadap *S. aureus* ATCC 9144 dan *E. coli* ATCC 8739. Hasil Penelitian menunjukkan bahwa kedua sampel menunjukkan aktivitas penghambatan bakteri. Akar mangrove *S. caseolaris* menghasilkan penghambatan terhadap *S. aureus* ATCC 9144 sebesar 6,8 ± 0,8 mm dan pada E. coli ATCC 8739 sebesar 6,6 ± 0,9 mm. Sedangkan *Penicillium sp. R1M*. menghasilkan daya hambat terhadap *S. aureus* ATCC 9144 dan E. coli ATCC 8739 berturut turut adalah 7,1 ± 0,8 mm dan 7,7 ± 0,6 mm. Hasil ini menunjukkan bahwa isolat *Penicillium sp. R1M* lebih baik dalam menghambat bakteri *S. aureus dan E. coli*.

Aktivitas antibakteri ekstrak daun *A. marina* terhadap *S. aureus* menunjukkan hasil rata-rata diameter zona bening sebesar 4,43 – 5,79 mm dan terhadap *Vibrio alginolyticus* sebesar 4,25 – 5,48 mm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun mangrove *A. marina* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *V. alginolyticus*. Perbedaan habitat tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kemampuan daya hambat, tetapi pada komposisi senyawa bioaktif (Ridha dan Yamindago, 2014)

DAFTAR PUSTAKA

Abs. 2016. Adeno-associated virus Introduction. Retrieved from https://www.abmgood.com/ marketing/knowledge_base/ Adeno_Associated_Virus_Introduction.php.

Acoh, C.C. and Min B.D. 1997. Food Lipid Chemistry. In Nutrition Biotechnology, New York: Marcel Dekker Inc.

Ahn, C.B., Joon Y.J.and Kang D.S. 2004. Free Radical Scavenging Acrivity of Enzymatic Extract from a Brown Seaweed Scytophonlomentaria by Electron Spin Resonance Spectrometry. Journal of Food Research International 37: 253-258.

Alberts B.. Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walters P. (2002). Molecular Biology of the Cell; Fourth Edition. New York and London: Garland Science.

Alice Pramashinta1, Listiyana Riska1, Hadiyanto. 2014. Bioteknologi Pangan: Sejarah, Manfaat dan Potensi Risiko Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan 3 (1)

Alice Pramashinta A, Listiyana Riska, Hadiyanto2 Phillips H.SC. 1994. Genetically engineered foods: do they pose health and environmental hazards? CQ Researcher. 4(29):673–96.

Almazini P. 2011. aplikasi-nutrigenomik-dalam-terapi-penyakit Retrieved https://myhealing.wordpress.com/2011/11/05/

Arsal, A. Farida. 2007. *Bioteknologi Modern*. Makassar Universitas Negeri Makassar.

Asep Awaludin Prihanto . 2011. *Aktivitas antibakteri akar mangrove Sonneratia caseolaris dan Penicillium sp. R1M terhadap*

Staphylococcus aureus dan Eschericia coli. 2nd National Conference on Green Techno. EcoTechnology For Sustainable Living. ISBN: 978 – 602 – 97320 – 2 –

Baldor. (2012). Gene therapy. Retrieved from http://www.anthonybaldor.com/thoughtsand-notes/bioblog/gene-therapy/

Baratawidjaja, Karnen Garna. 2006. *Imunologi Dasar*. Jakarta : Balai Penerbit FKUI

Bandarnayake, W.M. 2002. Bioactivities, bioactive compounds and chemal constitu-ents of mangrove plants. Wetlands Ecol. Manage. 10: 421-452.

Becker V.M., and Hardin J.2000. The World of the cell. 4 th edition. The Benjamin Cunning Publ.Co. San Fransisco.

Blunt, J.W., Copp, B.R, Munro, M.H.G., Northcote, P.T. and Prinsep, M.R.2006. Marine Natural Products. Nat. Prod Rep, 20:1–48

Bondioli,K.R, Biery, KA., Hill, KG., Jones, KB. and De Mayo, F.G., 1991. *Production of Transgenic Cattle by Pronuklear Injection in "Transgenic Animals*. pp. 265 - 273.

Boopathy, N.S. and Kathiresan, K. 2010. Anticancer Drugs from Marine Flora: An Overview.Journal of Oncology. 18 pages.

Borges de Melo, E., Gomes A. and Carvalho, I., 2006. α- and β-Glucosidase inhibitors: Chemical structure and biological activity. *Tetrahedron*, 62, 10277-10302.

Butler, John M. 2001. Forensic DNA Typing. Elsevier.

Campbell N.A., Reece J.B. dan Mitchell L.G. 2002. Biologi. Erlangga. Jakarta.

Chakraborty K., Praveen N.K, Vijayan K.K. and Rao G.S. 2013. Evaluation of phenolic contents and antioxidant activities of brown seaweeds belonging to *Turbinaria* spp. (Phaeophyta, Sargassaceae) collected from Gulf of Mannar Asian Pac J Trop Biomed.

Chandini S, P Ganesan and N Bashar, In Vitro Activity Antioksidant of Three Selected Brown Sea weeds of India. Journal Direct Science Food Chemistry. 107 (2008) 707-713.

Chaterine. (2010). Human chromosomes and karyotype. Retrieved from http://genegeek.ca/2010/11/human-chromosomes-andkaryotype/

Chew,Y.L.,Lim, Y.Y.,Omar,M. and Khoo, K.S. 2008. Antioxidant Activity of Three Edible Seaweeds from Two Areas in South East Asia. Science Direct LWT, 41: 1067-1072.

Chotimah S.N, Riyadi P.H dan Romadhon. 2016. Efektivitas Larutan Alginat Dalam Menurunkan Kandungan Logam Berat Kadmium Pada Daging Kerang Hijau (*Perna Viridis*) J. Peng. & Biotek. Hasil Pi. Vol. 5 No. 4 Th. 2016 Issn : 2442-4145.

Clarke, Cyril A. 1996. Genetika Manusia dan Kedokteran. Jakarta: Widya Medika.

Cornish L.M., and Carbary D.J., 2010. Antioxidant from macro-algae: potential applications in human health and nutrition. 25(4):1-17.

Crowder, L. V. 1998. Genetika Tumbuhan Yogyakarta: Gadjah Mada University.

Cutfield, W.S.; Hofman, P.L.; Mitchell, M.; Morison, I.M. Could epigenetics play a role in the developmental origins of health and disease? Pediatr. Res. 2007, 61, 68R–75R.

Das S.K., Samantaray D., Patra J.K., Samanta L. and Thatoi H. 2016. Antidiabetic potential of mangrove plants: a review Frountier in life Science. Volume 9. No.1.

Devi G.K., Manivannan K. , Thirumaran G., Arockiya F., Rajathi A., Anantharaman P. 201 In vitro antioxidant activities of selected seaweeds from Southeast coast of India Asian Pacific. Journal of Tropical Medicine 205-211 205

Diastuti, H., Warsinah, Purwati, 2008, Isolasi Senyawa Bioaktif pada Tanaman *Rhizopora mucronata* sebagai Bahan Antikanker, Lembaga Penelitian UNSOED,

Edward, K.L. 2011. Obesity, nutrient, and nutrigenomic [citated October, 2011]. Available from: http://depts.washington. edu/cgph

EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on establishing Food-Based Dietary Guidelines. EFSA J. 2010, 8, 1460–1502.

Ellouali M., Boisson-Vidal C., Durand P., and Jozefonvicz J., "Antitumor activity of low molecular weight fucans

extracted from brown seaweed. Anticancer Research, vol. 13, no. 6, pp. 2011–2019, 1993.

Fatchiyah. 2013. Nutrigenomik: Strategi Cerdas Regulator Mekanisme Interaksi Genomik dan Nutrisi dalam Penanganan Kesehatan di Masa Depan. Universitas Brawijaya, Malang.

Fatchiyah F. Caprine milk alpha-S2 casein protein of ethawah breeds is able to enhance biological activities related with gene susceptibility of human disease regulation. 3rd International Conference on Endocrinology November 02-04, 2015 Georgia, Atlanta, USA.dengan topik http://endocrinology.conferenceseries.com/scientific-program.php?day=1&sid=923&date=2015-11-02

Fairbanks, D. J. & Andersen. 1999. Genetics : The continuity of life. Brooks/Cole Publishing Company, Pacific Grove:xii + 617 hlm.

Fereira L.G., M.D. Noseda, M.D., A.G. Goncalves, D.R.B. Ducatti, M.T. Fujii, M.E.R.

Duarte. 2012. Chemical Structure of the complex pyruvilated and sulfated Agaran from the redseaweed Palisada flagelifera (Ceramiales, Rhodophyta). Carbohydra. Res. 347, 83-94.

Ganesan P, C.S Kumar and N Baskar, 2008. Antioksidant Properties of Methanol Extract and Its Solvent Fraction Obtain From Selected Index Red Sea Weeds. Journal Science Direct. Bioresources Technology 99(2008) 2717-2723.

Giri, C., Ochieng, E., Tieszen, L.I., Zhu, Z., Singh, A., Loveland, T., Masek, J. dan Duke, N. 2011. Status and Distribution of Mangrove Forests of The World Using Observation Satellite Data. Glob. Ecol. Biogeogr. 20, 154-159 (2011.

Gordon I. 1994. *Laboratory Production of cattle embryos*. Cab International Walingford

Gupta, S. and Abu-Ghannam, N. 2011.Bioactive Potential and Possible Health Effects of Edible Brown Seaweeds.Trends Food Sci. Technol.,22: 315-326.

Hanafi, Arif Riswahyudi dan Elisna Syahruddin. *Antibodi Monoklonal dan Aplikasinya Pada Terapi Target (Targeted Therapy) Kanker Paru*. Jakarta : Departemen Pulmonologi dan Ilmu Kedokteran Respirasi FKUI-RS Persahabatan.

Handayani S.S., Gunawan E.R., Lely Kurniawati L., Mumiati dan Budiarto L.H. 2013 Analisis Asam Lemak Omega-3 dari Minyak Kepala Ikan Sunglir (*Elagatis bipinnulata*) melalui Esterifikasi Enzimatik. Jurnal Natur Indonesia 15(2), 75–83 ISSN 1410-9379

Hartiwi Diastuti, Warsinah , Purwati Uji Aktivitas Antikanker Ekstrak Etanol Daun Rhizopora Mucronata Terhadap Sel Myeloma, J. Molekul. Vol.3 .No.2 Issn 1907-9761

Harumarani S., Ma'ruf W.F., Romadhon. 2016. Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Gliserol Pada Karakteristik *Edible Film* Komposit *Semirefined* Karagenan *Eucheuma Cottoni* Dan *Beeswax*. J. Peng. & Biotek. Hasil Pi. Vol. 5 No. 1 Th. 2016 Issn : 2442-4145

Herawati, N, Jalaludin, N, La Daha dan Zenta F. 2011. Potensi Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Mangrove *Sonneratia alba*. Majalah Farmasi dan Farmakologi. Vol. 15 No. 1. hal: 23–25.

Ho, E.; Zempleni, J. Overview to symposium "Nutrients and epigenetic regulation of gene expression". J. Nutr. 2009, 139, 2387–2388. neurodevelopment. Br. J. Nutr. 2012,107, S85–S106.

Holdt, S.L. and Kraan, S. 2011. Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation. *Journal of Applied Phycology*, 23 (3), 543-597.

Huang, D., Ou,B. and Prior,R.L..2005.The Chemistry Behind Antioxidant Capacity Assays.*J Agric Food Chem*. 53: 1841-1856.

Hurlimann, T.; Menuz, V.; Graham, J.; Robitaille, J.; Vohl, M.C.; Godard, B. Risk of nutrigenomics and nutrigenetics? What the scientists say. Genes Nutr. 2014, 9, 370.

Kim M.H. and Joo H.G. 2008. Immunostimulatory effects of fucoidan on bone marrow-derived dendritic cells," Immunology Letters, vol. 115, no. 2, pp. 138–143.

Kuda, T.T., Sunekawa, M.,Goto,H.and Araki Y. 2005. Antioxidant Properties of Four Edible Algae Harvested in the Noto Peninsula, Japan. JFood Compos Anal 18:625-633.

Manilal A., Sujith S., Kiran G.S., Selvin J., Shakir C. 2009. Cytotoxic Potentials of Red Alga, *Laurencia brandenii*

Collected from the Indian Coast Global Journal of Pharmacology, 3 (2): 90-94.

McLaughlin, J.L.and Rogers, L.L. 1998. The use of biological assay to evaluate botanicals.Drug Information Journal. 32:513-524.

Jacoeb A.M, Sri Purwaningsih S., Rinto. 2011. Anatomi, Komponen Bioaktif Dan Aktivitas Antioksidan Daun Mangrove Api-Api (*Avicennia Marina*). Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia. Vol. XIV N0.2. 143-152.

Juono dan Juniarto. 2003. Biologi Sel. Penerbit EGC.

Judarwanto W., pediatrician https://klinikgizi.com/2016/02/13/epigenetik-gizi-diet-merubah-ekspresi-genetik/

Keunzer, C., Bluemel, A., Gebhardt , S., Quc., T.V. and Dech, S. 2011. Remote Sensing of Mangrove Ecosystems: A Review. Remote Sensing 3: 878-928.

Kim, K.N., K.W. Lee, C.B. Song, C.B. Ahn and Y.J. Jeon, 2006. Cytotoxic activities of red algae collected from Jeju island against four tumor cell lines. J. food Science and Nutrition, 11: 3.

Klug, W. S. & M. R. Cummings. 1994. Concepts of genetics. 4th ed. Prentice Hall, Inc., Englewood Cliffs: xvi + 779 hlm.

Kontsek P. and Kontseková E. 1997. "Forty Years Of Interferon" *Acta virologica* 41: 349–353

Kuda TT, Sunekawa M, Goto H, Araki Y. Antioxidant properties of four edible algae harvested in the Noto Peninsula, Japan. J Food Compos Anal 2005; 18:625-633.

[17] Lim SN, Cheung PCK, Ooi VEC, Ang PO. Evaluation of tioxidative activity of extracts from brown seaweed, Sargassum siliquastrum. J Agric Food Chem 2002; 50: 3862-3866.

Matanjun, P., S. Mohamed, N.M. Mustapha, K. Muhammad and C.H. Ming, 2008. Antioxidant activities and phenolics content of eight species of seaweeds from north Borneo. *J. Appl. Phycol.*, 20: 367–373

Larry W. Moreland (2004). *Rheumatology and immunology therapy: A to Z essentials*. Springer. ISBN 978-3-540-20625-5.Page.473-476

Liotto, N.; Miozzo, M.; Giannì, M.L.; Taroni, F.; Morlacchi, L.; Piemontese, P.; Roggero, P.; Mosca, F. Early nutrition: The role of genetics and epigenetics. Pediatr. Med. Chir. 2009, 31, 65–71.

Iis. 2010. Nutrigenomik dan perkembangannya [disitasi September 2011]. http://bataviase.co.id/node/ 449611

Liao, K. and Yin, M. 2000. Individual and combined antioxidant effects of seven phenolic agents in human erythrocyte membrane ghosts and phosphatidylcholine liposome systems: importance of the partition coefficient, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48:2266-2270.

Lopes, G., Sousa, C., Silva, L.R., Pinto, E., Andrade, P.B., *et al*.2012. Can Phlorotannins Purified Extracts Constitute a Novel Pharmacological Alternative for Microbial Infections with Associated Inflammatory Conditions? PLoS ONE, 7(2): e31145.

Loos, R. J. and C. Bouchard (2003). J Intern Med 254(5): 401-25. And http://www.artikelmagazin.de.

Maligan J.M., Kusuna D.A dan Kusnadi J. 2016. Isolation of antimicrobial Activity from Microalgae Tetraselmis chuii Extract as a New Source of Functonal Food. International Conference Food Innovation: AEC Challenges. Sept 21-22. Jakarta-Indonesia. 122 hal.

Marks, A.D.; Smith, C.M. (2000). Biokimia Kedokteran Dasar: Sebuah Pendekatan Klinis. Diterjemahkan oleh B.U. Pendit. Jakarta: EGC.

Mead, M.N. Nutrigenomics: The genome food-interface. Environ. Health Perspect. 2007, 115, A582–A589.

Melo, E.B., da Silveira Gomes, A. and Carvalho, I. 2006. α- and β-glucosidase inhibitor: chemical structure and biological activity. *Tetrahedron*, 62, 10277-10302.

Miesfeld, R. L. (2000). Gene therapy. Retrieved from http://cbc.arizona.edu/cla sses/bioc471/pages/Lecture24.html

Misra, S. (2013). Human gene therapy: a brief overview of the genetic revolution. *Journal of the Association of Physicians of India*, 61, 41-47.

Moreno, J.A.; Pérez-Jiménez, F.; Marín, C.; Gómez, P.; Pérez-Martínez, P.; Moreno, R.; Bellido, C.; Fuentes, F.; López-Miranda, J. Apolipoprotein E gene promoter −219G→T polymorphism increases LDL-cholesterol concentrations and susceptibility to oxidation in response to a diet rich in saturated fat. Am. J. Clin. Nutr. 2004, 80, 1404–1409

Meindrawati B. Suyatma N.E., Muchtadi T.R. and Iriati E.S. 2016. Nanocomposite Coating Based on Carrageenan and ZnO Nanoparticles to Maintain the Storage Quality of Mango. International Conference Food Innovation: AEC Challenges. Sept 21-22. Jakarta-Indonesia. 122 hal.

Niemann, H. and W.A. Kues, 2000. Transgenic Livestock : Premises and Promises. *J. Anim. Reprod. Sci*. 60 : 277 - 293.

Noor, Y.R., Khazali, M. dan Suryadipura, I.N.N. 2006. Panduan Pengenalan Mangrove di Indonesia. Wetlands International – Indonesia Program.

Nurjana S. Yuswita L. Winiati P and Rahayu. 2016. Identifikasi Lysteria monocytogenes dan dan kysteria spp in Fish-based Snack. International Conference Food Innovation: AEC Challenges. Sept 21-22. Jakarta-Indonesia. 110 hal

Oregon National Primate Research. (2015). Germline engineering. Retrieved from http://genetherapyinthefuture.weebly. com/lab-techniques.html.

Pai, C Ana. 1982. Dasar-dasar Genetika . Jakarta: Erlangga.

Paputungan Z, Wonggo D.,Kaseger B.E. 2017. Uji Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Buah Mangrove *Sonneratia Alba* Di Desa Nunuk Kecamatan Pinolosian Kabupaten Bolaang Mongondow Selatan. J. Media Teknologi Hasil Perikanan. Vol. 5, No. 3.

Pokorsny, J., Yanishlieva,N. and Gordon, M. 2001, Antioxidants in Food: Practical applications, Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, pp. 22-69.

Prabhasankar, P.P.,Ganesan, Bhaskar,N., Hirose,A., Stephen,N.,Gowda,L.R. and Miyashita K. 2009. Edible Japanese Seaweed, Wakame (Udariapinnatifida) asan ingredient in pasta. Food Chem:115:501-508.

Radji, Maksum. 2010. *Imunologi dan Virologi*. Jakarta: PT. Penerbit ISFI.

Raharjo S. Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada http://adiwirasta.blogspot.co.id/2006/09/nutrigenomik-era-baru-ilmu-pangan-dan.html.

Ridha Handriany Danata 1, Ade Yamindago 2014. Analisis Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Mangrove Avicennia Marina Dari Kabupaten Trenggalek Dan Kabupaten Pasuruan Terhadap Pertumbuhan. J. Kelautan Vol.7no.1 Issn 1907-9931.

Russel, Peter J. 1994. Fundamentals of genetics. Harper Collins College Publishers, Inc., New York: xvi. 528 hlm.

Saeidnia S., Gohari A.R, Shahverdi A.R., Permeh P., Nasiri M., Mollazadeh K. and Farahani F. 2009. Biological activity of two red algae, *Gracilaria salicornia* and *Hypnea flagelliformis* from Persian Gulf. Phcog. Res. 1: 428-430.

Sanger G. Widjanarko, S.B., Kusnadi, J. and Berhimpon S. 2013 Antioxidant Activity of Methanol Extract of Seaweeds Obtained from North Sulawesi. 2013. Food Science and QualityManagement. Vol. 19. ISSN 2224-6088 (Paper).

Saputra, K., Ma'at, S., and Soedoko, R., 2000. Terapi Biologi Untuk Kanker. Airlangga University Press. Surabaya.

Sellami M., Rebah F.B., Gargouri Y., Miled N., 2014. Arabian Journal of Chemistry Lipid composition and antioxidant activity of liver oils from ray species living in Tunisian coasts.

Sherwood, Lauralee. 2011. *Fisiologi Manusia : Dari Sel ke Sistem.* Jakarta : EGC.

Siriwardhana, N., Lee, K.W., Kim, S.H., Ha J.W. and Jeony, J.2003. Antioxidant activity of Hizikiafusiformis on Reactive Spesies Oxygen Scavenging and Lipid Peroksidasi Inhibition.FoodScience Technology International, 9,339-347.

Stansfield, W.D, Jaime S.C, Raul J.C. 2006. Biologi Molekuler dan Sel . Jakarta: Erlangga

Stover, P.J.; Caudill, M.A. Genetic and epigenetic contributions to human nutrition and health: Managing genome-diet interactions. J. Am. Diet. Assoc. 2008, 108, 1480–1487.

Suryo. 1990. Genetika strata 1. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta: xvi + 344 hlm. University Press, Yogyakarta: xvi + 540 hlm.

Suryo,1984.Genetika Manusia. Yogyakarta: UGM. Yatim.

Sutarno. 2016. Rekayasa Genetik Dan Perkembangan Bioteknologi Di Bidang Peternakan Proceeding Biology Education Conference (ISSN: 2528-5742), Vol 13(1). 23-27

Sutarno, Cummins, J.M., Greeff, J., Lymbery, A.J. (2002). Mitochondrial DNA polymorphisms and fertility in beef cattle. Theriogenology, an International Journal of Animal Reproduction 57: 1603-1610.

Sutarno (2015). Genetika Non-Mendel. DNA mitokondria dan perannya dalam produksi hewan dan kelainan pada manusia. ISBN no 978-979-498-872-5. UNS Press, Solo.

Swaran J.S. Flora* and V.Pachauri. 2010. Chelation in Metal Intoxication. Int. J. Environ Res Public Health,7(7): 2745–2788.

Tammen, S.A.; Friso, S.; Choi, S.W. Epigenetics: The link between

nature and nurture. Mol. Aspects Med. 2013, 34, 753–764.

US National Institute of Health. (2016). Discovery of key component of HIV virus yields new drug target. Retrieved from http://medicalxpress.com/news/2016-08-discovery-key-component-hiv-virus.html.

Vasanthi H.R., Rajamanickam G.V., and Saraswathy A.2004. Tumoricidal effect of the red algae *Acanthophora spicifera* on Ehrlich's ascites carcinoma in mice Seaweed Res. Util Net, pp. 217–224, 2004.

Waterland, R.A.; Michels, K.B. 2007. Epigenetic epidemiology of the developmental origins hypothesis.Annu. Rev. Nutr. 27, 363–388.

Waye, M. M. Y., & Sing, C. W. (2010). Antiviral drugs for human adenoviruses. *Pharmaceuticals*, 3, 3343-3354.

Widyastuti D.A. 2016. Terapi Gen: Dari Bioteknologi Untuk Kesehatan *Gene*. Al-Kauniyah: Journal Of Biology, P1978-3736

Yamamoto and Maruyama H. 1995 "Effect of dietary seaweed preparations on 1,2-dimethylhydrazine induced intestinal carcinogenesis in rats," Cancer Letters, vol. 26, no. 3, pp. 241–251.

Yuan,Y.and Walsh, N.A. 2006. Antioxidant and Antiproliferative Activity of Extraxts from A Variety of Edible Seaweeds. Food And Chemical Toxicology, 44,1144-1150.

Yuwono dan Triwibowo (2007). Biologi Molekular. Jakarta: Erlangga

Yang E.J., Ji-Young Moon, Min-Jin Kim, Dong Sam Kim, Chan-Shick Kim, Wook Jae Lee,Nam Ho Lee, and Chang-Gu Hyun Inhibitory effect of Jeju endemic seaweeds on the production of pro-inflammatory mediators in mouse macrophage cell line RAW 264.7 J Zhejiang Univ Sci B. 2010 May; 11(5): 315–322.

Yen, G.C, Chang,Y.C. and Chen,J.P. 2002. Antioksidant Activity of Mycelia from *AspergillusCandidus*. J. Food Science, 67: 567-572.

Yoshie Y., W.Wand, Y.P Hsieh,Suzuki T. 2002. Compositional difference of phenolic compounds between two seaweeds, Halimeda spp. J. Tokyo Univ Fish. 88:21-24.

Yuan, Y. V., Carrington,M. F. and Walsh,N. A. 2005. "Extracts from Dulse (*PalmariaPalmata*) are Effective Antioxidants and Inhibitors of Cell Proliferation in Vitro," Food and Chemical Toxicology, vol. 43, no. 7, pp. 1073–1081.

Yuan, H., Zhang,W., Li,X., Lu,X., Li.N.,Gao, X.et al., 2005[b]. Preparation andinvitro antioxidant activity of k-carrageenan olygosaccharides and their oversulfated, acetylated, and phosphorylated derivatives. Carbohydrate Research. 340. 685-692.

Zakaria N.A., Darah Ibrahim D., Sulaiman S.F. and Supardy N.A. 2011 Assessment of antioxidant activity, total phenolic content and *invitro* toxicity of Malaysian red seaweed, *Acanthophora spicifera*. *J. Chem. Pharm. Res., 2011, 3(3):182-191.*

Zhang J, Tiller C, Shen J, Wang C, Girouard GS, Dennis D, Barrow CJ, Miao M, Ewart HS. Antidiabetic properties of polysaccharide- and polyphenolic-enriched fractions from the brown seaweed Ascophyllum nodosum. Can J Physiol Pharmacol. 2007 ;85(11):1116-23.

Bioteknologi Hasil Perikanan

ORIGINALITY REPORT

23%	19%	4%	8%
SIMILARITY INDEX	INTERNET SOURCES	PUBLICATIONS	STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	id.scribd.com Internet Source	1%
2	docobook.com Internet Source	1%
3	Submitted to Universitas Sebelas Maret Student Paper	1%
4	kustiawan-fpk.web.unair.ac.id Internet Source	<1%
5	saintek.uin-malang.ac.id Internet Source	<1%
6	www.slideshare.net Internet Source	<1%
7	www.imb-jena.de Internet Source	<1%
8	Submitted to Padjadjaran University Student Paper	<1%
9	www.neliti.com Internet Source	<1%
10	Submitted to Universitas Brawijaya Student Paper	<1%

11	www.powershow.com Internet Source	<1%
12	es.scribd.com Internet Source	<1%
13	ejournal-s1.undip.ac.id Internet Source	<1%
14	aneka-resep-enak-indonesia.blogspot.com Internet Source	<1%
15	Submitted to Udayana University Student Paper	<1%
16	biologimediacentre.com Internet Source	<1%
17	les-mana.blogspot.com Internet Source	<1%
18	docplayer.info Internet Source	<1%
19	ftp.unpad.ac.id Internet Source	<1%
20	repository.usu.ac.id Internet Source	<1%
21	sandyedityasatgar.blogspot.com Internet Source	<1%
22	novarin88.blogspot.com Internet Source	<1%

23	suharmitadarmin.blogspot.com Internet Source	<1%
24	lppm.ub.ac.id Internet Source	<1%
25	helmiapriliyatmi.blogspot.com Internet Source	<1%
26	Swagat Kumar Das, Dibyajyoti Samantaray, Jayanta Kumar Patra, Luna Samanta, Hrudayanath Thatoi. "Antidiabetic potential of mangrove plants: a review", Frontiers in Life Science, 2015 Publication	<1%
27	agungfathoni.blogspot.com Internet Source	<1%
28	tugas-sma-kay.blogspot.com Internet Source	<1%
29	Submitted to Universitas Muhammadiyah Ponorogo Student Paper	<1%
30	apikdewefppundip2011.wordpress.com Internet Source	<1%
31	www.triwahyu.web.id Internet Source	<1%
32	gembalailmu.blogspot.com Internet Source	<1%
33	Hedi Indra Januar, Muhammad Nursid,	

	Ekowati Chasanah. "CYTOTOXIC SATURATED FATTY ACIDS FROM THE INDONESIAN SEA CUCUMBER Holothuria sp.", Squalen Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology, 2014 Publication	<1%
34	jurnal.uns.ac.id Internet Source	<1%
35	rafirempak-david.blogspot.com Internet Source	<1%
36	eprints.uny.ac.id Internet Source	<1%
37	issuu.com Internet Source	<1%
38	journal.trunojoyo.ac.id Internet Source	<1%
39	eprints.upnjatim.ac.id Internet Source	<1%
40	belajar-di-rumah.blogspot.co.id Internet Source	<1%
41	repository.ipb.ac.id Internet Source	<1%
42	Submitted to Universitas Muhammadiyah Surakarta Student Paper	<1%
43	journal.ipb.ac.id Internet Source	<1%

44	N. Sithranga Boopathy, K. Kathiresan. "Anticancer Drugs from Marine Flora: An Overview", Journal of Oncology, 2010 Publication	<1%
45	www.ifrj.upm.edu.my Internet Source	<1%
46	Tati Nurhayati, Ekowati Chasanah, Saeful Bahri. "Potensi Inhibitor Katepsin dari Dua Spesies dan Satu Hibrid Kulit Ikan Patin dalam Menghambat Aktivitas Katepsin Ikan Patin Siam", Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, 2013 Publication	<1%
47	www.mdpi.com Internet Source	<1%
48	Chia-Nan Chen, Coney P. C. Lin, Kuo-Kuei Huang, Wei-Cheng Chen, Hsin-Pang Hsieh, Po-Huang Liang, John T.-A. Hsu. "Inhibition of SARS-CoV 3C-like Protease Activity by Theaflavin-3,3'-digallate (TF3)", Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2005 Publication	<1%
49	ojs.unm.ac.id Internet Source	<1%
50	Mohamed Sellami, Faouzi Ben Rebah, Youssef Gargouri, Nabil Miled. "Lipid composition and antioxidant activity of liver	<1%

	oils from ray species living in Tunisian coasts", Arabian Journal of Chemistry, 2018 Publication	
51	Submitted to Universitas Sam Ratulangi Student Paper	<1%
52	www.sepi.upibi.ipn.mx Internet Source	<1%
53	www.biomedexperts.com Internet Source	<1%
54	Daquino, C.. "Coupling and fast decarboxylation of aryloxyl radicals of 4-hydroxycinnamic acids with formation of stable p-quinomethanes", Tetrahedron, 20060213 Publication	<1%
55	jurnal.ipb.ac.id Internet Source	<1%
56	repository.unpas.ac.id Internet Source	<1%
57	depts.washington.edu Internet Source	<1%
58	randychemistry07.blogspot.com Internet Source	<1%
59	Submitted to iGroup Student Paper	<1%
60	sadrinabioui10.blogspot.com Internet Source	<1%

61	blog.ub.ac.id Internet Source	<1%
62	dokumen.tips Internet Source	<1%
63	edoc.pub Internet Source	<1%
64	vitabumin.co.id Internet Source	<1%
65	indobic.or.id Internet Source	<1%
66	Mancini-Filho, J., A. Vidal-Novoa, and A. M. O. Silva. "Antioxidant properties of algal components and fractions", Functional ingredients from algae for foods and nutraceuticals, 2013. Publication	<1%
67	najma-mujaddid.blogspot.com Internet Source	<1%
68	www.scielo.br Internet Source	<1%
69	hastutiwibowo.wordpress.com Internet Source	<1%
70	biologicasman1nusa.files.wordpress.com Internet Source	<1%
71	atul7.blogspot.com Internet Source	<1%

72	esciencecentral.org Internet Source	<1%
73	ciciiocih.blogspot.com Internet Source	<1%
74	elfahrybima.blogspot.com Internet Source	<1%
75	Gopalraj Karthikai Devi, Karunamoorthy Manivannan, Ganapathy Thirumaran, Fatimson Arockiya Aarthi Rajathi, Perumal Anantharaman. "In vitro antioxidant activities of selected seaweeds from Southeast coast of India", Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 2011 Publication	<1%
76	eprints.undip.ac.id Internet Source	<1%
77	www.scribd.com Internet Source	<1%
78	Submitted to Universitas Sultan Ageng Tirtayasa Student Paper	<1%
79	etd.lsu.edu Internet Source	<1%
80	e-sciencecentral.org Internet Source	<1%
81	Submitted to University of Edinburgh Student Paper	<1%

82	Submitted to Universitas Trilogi Student Paper	<1%
83	garuda.ristekdikti.go.id Internet Source	<1%
84	jatp.ift.or.id Internet Source	<1%
85	www.ijptonline.com Internet Source	<1%
86	S I Rahmawati, F N Izzati, Y Hapsari, E Septiana, F Rachman, Bustanussalam, P Simanjuntak. " Endophytic microbes and antioxidant activities of secondary metabolites from mangroves and ", IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2019 Publication	<1%
87	journal.uinjkt.ac.id Internet Source	<1%
88	www.kombiopdraet.dk Internet Source	<1%
89	file.zums.ac.ir Internet Source	<1%
90	Submitted to Trisakti University Student Paper	<1%
91	Biswajit Biswas, Mimi Golder, Tannami Islam, Samir Kumar Sadhu. "Comparative	<1%

	Antioxidative and Antihyperglycemic Profiles of Pneumatophores of Two Mangrove Species Avicennia alba and Sonneratia apetala", Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences, 2018 Publication	
92	alasehatku.blogspot.com Internet Source	<1%
93	aguskrisno.wordpress.com Internet Source	<1%
94	acikarsiv.ankara.edu.tr Internet Source	<1%
95	Submitted to University of Wolverhampton Student Paper	<1%
96	repo.unsrat.ac.id Internet Source	<1%
97	www.ncbi.nlm.nih.gov Internet Source	<1%
98	perikanan85.blogspot.com Internet Source	<1%
99	portalgaruda.ilkom.unsri.ac.id Internet Source	<1%
100	kb.psu.ac.th Internet Source	<1%
101	www.sci-indonesia.org Internet Source	<1%

102	chaurakica-chemistry.blogspot.com Internet Source	<1%
103	e-algae.kr Internet Source	<1%
104	Submitted to University of Melbourne Student Paper	<1%
105	www.web.unair.ac.id Internet Source	<1%
106	ebooks-thuenweb.blogspot.com Internet Source	<1%
107	Submitted to King's College Student Paper	<1%
108	G Sanger, L K Rarung, L J Damongilala, B E Kaseger, L A D Y Montolalu. " Phytochemical constituents and antidiabetic activity of edible marine red seaweed ", IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2019 Publication	<1%
109	dspace.umh.es Internet Source	<1%
110	Muliani Muliani, Nurhidayah Nurhidayah, Koko Kurniawan. "HERBAL MANGROVE SEBAGAI SUMBER ANTI BAKTERI Vibrio harveyi PENYEBAB PENYAKIT PADA UDANG WINDU Penaeus monodon", Jurnal Riset Akuakultur, 2015	<1%

	Publication	
111	Submitted to University of Bristol Student Paper	<1%
112	repository.unair.ac.id Internet Source	<1%
113	Submitted to Sriwijaya University Student Paper	<1%
114	arumifajar.blogspot.com Internet Source	<1%
115	uad.portalgaruda.org Internet Source	<1%
116	Graciliana Lopes, Carla Sousa, Luís R. Silva, Eugénia Pinto et al. "Can Phlorotannins Purified Extracts Constitute a Novel Pharmacological Alternative for Microbial Infections with Associated Inflammatory Conditions?", PLoS ONE, 2012 Publication	<1%
117	www.nfri.affrc.go.jp Internet Source	<1%
118	Boopathy, N. Sithranga, and K. Kathiresan,. "Anticancer agents derived from marine algae", Functional ingredients from algae for foods and nutraceuticals, 2013. Publication	<1%
119	www.chalcogen.ro Internet Source	<1%

120	perpustakaan.bppt.go.id Internet Source	<1%
121	Submitted to Universitas Diponegoro Student Paper	<1%
122	Al-Shehri , Randah Mohsen Ahmed. "Effect of Camel Urine and Its Active Ingredients on Hepatitis Induced by Carbon Tetrachloride in Rats = تأثير بول الإبل والأجزاء الفعالة المفصولة منه على التهاب الكبد المستحدث بواسطة رابع كلوريد الكربون في الجرذان", King Abdulaziz University : Scientific Publishing Centre, 2016 Publication	<1%
123	BAYRAMOV, Bayram and GÜNEŞ, Sezgin. "Yaşlanma ve Yaşlanmayla İlişkili Hastalıklardaki Epigenetik Değişiklikler", Ortadoğu Reklam Tanıtım Yayıncılık Turizm Eğitim İnşaat Sanayi ve Ticaret, 2016. Publication	<1%
124	Submitted to Roger Williams University Student Paper	<1%
125	papandaz.blogspot.com Internet Source	<1%
126	Submitted to Anglia Ruskin University Student Paper	<1%
127	Nurhayati Nurhayati, Agusman Agusman. "Chitosan edible films of shrimp waste as food packaging, friendly packaging.", Squalen Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest	<1%

and Biotechnology, 2011
Publication

128	Submitted to St George's Hospital Medical School Student Paper	<1%
129	Submitted to University of Salford Student Paper	<1%
130	www.europeanhydrationinstitute.org Internet Source	<1%
131	www.feezaqisteena.com Internet Source	<1%
132	Submitted to Universidad San Francisco de Quito Student Paper	<1%
133	Margaret Murray, Aimee L. Dordevic, Lisa Ryan, Maxine P. Bonham. "An emerging trend in functional foods for the prevention of cardiovascular disease and diabetes: Marine algal polyphenols", Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2017 Publication	<1%
134	docplayer.es Internet Source	<1%
135	Submitted to Unika Soegijapranata Student Paper	<1%
136	jenisajatitik.blogspot.com Internet Source	<1%

137	www.biologionline.info Internet Source	<1%
138	itsmylifejimmyjefarilolowang.blogspot.com Internet Source	<1%
139	Submitted to University of Mauritius Student Paper	<1%
140	www.naturalproduct.us Internet Source	<1%
141	Hb25_Springer Handbook of Marine Biotechnology, 2015. Publication	<1%
142	Submitted to Surabaya University Student Paper	<1%
143	zainudinblog.blogspot.com Internet Source	<1%
144	biokimiaunima.blogspot.com Internet Source	<1%
145	shellynurdaniyanti.blogspot.com Internet Source	<1%
146	dianachaerisma.blogspot.com Internet Source	<1%
147	healthy-aging.advanceweb.com Internet Source	<1%
148	Submitted to Contra Costa Community College District Student Paper	<1%

149	www.gwp.org Internet Source	<1%
150	worldwidescience.org Internet Source	<1%
151	Novi Yanti, Afrida Sriyani Harahap, Christina Sitompul. "DUKUNGAN KELUARGA DENGAN KUALITAS HIDUP PASIEN CA SERVIKS", Jurnal Kesehatan, 2019 Publication	<1%
152	documents.mx Internet Source	<1%
153	Submitted to Universitas PGRI Semarang Student Paper	<1%
154	www.biologimu.com Internet Source	<1%
155	Submitted to Lambung Mangkurat University Student Paper	<1%
156	kumpulanmateribiologisahabat.blogspot.com Internet Source	<1%
157	www.bimbie.com Internet Source	<1%
158	alfina30.blogspot.fr Internet Source	<1%
159	Submitted to Universitas Airlangga Student Paper	<1%

160	Submitted to Universitas Jember Student Paper	<1%
161	Siti Balqis Huriyah, Iriani Setyaningsih, Wini Trilaksani. "Formulasi Tablet Suplemen Spirulina yang Diperkaya dengan Virgin Fish Oil Mata Tuna (Thunnus sp.)", Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, 2019 Publication	<1%
162	Submitted to University of Birmingham Student Paper	<1%
163	www.researchgate.net Internet Source	<1%
164	www.omics-ethics.org Internet Source	<1%
165	Emily Ho, John D. Clarke, Roderick H. Dashwood. "Dietary Sulforaphane, a Histone Deacetylase Inhibitor for Cancer Prevention", The Journal of Nutrition, 2009 Publication	<1%
166	W Kosasih, S Priatni, E Saepudin, R T Rosmalina, S Nurasiah, E S Endah. " Isolation and characterization of Boso fish oil and their recovery using enzymatic reaction ", IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2019 Publication	<1%

167	eduemojs.uem.br Internet Source	<1%
168	Submitted to Syiah Kuala University Student Paper	<1%
169	klink-nusantara.blogspot.com Internet Source	<1%
170	freeref.ru Internet Source	<1%
171	lintascinta.com Internet Source	<1%
172	biologigonz.blogspot.com Internet Source	<1%
173	pt.scribd.com Internet Source	<1%
174	thescipub.com Internet Source	<1%
175	Submitted to University of Warwick Student Paper	<1%
176	repositorio.ufrn.br Internet Source	<1%
177	fexdoc.com Internet Source	<1%
178	ebookduniakesehatan.files.wordpress.com Internet Source	<1%
	cantikq.com	

179	Internet Source	<1%
180	www.scielo.org.mx Internet Source	<1%
181	Strasburger s Plant Sciences, 2013. Publication	<1%
182	Submitted to Universidad Estadual Paulista Student Paper	<1%
183	www.researchgrantdatabase.com Internet Source	<1%
184	herkules.oulu.fi Internet Source	<1%
185	www.authorstream.com Internet Source	<1%
186	www.edutafsi.com Internet Source	<1%
187	mafiadoc.com Internet Source	<1%
188	materibioku.blogspot.com Internet Source	<1%
189	Submitted to Universitas Muhammadiyah Sidoarjo Student Paper	<1%
190	Submitted to University of Ulster Student Paper	<1%

191	aut.researchgateway.ac.nz Internet Source	<1%
192	Submitted to University of Muhammadiyah Malang Student Paper	<1%
193	Amir Husni, Deffy R. Putra, Iwan Yusuf Bambang Lelana. "Aktivitas Antioksidan Padina sp. pada Berbagai Suhu dan Lama Pengeringan", Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, 2014 Publication	<1%
194	Murdinah Murdinah. "PENANGANAN DAN DIVERSIFIKASI PRODUK OLAHAN KERANG HIJAU", Squalen Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology, 2009 Publication	<1%
195	Hafiz Ansar Rasul Suleria, Glenda Gobe, Paul Masci, Simone A. Osborne. "Marine bioactive compounds and health promoting perspectives; innovation pathways for drug discovery", Trends in Food Science & Technology, 2016 Publication	<1%
196	Catherine Murphy, Sarah Hotchkiss, Jenny Worthington, Stephanie R. McKeown. "The potential of seaweed as a source of drugs for use in cancer chemotherapy", Journal of	<1%

	Applied Phycology, 2014 Publication	
197	Submitted to Universitas Islam Indonesia Student Paper	<1%
198	Seafood Processing By-Products, 2014. Publication	<1%
199	Submitted to Fakultas Ekonomi dan Bisnis Universitas Gadjah Mada Student Paper	<1%
200	Submitted to Loughborough College Student Paper	<1%
201	www.flexmedia.co.id Internet Source	<1%

Exclude quotes	On	Exclude matches	Off
Exclude bibliography	On		