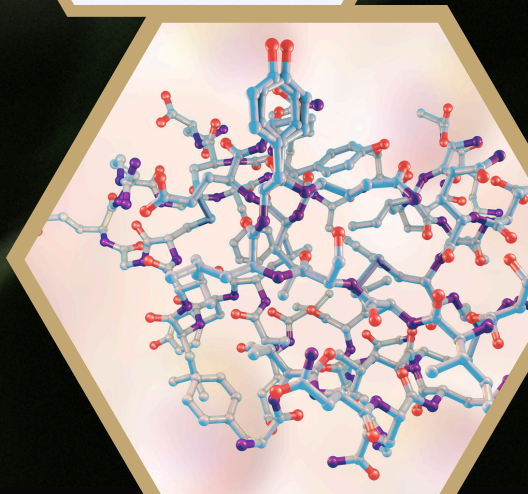
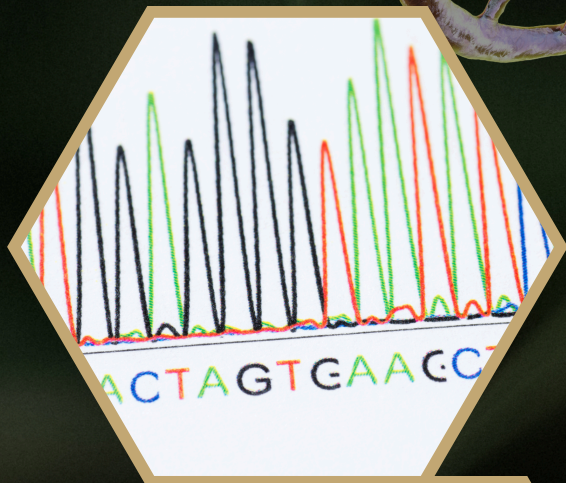


BIOINFORMATIKA



Tim Penulis :

- Rizky Dwi Satrio
- Irfan Martiansyah
- Riko Irwanto
- Dessy Arisanty
- Fandi Tuju
- Muhammad Rifqi Hariri
- Mulia Safrida Sari
- Dewi Ratih Tirto Sari

BIOINFORMATIKA

**Rizky Dwi Satrio
Irfan Martiansyah
Riko Irwanto
Dessy Arisanty
Fandi Tuju
Muhammad Rifqi Hariri
Mulia Safrida Sari
Dewi Ratih Tirto Sari**



GETPRESS INDONESIA

BIOINFORMATIKA

Penulis :

Rizky Dwi Satrio
Irfan Martiansyah
Riko Irwanto
Dessy Arisanty
Fandi Tuju
Muhammad Rifqi Hariri
Mulia Safrida Sari
Dewi Ratih Tirto Sari

ISBN : 978-634-255-298-8

Editor : Dr. Oktavianis, M.Biomed.

Desain Sampul dan Tata Letak : Tri Putri Wahyuni, S. Pd.

PENERBIT : GET PRESS INDONESIA

Anggota IKAPI No. 033/SBA/2022
Jl. Palarik RT 01 RW 06 Kelurahan Air Pacah
Kecamatan Koto Tangah Padang Sumatera Barat
website: www.getpress.co.id
email: adm.getpress@gmail.com

Cetakan pertama, Januari 2026

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

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kami panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa, yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga buku berjudul *Bioinformatika* ini dapat diselesaikan. Isi buku ini mencakup pembahasan tentang dogma sentral dalam bioinformatika, bioinformatika: konsep dasar, prinsip dan sejarah perkembangannya, basis data biologis, struktur dan fungsi asam nukleat, analisis sekuens DNA dan RNA, pengenalan blast, DNA probe, penambatan molekuler (*molecular docking*). Akhir kata, semoga buku ini dapat menjadi referensi dan dapat memberikan manfaat serta inspirasi bagi semua pembaca.

Padang, Desember 2025

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	i
DAFTAR ISI.....	ii
DAFTAR GAMBAR.....	iv
DAFTAR TABEL	viii
BAB 1 DOGMA SENTRAL DALAM BIOINFORMATIKA.....	1
1.1 Dogma Sentral Biologi Molekuler.....	1
1.2 Replikasi DNA.....	8
1.3 Transkripsi: Sintesis RNA	13
1.4 Translasi: Sintesis Protein.....	17
1.5 Mekanisme Regulasi dan Kontrol.....	23
1.6 Integrasi Data Omics.....	29
1.7 Perspektif Masa Depan Bioinformatika	34
DAFTAR PUSTAKA	38
BAB 2 BIOINFORMATIKA: KONSEP DASAR, PRINSIP DAN SEJARAH PERKEMBANGANNYA.....	43
2.1 Konsep Dasar Bioinformatika	43
2.2 Apa itu Bioinformatika?.....	44
2.3 Sejarah Perkembangan Bioinformatika.....	49
2.4 Prinsip Bioinformatika.....	53
2.5 Bioinformatika dalam Kacamata Berbagai Bidang Ilmu...57	
2.6 Manfaat dan Aplikasi Bioinformatika	60
2.7 Kesimpulan	66
DAFTAR PUSTAKA	68
BAB 3 BASIS DATA BIOLOGIS.....	73
3.1 Konsep Basis Data Biologis	73
3.2 Penyedia Basis Data Biologis.....	76
DAFTAR PUSTAKA	88
BAB 4 STRUKTUR DAN FUNGSI ASAM NUKLEAT	89
4.1 Pengertian Asam nukleat.....	89
4.2 Komposisi Asam Nukleat	92
4.3 Struktur Asam Nukleat	102
4.4 Penutup	128

DAFTAR PUSTAKA	130
BAB 5 ANALISIS SEKUENS DNA DAN RNA	135
5.1 Analisis Sekuens DNA.....	136
5.2 Analisis Sekuens RNA.....	148
DAFTAR PUSTAKA	153
BAB 6 PENGENALAN BLAST	155
6.1 Pengertian <i>Basic Local Alignment Search Tool</i> (BLAST) ...	155
6.2 Konsep Dasar Pencarian Kesamaan Sekuen.....	156
6.3 Komponen Utama dan Algoritma BLAST	157
6.4 Jenis - Jenis BLAST	158
6.5 Basis Data untuk BLAST	161
6.6 Interpretasi <i>Output</i>	162
6.7 Aplikasi BLAST dalam Penelitian	163
6.8 Keterbatasan dan Tantangan	164
6.9 Praktik dan Panduan Teknis	165
DAFTAR PUSTAKA	168
BAB 7 DNA PROBE.....	171
7.1 Konsep, Desain, dan Aplikasi Pelacak DNA (DNA Probe)	171
7.2 Deteksi DNA Gravimetrik	227
DAFTAR PUSTAKA	239
BAB 8 PENAMBATAN MOLEKULER (<i>MOLECULAR DOCKING</i>)	243
8.1 Konsep penambatan molekuler	243
8.2 Konsep Pengikatan.....	244
8.3 Jenis <i>Docking</i> Berdasarkan Flexibilitas.....	246
8.4 Perangkat Lunak untuk <i>Docking</i>	247
8.5 Fungsi Penilaian (<i>Skoring</i>)	250
8.6 Jenis Ikatan pada Kompleks Ligand-Protein.....	251
DAFTAR PUSTAKA	254
BIODATA PENULIS	257

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. 1 Aliran Informasi dalam Dogma Sentral Biologi Molekuler	3
Gambar 1. 2 Perangkat Molekuler dalam Replikasi DNA.....	10
Gambar 1. 3 Sintesis RNA dari Molekul DNA dan Regulasinya oleh Faktor Transkripsi di Daerah Promotor.....	15
Gambar 1. 4 Interaksi Ribosom, mRNA, dan tRNA dalam Sintesis Protein.....	20
Gambar 1. 5 Jenis <i>Non-Coding</i> RNA (ncRNA) yang Berbeda Ditranskripsi dari Genom Eukariotik	25
Gambar 2. 1 Ilustrasi Timeline Sejarah Bioinformatika	49
Gambar 2. 2 Ilustrasi Prinsip Bioinformatika.....	57
Gambar 2. 3 Ilustrasi Peta Konseptual Bioinformatika dan Hubungannya dengan Berbagai Disiplin Ilmu.....	58
Gambar 3. 1 Proses dan Hubungan Basis Data Biologis	75
Gambar 3. 2 Penggunaan <i>Operating System</i> dan Software Pendukung dalam Pengolahan Data Bioinformatik	76
Gambar 3. 3 Tampilan Website NCBI.....	77
Gambar 3. 4 Tampilan Website EMBL-EBI	78
Gambar 3. 5 Tampilan Website DDBJ.....	78
Gambar 3. 6 Keterkaitan dan Kolaborasi Data pada UniProt.....	81
Gambar 3. 7 Tampilan Website UniProt dengan Fitur yang Bisa Digunakan.....	81
Gambar 3. 8 Tampilan Website Basis Data	85
Gambar 3. 9 Basis Data Bidang Kimia yang Biasanya Digunakan dalam Topik Metabolomik.....	87
Gambar 4. 1 Struktur Gula pada DNA dan RNA	93
Gambar 4. 2 Struktur Basa Nitrogen Purin dan Pirimidin.....	93
Gambar 4. 3 Tahapan pra-mRNA Sebelum Meninggalkan Nukleus.....	97
Gambar 4. 4 Ilustrasi Struktur RNA Transfer. a. Struktur Dasar tRNA, b. Struktur Daun Clover dari tRNA	98
Gambar 4. 5 Ilustrasi Struktur rRNA dalam Ribosom	99
Gambar 4. 6 Pembentukan Polinukleotida dari Mononukleotida Melalui Ikatan Fosfodiester.....	104

Gambar 4. 7 Struktur Sekunder dari DNA.....	106
Gambar 4. 8 Struktur Sekunder RNA : hairpin – stem loop	109
Gambar 4. 9 Struktur Sekunder RNA dalam Motif Bulge.....	111
Gambar 4. 10 Bentuk Struktur RNA dengan Motif Pseudotnot ...	112
Gambar 4. 11 Bentuk Struktur Sekunder RNA Motif <i>Cloverleaf</i>	114
Gambar 4. 12 Struktur DNA Tersier Motif DNA <i>Supercoiling</i>	116
Gambar 4. 13 Struktur Tersier DNA-Compleks Protein.....	118
Gambar 4. 14 Struktur Tersier DNA dalam Motif Chromatin- Loop	119
Gambar 4. 15 Struktur tersier DNA dalam bentuk Domain Asosiasi Topologis (TADs).....	120
Gambar 4. 16 Bentuk Tersier dari RNA Moritf Coaxical Helical Stacking	122
Gambar 4. 17 Struktur Tersier RNA , Motif Liss-Loop	123
Gambar 4. 18 Struktur Tersier RNA dalam Morif 3D-Folding RNA	124
Gambar 4. 19 STruktur Quartener DNA	126
Gambar 5. 1 Dua Nukleotida pada Heliks Ganda DNA, Menunjukkan Orientasi Antiparalelnya, Dua Ikatan Hidrogen Antara A dan T, dan Tiga Ikatan Hidrogen Antara G dan C	137
Gambar 5. 2 (A) Representasi Skematis Metode Sanger Lama, (B) Metode Sanger Baru dalam Bentuknya yang Sederhana	139
Gambar 5. 3 Proses Pengujian Klinis Dan Skema Eksperimental Lengkap untuk Pengurutan DNA Cepat Berdasarkan Metode Sanger.....	141
Gambar 5. 4 Berbagai Pendekatan yang Digunakan Dalam Analisis Genom dan Penerapan NGS, Termasuk Platform Teknologi, Analisis Data, dan Penerapan	143
Gambar 5. 5 Diagram Skematik <i>Next-Generation Sequencing</i> (NGS)	144
Gambar 5. 6 Prosedur Eksperimental RNA Seq untuk NGS.....	150
Gambar 6. 1 Contoh Hasil BLAST	156
Gambar 6. 2 Contoh Hasil BLAST	159
Gambar 6. 3Tampilan <i>alignment</i> hasil BLAST	162

Gambar 6. 4 Tampilan Antamuka BLAST	165
Gambar 7. 1 Tipe DNA Bercabang Berdasarkan Blok Bangunannya	177
Gambar 7. 2 Tipe Konstruksi DNA Bercabang	180
Gambar 7. 3 Deteksi Ion Logam Menggunakan Platform Biosensing Berbasis DNAzyme. (a) Sistem Deteksi Rantai Hibridisasi dengan Horseradish Peroxidase (HRP) Concatemer untuk Deteksi Cu^{2+} ; (b) Strip Uji Aliran Lateral Berbasis Nanopartikel untuk Deteksi Pb^{2+} ; (c) Nanopartikel Emas untuk Deteksi Plasmonik Ion Pb^{2+} (Khan <i>et al.</i> , 2021)	189
Gambar 7. 4 Skema Desain Umum Biosensor DNA untuk Hibridisasi	195
Gambar 7. 5 Skema Imobilisasi Probe DNA Melalui Adsorpsi Elektrostatik	199
Gambar 7. 6 Skema Imobilisasi Probe DNA pada Elektroda Emas Melalui Teknik Kemisorpsi	200
Gambar 7. 7 Imobilisasi Probe DNA Pada Permukaan, a) AuNP, dan b) Nanokomposit/AuNP Menggunakan Teknik Kemisorpsi	201
Gambar 7. 8 Metode imobilisasi Kovalen dari Probe DNA yang Berujung Amina Pada Elektroda yang Dimodifikasi dengan Berbagai Gugus Fungsional	202
Gambar 7. 9 Skema Strategi Imobilisasi Probe DNA Berbiotin; a) Elektroda yang Difungsikan Dengan Avidin/Streptavidin Melalui Aktivasi Gugus Karboksil; b) Teknik Sandwich Biotin/Avidin (Streptavidin)/Biotin	205
Gambar 7. 10 Tipe Pengikatan Indikator Redoks Pada Permukaan DNA	216
Gambar 7. 11 Hibridisasi Sandwich Berbasis Label HRP dalam Deteksi Elektrokimia	220
Gambar 7. 12 Deteksi Tidak Langsung dari Hibridisasi DNA Melalui Teknik ASV Berbasis Label Nanopartikel Ag	224

Gambar 7. 13 Deteksi Elektrokimia DNA Menggunakan Label Nanopartikel Au.....	225
Gambar 8. 1 Model Lock-key	244
Gambar 8. 2 Model Induced fit.....	245

DAFTAR TABEL

Tabel 1. 1 Klasifikasi <i>Non-Coding</i> RNA (ncRNA)	26
Tabel 3. 1 Satuan Basis Data Gen (DNA)	79
Tabel 3. 2 Perbandingan Beberapa Basis Data dari Beberapa Sumber Penyedia Data	82
Tabel 4. 1 Variasi bentuk DNA	107
Tabel 6. 1 Perbandingan Varian BLAST	160
Tabel 7. 1 Teknik Imobilisasi Probe DNA untuk Deteksi DNA Secara Elektrokimia	226
Tabel 8. 1 Perangkat Lunak untuk Penambatan Molekuler	247

BAB 1

DOGMA SENTRAL DALAM BIOINFORMATIKA

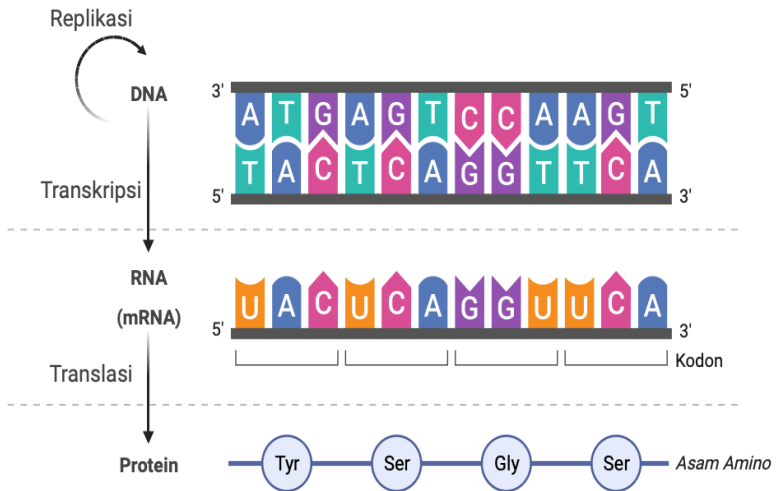
1.1 Dogma Sentral Biologi Molekuler

Dogma sentral biologi molekuler, sebuah konsep dasar yang menjelaskan aliran informasi genetik di dalam sel, menjadi landasan dalam studi bioinformatika. Kerangka kerja ini menggambarkan proses berurutan dari replikasi, transkripsi, dan translasi DNA, yang mengatur bagaimana informasi genetik yang dikodekan dalam DNA ditranskripsi ke dalam RNA dan diterjemahkan ke dalam protein. Dalam ranah bioinformatika, dogma sentral berfungsi sebagai prinsip panduan, mendorong pengembangan alat komputasi dan algoritme yang bertujuan untuk menguraikan, menganalisis, dan memodelkan berbagai aspek aliran informasi genetik. Bioinformatika memanfaatkan dogma sentral untuk mengeksplorasi urutan genom, memprediksi pola ekspresi gen, membuat anotasi elemen regulasi, dan memahami hubungan antara genotipe dan fenotipe. Konsep fundamental ini mendasari sebagian besar pekerjaan komputasi dan analitis dalam bioinformatika, membentuk pemahaman kita tentang mekanisme yang mengatur proses genetik dan implikasinya dalam bidang kesehatan, pertanian, biodiversitas, dan evolusi. Signifikansi dari dogma sentral ini terletak pada beberapa aspek utama, meliputi kerangka kerja aliran genetik, ekspresi gen dan regulasinya, dan biologi evolusioner. Bab ini mengantarkan pembaca tentang pentingnya konsep dogma sentral dalam melandasi pengembangan dan

pemanfaatan alat-alat bioinformatika. Lebih jauh, juga memberikan landasan tentang penerimaan, pemrosesan, penyimpanan, dan pendistribusian data-data biologis, khususnya DNA, RNA, dan protein yang selanjutnya akan di bahas pada buku ini.

1.1.1 Aliran Informasi Genetik

Kerangka kerja aliran informasi genetik, seperti yang diuraikan oleh dogma sentral, mewakili proses yang mengatur transmisi dan pemanfaatan instruksi genetik di dalam organisme hidup (Gambar 1.1). Pada intinya terdapat replikasi DNA, sebuah mekanisme yang diatur dengan cermat untuk memastikan duplikasi materi genetik selama pembelahan sel, melestarikan *blueprint* untuk kehidupan dari generasi ke generasi. Transkripsi, tahap berikutnya, melibatkan penyalinan informasi yang dikodekan DNA menjadi molekul RNA. Transkrip ini berfungsi sebagai pembawa pesan, membawa arahan genetik dari nukleus ke mesin pembuat protein di dalam sel. Akhirnya, terjemahan menjalankan instruksi-instruksi ini, menerjemahkan urutan RNA menjadi urutan asam amino yang tepat, menyusun beragam protein yang penting untuk struktur, fungsi, dan regulasi seluler. Kerangka kerja ini membentuk tulang punggung ekspresi genetik, menggambarkan langkah-langkah berurutan di mana informasi genetik bermanifestasi sebagai molekul fungsional, yang pada akhirnya membentuk karakteristik dan perilaku organisme (Noble 2018).



Gambar 1. 1 Aliran Informasi dalam Dogma Sentral Biologi Molekuler

1.1.2 Ekspresi Gen dan Regulasinya

Ekspresi gen, sebuah proses penting dalam dogma sentral, mengatur konversi informasi genetik menjadi produk fungsional di dalam sel. Proses ini mencakup transkripsi gen tertentu menjadi molekul RNA, yang kemudian mengalami translasi untuk mensintesis protein atau berfungsi secara langsung sebagai RNA regulator (De Capitani and Mutschler 2023). Ekspresi gen diregulasi dan diatur dengan baik, merespons isyarat internal dan eksternal yang menentukan kapan, di mana, dan sejauh mana gen tertentu diaktifkan. Regulasi ini merupakan interaksi yang kompleks dari berbagai faktor, termasuk faktor transkripsi, modifikasi epigenetik, RNA non-kode (nc-RNA), dan jalur pensinyalan, yang mengendalikan pola ekspresi gen (Saw *et al.* 2021). Regulasi tersebut sangat penting untuk diferensiasi seluler, pertumbuhan dan perkembangan, respons terhadap rangsangan lingkungan, dan mempertahankan homeostasis seluler.

Mekanisme kontrol yang mengatur ekspresi gen beragam dan dinamis. Faktor transkripsi, yang berikatan dengan sekuens DNA tertentu, bertindak sebagai sakelar molekuler, baik yang mengaktifkan maupun menekan transkripsi gen. Modifikasi epigenetik, seperti metilasi DNA atau modifikasi histon, memengaruhi aksesibilitas gen, membungkam atau meningkatkan ekspresi gen tanpa mengubah urutan DNA yang mendasarinya. RNA non-kode, seperti mikroRNA (*micro RNA*/miRNA) dan RNA non-kode panjang (*long non-coding RNA*/lncRNA), memodulasi ekspresi gen pada berbagai tahap, mengatur stabilitas mRNA, penerjemahan, atau struktur kromatin. Selain itu, kaskade pensinyalan seluler mengintegrasikan sinyal internal dan eksternal, yang selanjutnya menyempurnakan ekspresi gen sebagai respons terhadap perubahan lingkungan. Bersama-sama, mekanisme ini membentuk orkestrasi ekspresi gen dengan akurat, yang memungkinkan sel untuk beradaptasi, berdiferensiasi, dan berfungsi dengan tepat di dalam lingkungannya.

1.1.3 Biologi Evolusioner

Dogma sentral biologi molekuler memberikan wawasan yang mendalam mengenai proses evolusi yang mengatur keragaman dan kesinambungan kehidupan. Pada intinya, konsep ini menekankan konservasi aliran informasi lintas generasi dan spesies. Mekanisme dasar replikasi, transkripsi, dan translasi dari DNA sangat lestari di berbagai bentuk kehidupan, menggarisbawahi peran mereka yang sangat penting dalam melestarikan informasi genetik dalam rentang waktu evolusi. Konservasi aliran informasi tersebut menyoroti sifat mendasar dari proses-proses ini dalam menjaga kelangsungan kehidupan dan menggarisbawahi adanya nenek moyang bersama di antara organisme hidup.

Secara bersamaan, dogma sentral menjelaskan mekanisme yang mendasari mutasi dan variasi, yang mendorong keanekaragaman genetik dan evolusi. Meskipun replikasi DNA berusaha untuk mencapai akurasi, kesalahan atau mutasi sesekali dapat terjadi, memperkenalkan variasi genetik. Variasi-variasi ini, baik perubahan nukleotida tunggal, penyisipan, penghapusan, atau penataan ulang genom yang lebih besar, berfungsi sebagai bahan baku untuk evolusi. Seleksi alam bekerja berdasarkan variasi-variasi ini, mendukung perubahan yang menguntungkan yang memberikan keuntungan *fitness* di lingkungan tertentu. Seiring waktu, akumulasi mutasi dan variasi genetik berkontribusi pada keragaman spesies dan populasi, membentuk kemampuan beradaptasi mereka terhadap perubahan kondisi dan mendorong proses evolusi.

Dengan memahami prinsip-prinsip dogma sentral, para ilmuwan mendapatkan wawasan penting tentang mekanisme yang bertanggung jawab atas konservasi informasi genetik yang penting bagi kelangsungan hidup dan generasi keanekaragaman genetik yang mendorong perubahan evolusioner, yang menjelaskan proses rumit yang membentuk keanekaragaman hayati yang teramati di alam.

1.1.4 Penerapan Bioinformatika melalui Prinsip Dogma Sentral

Kemajuan teknologi yang berasal dari pemahaman kita tentang dogma sentral telah merevolusi bioinformatika dan genomika, memungkinkan eksplorasi dan manipulasi informasi genetik yang lebih dalam. Bioinformatika, bidang interdisipliner yang berada di persimpangan antara biologi dan ilmu komputasi, memanfaatkan alat komputasi dan algoritme untuk menganalisis, menginterpretasikan, dan memodelkan data biologis. Alat-alat ini memfasilitasi sekuensing genom, anotasi, dan genomik komparatif,

memberikan wawasan tentang variasi genetik, hubungan evolusioner, dan elemen fungsional dalam genom. Selain itu, bioinformatika membantu dalam memprediksi struktur protein, mengidentifikasi urutan regulasi, dan menguraikan jejaring biologis yang kompleks, sehingga mendorong pemahaman yang lebih dalam tentang proses biologis pada tingkat molekuler.

Genomik, yang didukung oleh kemajuan teknologi, berperan besar dalam memajukan bidang-bidang seperti bioteknologi dan kedokteran. Teknologi sekuensing, yang menjadi lebih cepat dan lebih hemat biaya, telah mendorong penelitian seluruh genom (*whole genome*), memungkinkan penyelidikan skala besar terhadap variasi genetik yang terkait dengan penyakit, genetika populasi, dan respons terhadap obat. Pemahaman ini menjadi dasar bagi pengobatan presisi, di mana perawatan dan intervensi disesuaikan dengan profil genetik individu, sehingga meningkatkan hasil terapi dan meminimalkan reaksi yang merugikan. Selain itu, kemajuan dalam alat pengeditan gen, terutama CRISPR/Cas9, menawarkan manipulasi gen yang tepat, mendorong perkembangan dalam terapi gen, bioteknologi pertanian, dan potensi koreksi kelainan genetik (Pramanik *et al.* 2021).

Perpaduan antara bioinformatika, genomik, dan inovasi teknologi telah membuka pandangan baru dalam bioteknologi dan kedokteran, menawarkan peluang yang belum pernah ada sebelumnya untuk menguraikan sistem biologis yang kompleks, mendorong inovasi dalam pengembangan obat, pertanian, dan perawatan kesehatan yang dipersonalisasi, serta mengatasi tantangan yang telah lama ada dalam memahami dan mengobati penyakit genetik. Kemajuan ini terus mendefinisikan ulang batas-batas eksplorasi ilmiah dan menjanjikan untuk membentuk masa depan industri kesehatan dan bioteknologi.

1.1.5 Evolusi Dogma Sentral dan Dampaknya pada Bioinformatika

Konsep dogma sentral telah mengalami evolusi transformatif dalam pemahaman kita tentang genetika dan bioinformatika. Awalnya dipahami sebagai aliran informasi genetik searah dari DNA ke RNA ke protein, evolusinya telah ditandai dengan penemuan-penemuan mendalam yang telah memperkaya dan memperluas cakupannya. Interpretasi awal dari dogma sentral berfokus terutama pada perkembangan linier informasi genetik, yang menguraikan jalur penting replikasi DNA, transkripsi, dan translasi.

Namun, penelitian selanjutnya telah mengungkapkan gambaran yang lebih bernuansa dan dinamis. Konsep ini telah berevolusi untuk mengakomodasi kompleksitas regulasi gen, RNA non-kode, modifikasi epigenetik, dan aliran informasi dua arah antara RNA dan DNA. Evolusi ini mengakui peran RNA yang beragam di luar fungsi pembawa pesan sederhana, yang mencakup peran regulasi, katalitik, dan struktural di dalam sel. Selain itu, kemajuan teknologi, khususnya dalam genomik dan bioinformatika, telah memungkinkan eksplorasi dan analisis informasi genetik yang komprehensif pada skala yang belum pernah ada sebelumnya, menawarkan wawasan tentang jejaring regulasi yang rumit, variasi genetik, dan interaksi antara gen dan lingkungannya.

Dampak dari evolusi dalam konsep dogma sentral ini bergema di seluruh genetika dan bioinformatika. Hal ini telah memacu pengembangan metodologi baru, alat komputasi, dan pendekatan interdisipliner yang melampaui batas-batas tradisional. Bioinformatika, yang didorong oleh pemahaman yang terus berkembang ini, telah mengalami

pertumbuhan eksponensial, memungkinkan integrasi data multi-omik, pemodelan biologi sistem, dan analisis prediktif. Kemajuan ini telah memberdayakan para peneliti untuk mengungkap kompleksitas regulasi gen, dinamika seluler, dan mekanisme penyakit, sehingga mendorong pemahaman yang lebih dalam tentang sistem biologis pada tingkat molekuler.

Evolusi dogma sentral telah mengubah persepsi kita tentang aliran informasi genetik, mengilhami pandangan yang lebih holistik dan saling berhubungan tentang proses seluler (Costello and Badran 2021). Dampaknya terhadap genetika dan bioinformatika terus membentuk lintasan penelitian, memandu para ilmuwan menuju pemahaman yang lebih komprehensif tentang kompleksitas kehidupan dan menawarkan jalan untuk aplikasi inovatif dalam bidang kedokteran, bioteknologi, dan lainnya.

1.2 Replikasi DNA

1.2.1 Struktur DNA dan Signifikansinya dalam Pewarisan Sifat

Struktur DNA merupakan landasan dalam genetika, yang menjelaskan mekanisme mendasar di mana informasi genetik disimpan, direplikasi, dan diwariskan. DNA, atau asam deoksiribonukleat, hadir sebagai heliks ganda yang terdiri dari blok bangunan nukleotida. Setiap nukleotida terdiri dari gugus fosfat, molekul gula (deoksiribosa), dan salah satu dari empat basa nitrogen: adenin (A), timin (T), sitosin (C), dan guanin (G). Susunan struktural basa-basa ini yang dipasangkan dalam untaian komplementer (A-T, C-G) membentuk dasar struktur heliks ganda DNA yang ikonik.

Struktur yang elegan ini memiliki arti penting dalam pewarisan. Selama replikasi seluler, DNA terlepas, dan setiap

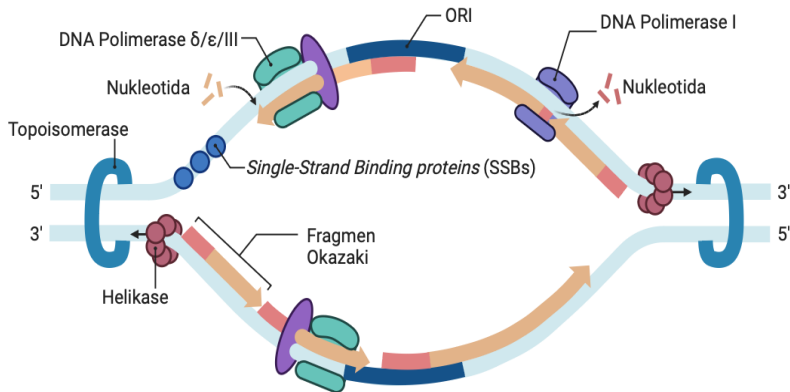
untai berfungsi sebagai templat untuk sintesis untai komplementer yang baru, memastikan replikasi yang tepat. Mekanisme pemasangan basa yang tepat, yang ditentukan oleh ikatan hidrogen spesifik antara adenin dan timin, dan antara sitosin dan guanin, memastikan keakuratan yang luar biasa dalam replikasi. Keakuratan ini sangat penting dalam menjaga integritas dan konsistensi informasi genetik di seluruh generasi yang berurutan, meminimalkan kesalahan dan melestarikan kode genetik.

Urutan basa nukleotida di sepanjang untai DNA menyimpan kode genetik-instruksi untuk mensintesis protein dan mengatur fungsi organisme hidup. Kode ini mengatur sifat, karakteristik, dan proses seluler. Variasi dalam urutan DNA berkontribusi pada keragaman genetik dan perbedaan keturunan di antara individu dan populasi, yang memengaruhi kerentanan terhadap penyakit, ciri-ciri fisik, dan respons terhadap faktor lingkungan. Dengan demikian, struktur DNA, dengan stabilitasnya yang luar biasa, ketepatannya dalam replikasi, dan kode untuk informasi genetik, berfungsi sebagai fondasi keturunan, membentuk keragaman yang kaya yang diamati di dalam spesies dan lintas generasi (Epum and Haber 2022).

1.2.2 Mekanisme Molekuler Replikasi DNA

Replikasi DNA adalah proses yang sangat diatur yang sangat penting untuk duplikasi materi genetik yang sesuai dengan aslinya sebelum pembelahan sel. Proses ini melibatkan serangkaian mekanisme molekuler yang memastikan keakuratan, efisiensi, dan kelengkapan dalam menyalin seluruh molekul DNA (Gambar 1.2). Mekanisme molekuler replikasi DNA melibatkan interaksi terkoordinasi antar enzim untuk menduplikasi seluruh genom secara akurat, memastikan pewarisan informasi genetik dengan ketepatan dan keakuratan yang luar biasa (Parker *et al.* 2017). Proses ini dimulai di tempat tertentu yang disebut

asal replikasi atau titik ORI (*origin of replication*), di mana enzim dan protein berkumpul untuk memulai proses replikasi (Prioleau and MacAlpine 2016).



Gambar 1. 2 Perangkat Molekuler dalam Replikasi DNA

Langkah pertama melibatkan penguraian struktur heliks ganda DNA oleh enzim yang disebut helikase. Enzim-enzim ini mengurai dan memisahkan dua untai DNA, menciptakan garpu replikasi di mana replikasi dapat terjadi. Untuk menstabilkan DNA yang terlepas dan mencegah terjadinya penggabungan kembali, protein pengikat DNA untai tunggal mengikat untai tunggal yang terbuka, sehingga dapat diakses oleh enzim replikasi (Burgers and Kunkel 2017).

Selanjutnya, enzim yang dikenal sebagai DNA polimerase menambahkan nukleotida baru ke untai DNA yang sedang tumbuh dalam arah 5' ke 3', menggunakan untai yang ada sebagai cetakan. DNA polimerase hanya dapat menambahkan nukleotida ke rantai yang sudah ada; dengan demikian, replikasi terjadi terus-menerus pada satu untai, yang dikenal sebagai untai *leading*, secara terus menerus. Untai lainnya, untai yang tertinggal, disebut

lagging, disintesis secara terputus-putus dalam fragmen pendek yang disebut fragmen Okazaki.

Primase, enzim lain, mensintesis primer RNA pada untai yang tertinggal, memberikan titik awal bagi DNA polimerase untuk mulai mensintesis fragmen DNA baru. Setelah DNA polimerase menyelesaikan setiap fragmen Okazaki, molekul tersebut menghilangkan primer RNA dan menggantinya dengan nukleotida DNA. Ligase DNA kemudian menggabungkan fragmen-fragmen ini bersama-sama, membentuk untai yang berkesinambungan.

Selama proses ini, mekanisme pengoreksian dan enzim perbaikan secara konstan memantau kesalahan dan memperbaiki pasangan basa yang tidak cocok atau kelainan struktural pada DNA yang baru disintesis. Kontrol kualitas yang ketat ini memastikan ketepatan replikasi DNA, meminimalkan kesalahan dalam kode genetik yang diwariskan ke generasi berikutnya.

1.2.3 *Software* dan Algoritme Bioinformatika yang Digunakan dalam Mempelajari Proses Replikasi DNA

Software dan algoritme bioinformatika berperan penting dalam mengurai kompleksitas proses replikasi DNA dengan menganalisis, menginterpretasikan, dan memodelkan data genom yang sangat besar. Memahami replikasi DNA memerlukan pendekatan komputasi yang membantu dalam mengidentifikasi elemen-elemen kunci replikasi, menganalisis kinetika replikasi, dan memprediksi asal-usul replikasi di seluruh genom (Fragkos *et al.* 2015).

Algoritme penyelarasan sekuens merupakan tulang punggung dalam mempelajari replikasi DNA, yang memungkinkan perbandingan sekuens DNA untuk mengidentifikasi daerah yang dilestarikan, asal-usul replikasi, dan motif yang berhubungan dengan replikasi. Perangkat seperti *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST)

dan algoritma Smith-Waterman memfasilitasi pencarian kesamaan sekuens, yang sangat penting untuk mengidentifikasi sekuens homolog dan motif-motif yang dilestarikan yang terkait dengan mesin replikasi.

Alat pemetaan dan analisis seluruh genom memungkinkan para peneliti untuk menentukan asal-usul replikasi dan mempelajari waktu replikasi di seluruh genom. Alat-alat ini menggunakan data sekuensing dengan luaran tinggi (*high-throughput sequencing*) untuk memetakan lokasi inisiasi replikasi, menjelaskan regulasi spasial dan temporal terkait proses replikasi. Metode seperti Repli-seq dan ORC-seq (sekuensing *Origin Recognition Complex*) menggunakan teknologi sekuensing generasi lanjutan untuk memetakan asal-usul replikasi dan mengkarakterisasi dinamika replikasi pada skala genom.

Perangkat lunak simulasi dan pemodelan membantu dalam mensimulasikan proses replikasi DNA, menyediakan kerangka kerja teoretis untuk memahami kinetika dan mekanisme yang terlibat. Model komputasi berdasarkan fisika polimer, simulasi stokastik, dan algoritme Monte Carlo mensimulasikan pergerakan mesin replikasi, menjelaskan faktor-faktor yang memengaruhi dinamika percabangan replikasi, waktu replikasi, dan dampak berbagai proses molekuler terhadap efisiensi replikasi DNA.

Selain itu, algoritma pembelajaran mesin (*machine learning*) dan penambangan data (*data mining*) semakin banyak digunakan untuk mengekstrak pola dan model prediktif dari kumpulan data genom berskala besar. Algoritme-algoritme ini dapat mengidentifikasi motif sekuens yang terkait dengan asal mula replikasi, memprediksi tempat inisiasi replikasi, dan mengklasifikasikan elemen-elemen regulasi yang terlibat dalam replikasi, sehingga meningkatkan pemahaman kita akan prinsip-prinsip dasar yang mengatur replikasi DNA.

Alat dan algoritme bioinformatika berfungsi sebagai sumber daya yang sangat diperlukan dalam mempelajari proses replikasi DNA, memungkinkan para peneliti untuk mengintegrasikan, menganalisis, dan menginterpretasikan data genom yang kompleks, yang pada akhirnya memajukan pemahaman kita tentang mekanisme yang mendasari penggandaan materi genetik.

1.3 Transkripsi: Sintesis RNA

1.3.1 Konsep Transkripsi

Transkripsi, sebuah proses fundamental dalam dogma sentral, melibatkan sintesis molekul RNA dari DNA cetakan. Transkripsi merupakan langkah penting dalam ekspresi gen, di mana informasi genetik yang dikodekan dalam DNA ditranskripsikan ke dalam RNA, yang berfungsi sebagai jembatan antara genom dan mesin sintesis protein. Prosesnya dimulai dengan pengenalan urutan DNA tertentu, yang dikenal sebagai promotor, oleh RNA polimerase enzim yang bertanggung jawab untuk mengkatalisis transkripsi. Setelah RNA polimerase berikatan dengan daerah promotor, molekul tersebut memulai pelepasan heliks ganda DNA, yang memungkinkan salah satu untai DNA, yaitu untai *sense*, berfungsi sebagai cetakan untuk sintesis RNA (Cramer 2019).

Ketika RNA polimerase berjalan di sepanjang DNA cetakan, molekul tersebut mengkatalisis penambahan ribonukleotida komplementer untuk membentuk molekul RNA yang mencerminkan urutan untai DNA *anti-sense*. Selama transkripsi, aturan pasangan basa komplementer berlaku, kecuali untuk substitusi urasil (U) untuk timin (T) dalam RNA. Proses ini berlanjut hingga RNA polimerase mencapai sinyal penghentian, yang menandai akhir proses transkripsi.

Transkripsi adalah proses yang sangat terkendali, dikontrol dengan ketat oleh berbagai faktor yang memengaruhi kapan dan bagaimana gen ditranskripsi. Faktor transkripsi, yang berikatan dengan sekuens DNA tertentu yang disebut *enhancer* atau *silencer*, mengatur aktivitas RNA polimerase, baik meningkatkan atau menekan transkripsi. Selain itu, modifikasi epigenetik, seperti metilasi DNA dan modifikasi histon, dapat memodulasi aksesibilitas DNA, yang memengaruhi perekrutan mesin transkripsi dan tingkat ekspresi gen.

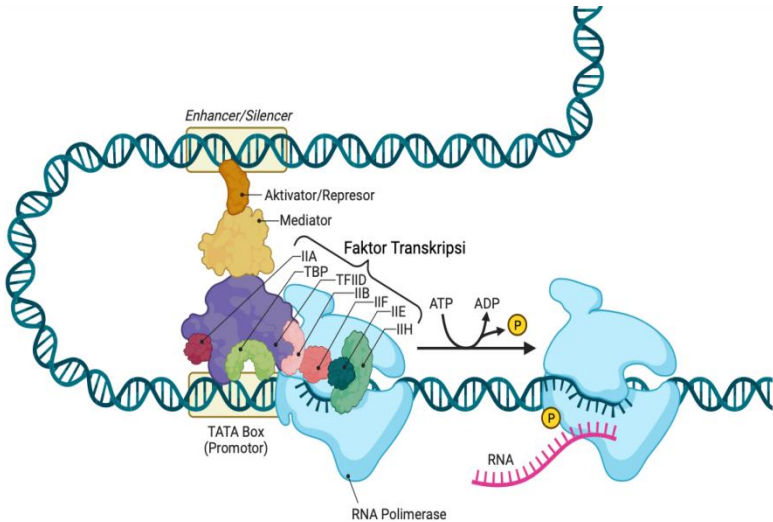
Transkrip RNA yang dihasilkan, termasuk messenger RNA (mRNA), transfer RNA (tRNA), dan ribosom RNA (rRNA), memiliki fungsi yang beragam di dalam sel. Molekul mRNA membawa kode genetik dari DNA ke ribosom untuk sintesis protein, sedangkan tRNA membawa asam amino ke ribosom selama translasi, dan rRNA membentuk bagian integral dari struktur ribosom (Long *et al.* 2017).

Memahami transkripsi memberikan wawasan tentang regulasi ekspresi gen, diferensiasi seluler, respons terhadap isyarat lingkungan, dan perkembangan serta fungsi organisme. Mekanisme ini merupakan tahap penting dalam aliran informasi genetik, yang berperan penting dalam membentuk keragaman dan kompleksitas kehidupan.

1.3.2 Peran RNA Polimerase dan Faktor Transkripsi

RNA polimerase dan faktor transkripsi adalah pemain penting dalam regulasi dan pelaksanaan transkripsi, yang berperan dalam mengendalikan ekspresi gen dan mengatur sintesis molekul RNA dari DNA cetakan (Gambar 1.3). RNA polimerase, enzim yang bertanggung jawab untuk mengkatalisis proses transkripsi, memiliki peran sentral dalam menyalin kode genetik dari DNA ke dalam RNA. Pada eukariota, terdapat beberapa jenis RNA polimerase, masing-masing didedikasikan untuk menyalin kelas RNA tertentu.

Sebagai contoh, RNA polimerase II mentranskripsi gen pengkode protein untuk menghasilkan messenger RNA (mRNA), yang berfungsi sebagai cetakan untuk sintesis protein.



Gambar 1. 3 Sintesis RNA dari Molekul DNA dan Regulasinya oleh Faktor Transkripsi di Daerah Promotor

Faktor transkripsi adalah protein yang berinteraksi dengan sekuens DNA tertentu, yang dikenal sebagai promotor, untuk memodulasi aktivitas RNA polimerase dan memulai atau mengatur transkripsi. Faktor transkripsi berfungsi dengan mengikat daerah pengaturan ini, baik meningkatkan atau menekan transkripsi gen di dekatnya. Faktor transkripsi dapat mengarahkan pengaruh pengaturannya melalui berbagai mekanisme. Beberapa faktor transkripsi mengarahkan RNA polimerase ke daerah promotor gen, memfasilitasi inisiasi transkripsi. Faktor transkripsi lainnya juga dapat bertindak sebagai penekan, menghambat pengikatan RNA polimerase atau menginduksi modifikasi kromatin yang menghambat akses ke DNA, sehingga menekan transkripsi (Deplancke *et al.* 2016).

Interaksi antara RNA polimerase dan faktor transkripsi sangat terkoordinasi dan bergantung pada konteks, yang menentukan waktu yang tepat, besarnya, dan kekhususan ekspresi gen. Mesin pengatur ini sangat penting dalam menentukan gen mana yang ditranskripsi, kapan ditranskripsi, dan sejauh mana, memengaruhi berbagai proses seluler, termasuk pengembangan, diferensiasi, respons terhadap rangsangan, dan pemeliharaan homeostasis seluler (Lambert *et al.* 2018).

Bersama-sama, RNA polimerase dan faktor transkripsi membentuk jejaring regulasi yang menyempurnakan ekspresi gen sebagai respons terhadap isyarat internal dan eksternal. Interaksi yang rumit dan mekanisme kontrol yang tepat mengatur lanskap transkripsi, berkontribusi secara signifikan terhadap keragaman dan fungsionalitas sel dan organisme.

1.3.3 Metode Komputasi dalam Memprediksi Situs Pengikatan Faktor Transkripsi dan Daerah Promotor

Pendekatan bioinformatika telah merevolusi identifikasi dan pemahaman elemen dan jejaring regulasi dalam genom. Metode komputasi ini memanfaatkan data genom berskala besar untuk menguraikan mesin pengatur yang kompleks yang mengatur ekspresi gen. Salah satu tujuan utamanya adalah untuk mengidentifikasi elemen regulasi, seperti promotor, *enhancer*, *silencer*, dan situs pengikatan faktor transkripsi, yang mengontrol kapan dan sejauh mana gen ditranskripsi (Suter 2020).

Alat bioinformatika berbasis sekuens menggunakan algoritme yang memindai sekuens DNA untuk memprediksi elemen pengatur potensial berdasarkan pola atau motif sekuens. Alat-alat seperti *Multiple Em for Motif Elicitation* (MEME) dan *Hypergeometric Optimization of Motif EnRichment* (HOMER) menganalisis data sekuens untuk

mengidentifikasi motif yang terwakili secara berlebihan, memberikan wawasan tentang tempat pengikatan yang potensial untuk faktor transkripsi atau protein pengatur lainnya.

Chromatin Immunoprecipitation sequencing (ChIP-seq) adalah teknik lainnya yang terintegrasi dengan bioinformatika untuk memetakan interaksi protein-DNA. Hal ini memungkinkan identifikasi daerah genom di mana protein tertentu, seperti faktor transkripsi atau modifikasi histon, berikatan dengan DNA. Dengan menggabungkan data ChIP-seq dengan analisis komputasi, para peneliti dapat secara tepat menunjukkan elemen-elemen regulasi yang terkait dengan regulasi ekspresi gen.

Algoritma pembelajaran mesin dan model komputasi berbasis data juga telah muncul sebagai alat yang berharga untuk memprediksi interaksi regulasi gen dan dinamika jejaring. Pendekatan-pendekatan ini memanfaatkan kumpulan data genom berskala besar untuk menyimpulkan hubungan regulasi, mengklasifikasikan elemen-elemen regulasi, dan memprediksi pola ekspresi gen berdasarkan berbagai fitur molekuler.

1.4 Translasi: Sintesis Protein

1.4.1 Konsep Translasi

Proses translasi merupakan konversi kode genetik yang dibawa oleh messenger RNA (mRNA) menjadi protein fungsional pelaksana fungsi seluler. Proses molekuler yang kompleks dan tepat ini terjadi pada struktur seluler yang disebut ribosom, di mana urutan nukleotida pada mRNA diuraikan dan diterjemahkan ke dalam urutan asam amino tertentu, membentuk rantai polipeptida. Urutan nukleotida dalam mRNA dibaca dalam tiga set, yang dikenal sebagai

kodon, dan setiap kodon berhubungan dengan asam amino tertentu atau berfungsi sebagai sinyal untuk memulai atau menghentikan sintesis protein (Roux and Topisirovic 2018).

Molekul transfer RNA (tRNA) berperan penting dalam translasi dengan berfungsi sebagai adaptor antara urutan mRNA dan asam amino. Setiap molekul tRNA terkait dengan asam amino tertentu dan membawa antikodon sebuah urutan yang melengkapi kodon pada mRNA. Ketika ribosom bergerak di sepanjang untai mRNA, mencocokkan kodon dengan antikodon, molekul tRNA mengantarkan asam amino yang sesuai, sehingga memfasilitasi perakitan rantai polipeptida.

Proses translasi terdiri dari tiga tahap utama: inisiasi, pemanjangan, dan terminasi. Selama inisiasi, ribosom berkumpul pada mRNA, mengenali kodon awal (biasanya AUG), dan tRNA pertama yang membawa asam amino yang sesuai berikatan dengan ribosom. Pemanjangan melibatkan penambahan asam amino secara berurutan pada rantai polipeptida yang sedang tumbuh, saat ribosom bergerak di sepanjang mRNA dan membaca setiap kodon. Pemutusan terjadi ketika kodon berhenti tercapai, menandakan pelepasan rantai polipeptida yang telah selesai dari ribosom (Gualerzi and Pon 2015).

Keakuratan dan ketepatan translasi sangat penting untuk fungsi protein yang tepat. Mekanisme kontrol kualitas, seperti pengoreksian oleh ribosom dan mesin seluler untuk pelipatan dan modifikasi protein, memastikan bahwa protein yang disintesis benar secara struktural dan fungsional. Modifikasi pasca-translasi, seperti fosforilasi, glikosilasi, dan pembelahan, dapat memodifikasi lebih lanjut protein yang baru disintesis, memengaruhi fungsi dan lokalisasi di dalam sel.

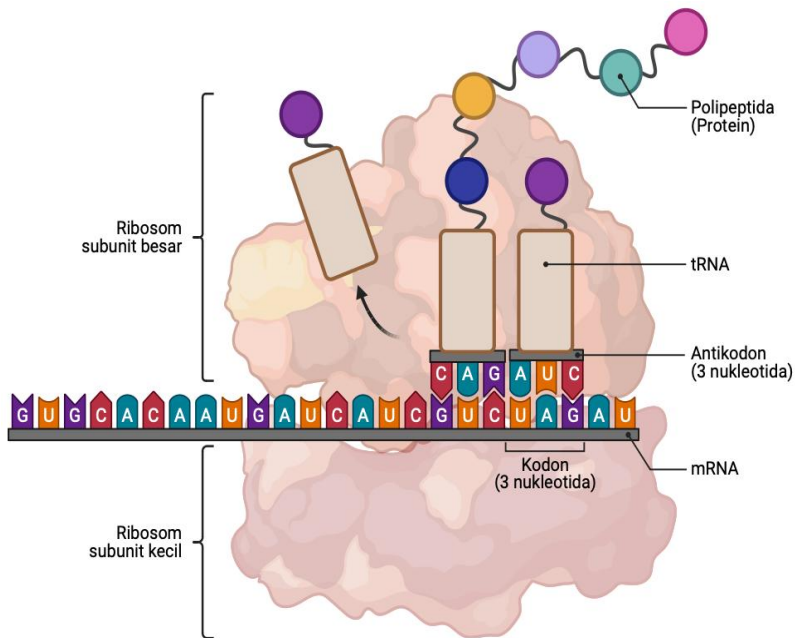
Memahami seluk-beluk translasi memberikan wawasan tentang bagaimana kode genetik diterjemahkan ke

dalam protein fungsional, membentuk proses seluler dan sifat fenotipik. Disregulasi atau kesalahan dalam translasi dapat menyebabkan berbagai penyakit, menyoroti pentingnya proses ini dalam menjaga homeostasis dan fungsi seluler.

1.4.2 Ribosom, tRNA, dan Kode Genetik

Ribosom, yang sering disebut sebagai pabrik protein sel, adalah mesin molekuler kompleks yang bertanggung jawab untuk menerjemahkan kode genetik yang dibawa oleh messenger RNA (mRNA) menjadi protein. Terdiri dari RNA ribosom (rRNA) dan banyak protein, satu unit fungsional ribosom memiliki dua subunit yang bersatu selama translasi untuk membaca mRNA dan mensintesis protein (Gambar 1.4). Struktur dan fungsinya sangat dilestarikan (konservatif) di semua organisme hidup, menggarisbawahi peran fundamental mereka dalam proses seluler.

Molekul Transfer RNA (tRNA) adalah komponen penting dalam translasi, yang bertindak sebagai adaptor antara kode mRNA dan asam amino. Setiap molekul tRNA secara khusus terkait dengan asam amino tertentu dan membawa antikodon sebuah urutan yang berkomplemen dengan kodon pada mRNA. Kemampuan berpasangan ini memungkinkan tRNA untuk mengirimkan asam amino yang benar ke ribosom berdasarkan kodon yang dikenali, memastikan perakitan protein yang akurat selama translasi.



Gambar 1. 4 Interaksi Ribosom, mRNA, dan tRNA dalam Sintesis Protein

Kode genetik, yang terdiri dari rangkaian tiga nukleotida yang disebut kodon, berfungsi sebagai bahasa yang menentukan korespondensi antara urutan mRNA dan asam amino. Terdapat 64 kemungkinan kodon, dengan sebagian besar kodon mengkode asam amino tertentu, sementara beberapa kodon lainnya menandakan dimulainya atau dihentikannya translasi. Kode genetik ini hampir universal di semua organisme, yang mencerminkan adanya kesamaan leluhur dan pentingnya pelestariannya dalam memastikan penerjemahan informasi genetik yang akurat dan konsisten ke dalam protein (Hanson and Coller 2018).

Interaksi ribosom-tRNA, yang dipandu oleh kode genetik, mengikuti urutan kejadian yang tepat selama proses translasi. Ribosom memfasilitasi pasangan kodon mRNA dengan antikodon tRNA yang saling melengkapi, sehingga memposisikan asam amino yang tepat dalam urutan tertentu untuk membentuk rantai polipeptida blok pembangun protein. Proses ini terjadi dengan cara yang sangat terkontrol, memastikan interpretasi yang akurat dari kode genetik dan sintesis protein yang sesuai dengan instruksi yang dikodekan dalam mRNA (Reid and Nicchitta 2015).

Fungsi ribosom, molekul tRNA, dan kode genetik yang terkoordinasi sangat penting untuk sintesis protein fungsional yang penting untuk struktur, fungsi, dan regulasi seluler. Interaksi mereka selama translasi menunjukkan ketepatan dan kompleksitas mesin molekuler yang mengatur aliran informasi genetik, menyoroti peran sentral mereka dalam sintesis protein yang sangat penting untuk proses kehidupan.

1.4.3 Alat Bioinformatika untuk Memprediksi Struktur dan Fungsi Protein dari Data Genom

Alat bioinformatika memiliki peran penting dalam memprediksi struktur dan fungsi protein dengan memanfaatkan data genom untuk memecahkan kode informasi yang tertanam dalam sekuens DNA. Memahami struktur dan fungsi protein sangat penting untuk menjelaskan perannya dalam proses biologis dan penyakit, dan bioinformatika menawarkan berbagai metode komputasi untuk menyimpulkan aspek-aspek ini dari sekuens genom (de Klerk and AC't Hoen 2015).

Salah satu pendekatannya adalah pemodelan homologi atau pemodelan komparatif, yang memprediksi struktur protein berdasarkan kemiripannya dengan protein yang

strukturnya sudah diketahui. Alat-alat seperti SWISS-MODEL, Phyre2, dan MODELLER menggunakan algoritme yang menyelaraskan sekuens protein target dengan protein terkait dengan struktur yang diketahui, sehingga menghasilkan model teoretis struktur 3D protein. Metode ini sangat berguna ketika metode penentuan struktur eksperimental, seperti kristalografi sinar-X atau spektroskopi resonansi magnetik nuklir (NMR), tidak memungkinkan.

Strategi bioinformatika lainnya melibatkan prediksi struktur protein melalui pemodelan *ab initio* atau *de novo*, yang bertujuan untuk memprediksi struktur protein semata-mata dari urutan asam aminonya tanpa bergantung pada *template* homolog. Algoritme seperti Rosetta dan I-TASSER menggunakan prinsip-prinsip berbasis fisika dan potensi statistik untuk memprediksi struktur protein dengan mencari konformasi yang paling menguntungkan secara energi.

Selain prediksi struktur, alat bioinformatika membantu dalam menyimpulkan fungsi protein dari data genom. Alat anotasi fungsional, termasuk InterPro, Pfam, dan PROSITE, menggunakan algoritme prediksi domain untuk mengidentifikasi domain atau motif yang dilestarikan dalam urutan protein. Domain-domain ini sering kali berhubungan dengan fungsi-fungsi tertentu, yang memungkinkan para peneliti untuk menyimpulkan fungsi-fungsi protein yang diduga berdasarkan keberadaan motif-motif yang dilestarikan ini.

Anotasi fungsional juga meluas untuk memprediksi interaksi dan interaksi protein-protein. Pendekatan berbasis jejaring, seperti STRING dan BioGRID, mengintegrasikan data genomik dan proteomik untuk memprediksi dan memvisualisasikan interaksi antara protein, mengungkap asosiasi fungsional potensial dan jalur pensinyalan. Alat-alat

ini membantu dalam menjelaskan jejaring interaksi protein yang kompleks, yang berkontribusi pada pemahaman yang lebih dalam tentang proses biologis dan mekanisme penyakit.

1.5 Mekanisme Regulasi dan Kontrol

1.5.1 Regulasi Gen dan Dampaknya Terhadap Dogma Sentral

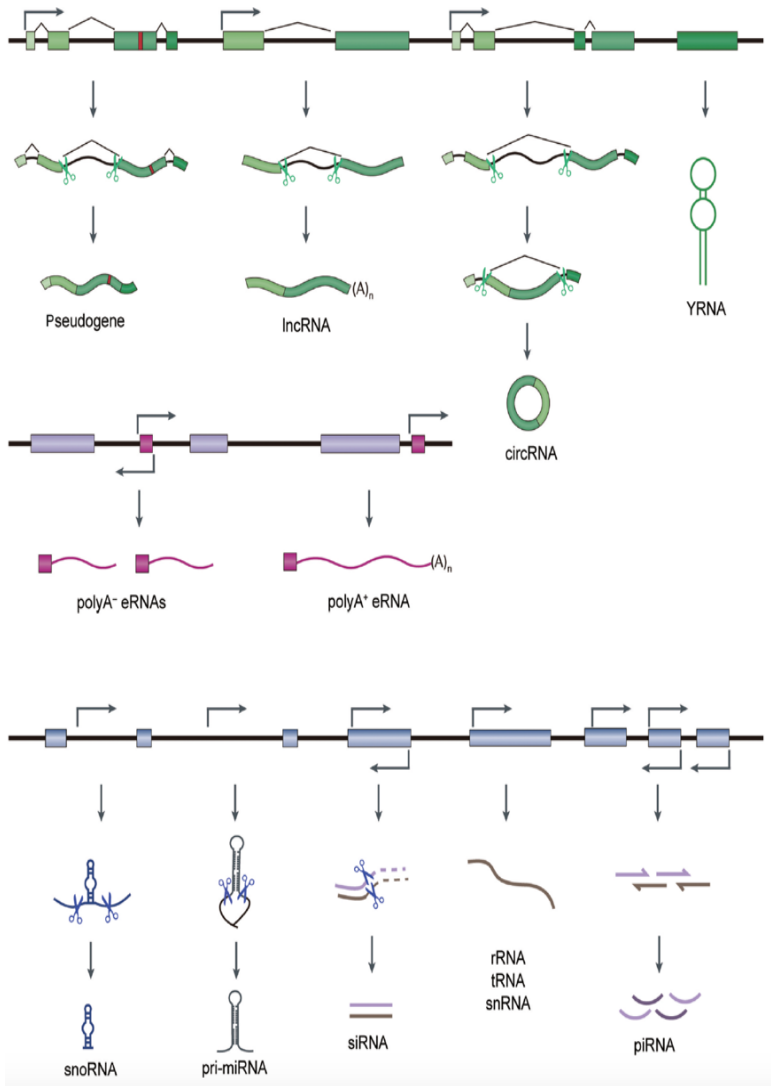
Regulasi gen, aspek penting dari dogma sentral biologi molekuler, mencakup mekanisme rumit yang memodulasi kapan, di mana, dan sejauh mana gen diekspresikan di dalam sel. Sementara dogma sentral menguraikan aliran linear informasi genetik dari DNA ke RNA ke protein, regulasi gen memperkenalkan lapisan kompleksitas dengan mengarahkan kontrol atas proses-proses ini. Mekanisme regulasi memengaruhi inisiasi transkripsi, pemrosesan RNA, serta stabilitas dan penerjemahan mRNA, yang pada akhirnya berdampak pada tingkat protein dan fungsi seluler. Faktor transkripsi, modifikasi kromatin, RNA yang tidak dikodekan (*non-coding*), dan perubahan epigenetik adalah beberapa di antara beragam faktor yang mengatur regulasi gen (Zhao *et al.* 2017).

Interaksi antara regulasi gen dan dogma sentral sangat besar, karena secara signifikan membentuk perilaku seluler, perkembangan, dan respons terhadap rangsangan lingkungan. Mekanisme pengaturan ini memengaruhi tingkat protein spesifik yang diproduksi dalam sel, memungkinkan kontrol yang tepat atas proses biologis. Modulasi pola ekspresi gen di berbagai jenis sel, tahap perkembangan, dan kondisi fisiologis menyoroti keserbagunaan dan kemampuan beradaptasi regulasi gen dalam mengatur kompleksitas organisme hidup. Memahami mekanisme pengaturan ini meningkatkan pemahaman kita

tentang bagaimana informasi genetik digunakan, memberikan wawasan tentang mekanisme fisiologi, proses perkembangan, dan dasar keanekaragaman hayati (Shibata and Sugimoto 2019).

1.5.2 Peran RNA Non-Kode dalam Regulasi Ekspresi Gen

Non-coding RNA (ncRNA) merupakan kelas molekul RNA yang beragam yang tidak mengkode protein, tetapi berperan penting dalam mengatur ekspresi gen dan berbagai proses seluler. Molekul ncRNA ini hadir dalam berbagai bentuk, termasuk di antaranya adalah microRNA (miRNA), *long non-coding* RNA (lncRNA), *small interfering* RNA (siRNA), dan lainnya (Gambar 1.5; Tabel 1.1). Meskipun tidak memiliki kapasitas pengkodean protein, molekul-molekul ini memberikan pengaruh pengaturan yang substansial terhadap ekspresi gen di berbagai tingkatan (Chen *et al.* 2017).



Gambar 1. 5 Jenis *Non-Coding* RNA (ncRNA) yang Berbeda Ditranskripsi dari Genom Eukariotik

(sumber: Zhang *et al.* 2019)

Tabel 1. 1 Klasifikasi Non-Coding RNA (ncRNA)

Tipe ncRNA	Nama	Ukuran (nt)
<i>housekeeping</i> ncRNA		
rRNA	<i>ribosomal</i> RNA	120–4,500
tRNA	<i>transfer</i> RNA	76–90
snRNA	<i>small nuclear</i> RNA	100–300
snoRNA	<i>small nucleolar</i> RNA	60–400
TERC	<i>telomerase</i> RNA	–
tRF	tRNA-Derived Fragments	16–28
tiRNA	tRNA halves	29–50
miRNA	microRNA	21–23
<i>regulatory</i> ncRNA		
siRNA	<i>small interfering</i> RNA	20–25
piRNA	<i>piwi-interacting</i> RNA	26–32
eRNA	<i>enhancer</i> RNA	50–2,000
lncRNA	<i>long non-coding</i> RNAs	>200
circRNA	<i>circular</i> RNA	100–10,000
Y RNA	Y RNA	–

Sumber: Zhang *et al.* 2019

MicroRNA adalah molekul ncRNA pendek yang secara pasca-transkripsi mengatur ekspresi gen dengan mengikat mRNA target, yang mengarah pada degradasi atau represi

translasi. Melalui interaksi pemasangan basa dengan urutan komplementer dalam mRNA, miRNA dapat menyempurnakan ekspresi berbagai gen, yang berdampak pada beragam proses biologis seperti perkembangan, diferensiasi, dan penyakit.

Di sisi lain, RNA non-kode panjang (lncRNA), menunjukkan fungsi yang beragam, bertindak sebagai *scaffold*, pemandu, atau umpan untuk mengatur ekspresi gen pada tingkat transkripsi, pasca-transkripsi, dan epigenetik. Mereka berinteraksi dengan protein, DNA, atau RNA lain untuk memodulasi struktur kromatin, regulasi transkripsi, dan pemrosesan RNA, memengaruhi berbagai fungsi seluler dan berkontribusi pada kompleksitas jejaring regulasi gen (Dykes and Emanuelli 2017).

Selain itu, *small interfering RNAs* (siRNAs) dan *PIWI-interacting RNAs* (piRNAs) berfungsi dalam pembungkaman gen dan mekanisme pertahanan genom dengan menargetkan dan mendegradasi mRNA atau elemen transposable tertentu, menjaga integritas dan stabilitas genom.

Peran ncRNA dalam regulasi ekspresi gen menambah pemahaman tentang mekanisme kontrol genetik. Fungsi dan kapasitas pengaturannya yang beragam memungkinkan sel untuk menyempurnakan ekspresi gen, merespons isyarat lingkungan, dan mempertahankan homeostasis seluler. Mempelajari fungsi dan interaksi ncRNA merupakan bagian integral untuk memahami kompleksitas regulasi gen dan implikasinya dalam kesehatan, penyakit, dan perkembangan.

1.5.3 Pendekatan Bioinformatika dalam Mengidentifikasi Elemen dan Jejaring Regulasi

Bioinformatika menawarkan serangkaian alat dan pendekatan komputasi untuk mengidentifikasi elemen regulasi dan jejaring regulasi dalam genom. Metodologi ini memanfaatkan data genom berskala besar untuk menguraikan mekanisme yang mengatur ekspresi gen dan proses regulasi (Akhtar *et al.* 2016).

Alat bioinformatika berbasis sekuens memiliki peran mendasar dalam memprediksi elemen regulasi dengan memindai sekuens DNA untuk mencari motif atau pola tertentu yang terkait dengan daerah regulasi. Program seperti MEME, HOMER, dan FIMO menggunakan algoritme yang mengidentifikasi motif DNA yang terwakili secara over-representatif, memberikan wawasan tentang situs pengikatan faktor transkripsi potensial dan elemen regulasi.

Pendekatan genomik fungsional, seperti uji reporter dan DNase-seq serta ChIP-seq, memberikan data yang berharga untuk analisis bioinformatika dengan mengkarakterisasi daerah kromatin terbuka atau menguji fungsionalitas elemen pengatur yang diduga. Metode ini juga dapat mengidentifikasi daerah di mana protein tertentu, seperti faktor transkripsi atau modifikasi histon, berikatan dengan DNA. Teknik-teknik eksperimental ini menghasilkan data yang digunakan dalam *pipeline* komputasi untuk mengidentifikasi dan membuat anotasi elemen-elemen regulasi.

Selain itu, pendekatan berbasis jejaring dalam bioinformatika mengungkap interaksi yang kompleks di antara elemen pengatur, gen, dan protein. Metode sistem biologi, termasuk pemodelan jejaring (*network*) regulasi gen dan analisis jalur (*pathway*), mengintegrasikan beragam data omics untuk membangun peta komprehensif interaksi regulasi dalam sel atau organisme. Model-model ini

mengungkapkan organisasi hierarkis, *crosstalk* antara jalur, dan dinamika jejaring regulasi, memberikan wawasan tentang koordinasi dan regulasi proses biologis.

Pembelajaran mesin dan model komputasi berbasis data semakin banyak digunakan untuk memprediksi interaksi regulasi gen dan dinamika jejaring. Pendekatan-pendekatan ini memanfaatkan kumpulan data genom berskala besar untuk menyimpulkan hubungan regulasi, mengklasifikasikan elemen-elemen regulasi, dan memprediksi pola ekspresi gen berdasarkan berbagai fitur molekuler.

1.6 Integrasi Data Omics

1.6.1 Integrasi Data Omics untuk Mempelajari Dogma Sentral

Integrasi data omics telah muncul sebagai strategi yang ampuh untuk mempelajari dogma sentral biologi molekuler secara komprehensif, yang menawarkan pemahaman holistik tentang aliran informasi genetik di dalam sel. Teknologi omics, termasuk genomik, transkriptomik, proteomik, dan metabolomik, menghasilkan kumpulan data berskala besar yang menangkap berbagai lapisan informasi biologis. Mengintegrasikan set data yang beragam ini memungkinkan para peneliti untuk mengungkap kompleksitas dan interaksi di antara DNA, RNA, protein, dan metabolit, yang menjelaskan proses dinamis yang diatur oleh dogma sentral (Subramanian *et al.* 2020).

Genomik, studi tentang seluruh genom organisme, memberikan wawasan tentang urutan DNA, variasi, dan elemen regulasi. Transkriptomik mengeksplorasi transkrip RNA yang ada di dalam sel, mengungkapkan pola ekspresi gen dan mekanisme pengaturan. Proteomik berfokus pada

seluruh komplemen protein, menguraikan kelimpahannya, modifikasi pasca-translasi, dan interaksi. Metabolomik, di sisi lain, meneliti rangkaian lengkap metabolit molekul kecil, menawarkan wawasan tentang proses seluler dan sifat fenotipik.

Integrasi data omics melibatkan metode komputasi dan alat bioinformatika yang memfasilitasi normalisasi, analisis, dan integrasi data di berbagai platform. Dengan menggabungkan set data genomik, transkriptomik, proteomik, dan metabolomik, para peneliti dapat menghasilkan profil molekuler yang komprehensif, mengungkap jejaring regulasi, mengidentifikasi biomarker, dan mendapatkan pemahaman tingkat sistem tentang fungsi seluler dan mekanisme penyakit (Wörheide *et al.* 2021).

Sebagai contoh, analisis omik integratif dapat menjelaskan bagaimana variasi genetik (genomik) memengaruhi ekspresi gen (transkriptomik), yang mengarah pada perubahan protein tertentu (proteomik) yang, pada gilirannya, memengaruhi proses seluler dan profil metabolit (metabolomik). Pendekatan terpadu ini memfasilitasi identifikasi simpul regulasi utama, jalur pensinyalan, dan interaksi antara molekul biologis yang berbeda, sehingga memberikan pandangan yang lebih komprehensif tentang dinamika dogma sentral dalam sel.

Integrasi data omics dalam mempelajari dogma sentral memungkinkan para peneliti untuk menguraikan interaksi molekuler, jejaring regulasi, dan implikasi fungsionalnya. Pendekatan integratif ini membuka jalan untuk pemahaman yang lebih dalam tentang proses seluler, mekanisme penyakit, dan hubungan yang rumit antara aliran informasi genetik, sintesis protein, dan fenotipe seluler.

1.6.2 Tantangan dan Kemajuan dalam Menangani Data Multi-Omics

Integrasi data multi-omik telah membuka jalan baru dalam penelitian biologi, menawarkan pandangan yang komprehensif tentang proses seluler dan interaksi molekuler. Namun, hal ini juga menghadirkan tantangan yang signifikan dalam penanganan, analisis, dan interpretasi data. Salah satu tantangan utama adalah banyaknya volume dan kompleksitas data yang dihasilkan oleh berbagai teknologi omics. Genomik, transkriptomik, proteomik, metabolomik, dan kumpulan data omik lainnya bervariasi dalam struktur, skala, dan kualitasnya, sehingga integrasi mereka menjadi tugas yang tidak sepele (Buescher and Driggers 2016).

Standardisasi dan normalisasi data merupakan rintangan lain dalam menangani data multi-omics. Setiap teknologi omics menggunakan unit pengukuran, protokol eksperimental, dan format data yang berbeda, sehingga membutuhkan metode harmonisasi untuk memastikan kompatibilitas integrasi. Mengembangkan pendekatan normalisasi yang kuat yang memperhitungkan variasi teknis dan bias di seluruh set data sangat penting untuk integrasi dan interpretasi yang akurat (Misra *et al.* 2019).

Integrasi data multi-omik menuntut alat komputasi yang canggih dan algoritme bioinformatika yang mampu menganalisis beragam jenis data, mengidentifikasi korelasi, dan mengungkap pengetahuan biologis yang bermakna. Model statistik integratif, teknik pembelajaran mesin, dan pendekatan berbasis jejaring terus berkembang untuk mengatasi tantangan ini, membantu integrasi dan interpretasi set data multi-omics yang kompleks.

Kemajuan dalam biologi komputasi dan bioinformatika telah mengarah pada pengembangan metode inovatif untuk menangani data multi-omics. Kerangka kerja dan platform

integrasi, seperti Bioconductor, Galaxy, dan OmicsNet, menawarkan alat dan *pipeline* untuk prapemrosesan, integrasi, dan analisis data, yang memfasilitasi integrasi dataset omics yang berbeda.

Kemunculan solusi berbasis *cloud* dan infrastruktur komputasi berkinerja tinggi telah memungkinkan penyimpanan, pemrosesan, dan analisis yang dapat diskalakan untuk set data multi-omics berskala besar. Kemajuan ini memberdayakan para peneliti untuk melakukan analisis yang kompleks dan mengeksplorasi hubungan antara berbagai kelompok molekul dengan peningkatan efisiensi dan daya komputasi.

Terlepas dari kemajuan ini, tantangan tetap ada dalam mengintegrasikan data multi-omik, termasuk kebutuhan akan repositori data terstandardisasi, metode komputasi yang lebih baik untuk integrasi data, dan kemampuan interpretasi yang lebih baik dari hasil yang diintegrasikan. Mengatasi tantangan-tantangan ini akan terus mendorong inovasi dalam penelitian multi-omik, mendorong pemahaman yang lebih dalam tentang sistem biologis dan kompleksitasnya.

1.6.3 Sistem Biologi dan Analisis Jejaring dalam Memahami Proses Dogma Sentral

Sistem biologi dan analisis jejaring telah muncul sebagai pendekatan yang ampuh untuk memahami proses dogma sentral dengan menjelaskan interaksi dan jejaring regulasi dalam sistem biologis. Sistem biologi bertujuan untuk memahami perilaku holistik sistem biologis dengan mengintegrasikan beragam data omics, pemodelan komputasi, dan validasi eksperimental. Pendekatan interdisipliner ini mempertimbangkan interaksi antara DNA, RNA, protein, dan metabolit sebagai komponen yang saling

berhubungan, memberikan perspektif tingkat sistem dari proses seluler.

Analisis jejaring, aspek mendasar dari sistem biologi, berfokus pada pembangunan dan analisis jejaring biologis yang merepresentasikan hubungan antara biomolekul, gen, protein, dan elemen pengatur. Jejaring regulasi gen memodelkan interaksi antara faktor transkripsi, gen, dan elemen regulasi, mengungkap organisasi hirarkis dan hubungan silang di antara jalur regulasi. Jejaring interaksi protein-protein menjelaskan interaksi fisik antara protein, menyoroti modul fungsional dan kompleks protein di dalam sel. Jejaring metabolik menggambarkan aliran metabolit dan enzim dalam jalur biokimia, menjelaskan metabolisme seluler dan mekanisme pengaturan.

Pendekatan berbasis jejaring ini memungkinkan identifikasi simpul, hub, dan modul utama dalam jejaring biologis, mengungkapkan regulator penting, jalur sinyal, dan peran mereka dalam proses dogma sentral. Model komputasi yang berasal dari analisis jejaring membantu mensimulasikan dan memprediksi perilaku sistem biologis, yang memungkinkan para peneliti untuk menyelidiki dampak gangguan atau variasi genetik pada proses seluler (Reel *et al.* 2021).

Pendekatan berbasis jejaring membantu interpretasi data multi-omik dengan mengintegrasikan kumpulan data yang beragam ke dalam model jejaring terpadu. Analisis integratif data genomik, transkriptomik, proteomik, dan metabolomik dalam kerangka kerja jejaring mengungkap interaksi yang kompleks, mekanisme pengaturan, dan hubungan fungsional di antara biomolekul.

Penerapan sistem biologi dan analisis jejaring memfasilitasi pemahaman yang lebih dalam tentang bagaimana proses dogma sentral berorkestrasi, diregulasi, dan saling berhubungan dalam konteks seluler yang lebih

luas. Pendekatan-pendekatan ini memberikan pandangan holistik tentang interaksi molekuler, sirkuit regulasi, dan sifat-sifat yang muncul dalam sistem biologis.

1.7 Perspektif Masa Depan Bioinformatika

1.7.1 Teknologi, Tren yang Muncul, dan Prediksi Masa Depan untuk Mempelajari Dogma Sentral dalam Keilmuan Bioinformatika

Teknologi dan tren yang muncul siap untuk merevolusi studi tentang dogma sentral, membuka batas-batas baru dalam memahami proses genetik dan biologi molekuler. Kemajuan dalam teknologi omik sel tunggal menawarkan wawasan yang belum pernah ada sebelumnya ke dalam heterogenitas dan dinamika seluler, memungkinkan studi ekspresi gen, regulasi transkripsi, dan sintesis protein pada tingkat sel tunggal. Sekuensing RNA sel tunggal (*single-cell RNA sequencing*/scRNA-seq) dan teknik transkriptomik spasial memungkinkan karakterisasi sel individu, mengungkap keragaman seluler, lintasan garis keturunan, dan status regulasi dalam jejaring yang kompleks (Luecken and Theis 2019).

Munculnya teknologi omics dengan luaran tinggi dan multi-modal membentuk kembali kemampuan kita untuk mengintegrasikan berbagai lapisan informasi molekuler. Pendekatan multi-omik, yang menggabungkan genomik, transkriptomik, proteomik, dan metabolomik, memfasilitasi pemahaman yang komprehensif tentang proses dogma sentral, memungkinkan penyelidikan sistem biologis yang kompleks secara lebih rinci. Pendekatan integratif ini memberikan pandangan tingkat sistem, menawarkan wawasan tentang keterkaitan berbagai lapisan molekuler yang berbeda dan perannya dalam fungsi seluler.

Kemajuan dalam teknik pengeditan genom, khususnya teknologi berbasis CRISPR, merevolusi manipulasi dan studi gen dan elemen regulasi. CRISPR-Cas9 dan sistem terkait memungkinkan pengeditan genom yang tepat, regulasi transkripsional, dan modifikasi epigenetik, yang memungkinkan para peneliti untuk membedah peran gen dan elemen regulasi tertentu dalam proses dogma sentral dengan presisi yang belum pernah terjadi sebelumnya (Lino *et al.* 2018).

Kecerdasan buatan dan algoritme pembelajaran mesin terus memiliki peran yang semakin signifikan dalam menganalisis data biologis yang kompleks. Pendekatan berbasis AI membantu dalam memprediksi interaksi regulasi gen, menguraikan jejaring biologis, dan menafsirkan kumpulan data multi-omik, memfasilitasi penemuan elemen regulasi baru, jalur, dan target terapeutik.

Kemajuan dalam teknologi pencitraan dan metode komputasi untuk pemetaan genom tiga dimensi (3D) dan biologi struktural menawarkan wawasan tentang organisasi kromatin, arsitektur inti sel, dan organisasi spasial gen, memberikan pemahaman yang lebih dalam tentang bagaimana faktor-faktor ini memengaruhi ekspresi dan regulasi gen.

Masa depan mempelajari dogma sentral terletak pada konvergensi teknologi dan tren yang sedang berkembang ini, yang memungkinkan eksplorasi proses genetik yang komprehensif dan terperinci pada berbagai tingkatan, dari molekul individu hingga seluruh sistem seluler. Kemajuan-kemajuan ini menjanjikan untuk mengurai kompleksitas dogma sentral dan memajukan pemahaman kita tentang biologi.

1.7.2 Peran Bioinformatika dalam Mengungkap Dogma Sentral

Masa depan bioinformatika dalam mengungkap seluk-beluk proses dogma sentral siap untuk mendukung kemajuan yang luar biasa dan kontribusi penting bagi biologi molekuler. Bioinformatika akan terus berperan penting dalam mengintegrasikan, menganalisis, dan menginterpretasikan sejumlah besar data genomik, transkriptomik, proteomik, dan metabolomik. Seiring dengan kemajuan teknologi omics, alat bioinformatika dan algoritme komputasi akan berevolusi untuk menangani dan mengintegrasikan kumpulan data multi-dimensi, menawarkan pemahaman yang lebih komprehensif tentang aliran informasi genetik (Gauthier *et al.* 2019).

Pengembangan pembelajaran mesin (*machine learning*) yang canggih dan teknik kecerdasan buatan (*artificial intelligence/AI*) akan semakin meningkatkan kemampuan bioinformatika, membantu pemodelan prediktif, analisis jejaring, dan pengenalan pola dalam sistem biologis yang kompleks. Pendekatan berbasis AI ini akan memungkinkan identifikasi elemen regulasi baru, jejaring transkripsi, dan interaksi protein, mempercepat penemuan regulator kunci dan mekanisme yang mengatur proses dogma sentral (Biswas and Chakrabarti 2020).

Kemunculan platform berbasis *cloud* dan infrastruktur komputasi berkinerja tinggi akan memfasilitasi penyimpanan, pemrosesan, dan analisis kumpulan data omics yang sangat besar, membuat sumber daya komputasi lebih mudah diakses dan terukur. Aksesibilitas ini akan mendemokratisasi analisis bioinformatika, memungkinkan para peneliti di seluruh dunia untuk mengeksplorasi dan menginterogasi proses dogma sentral dalam konteks biologis yang beragam (Koppad *et al.* 2021).

Bioinformatika akan terus menjembatani kesenjangan antara data eksperimental dan pemodelan komputasi, memfasilitasi pembuatan hipotesis dan desain eksperimental. Pendekatan integratif yang menggabungkan validasi eksperimental dengan prediksi komputasi akan meningkatkan keandalan dan akurasi temuan, memberikan pemahaman yang lebih menyeluruh tentang dogma sentral (Tenenbaum 2016).

Prospek masa depan bioinformatika terletak pada kemampuannya untuk terus berinovasi dan beradaptasi dengan kompleksitas data biologis yang terus berkembang. Dengan menyediakan alat dan kerangka kerja untuk menguraikan proses dogma sentral, bioinformatika akan memiliki peran yang sangat diperlukan dalam memajukan pemahaman kita tentang mekanisme biologis mendasar, mendorong penemuan dalam penelitian pada bidang biomedis, perbaikan genetika hewan atau tumbuhan untuk pertanian, biodiversitas, dan evolusi.

DAFTAR PUSTAKA

- Akhtar MM, Micolucci L, Islam MS, *et al* (2016) Bioinformatic tools for microRNA dissection. *Nucleic Acids Res* 44:24–44
- Biswas N, Chakrabarti S (2020) Artificial intelligence (AI)-based systems biology approaches in multi-omics data analysis of cancer. *Front Oncol* 10:588221
- Buescher JM, Driggers EM (2016) Integration of omics: more than the sum of its parts. *Cancer Metab* 4:1–8
- Burgers PMJ, Kunkel TA (2017) Eukaryotic DNA replication fork. *Annu Rev Biochem* 86:417–438
- Chen YG, Satpathy AT, Chang HY (2017) Gene regulation in the immune system by long noncoding RNAs. *Nat Immunol* 18:962–972
- Costello A, Badran AH (2021) Synthetic biological circuits within an orthogonal central dogma. *Trends Biotechnol* 39:59–71
- Cramer P (2019) Organization and regulation of gene transcription. *Nature* 573:45–54
- De Capitani J, Mutschler H (2023) The Long Road to a Synthetic Self-Replicating Central Dogma. *Biochemistry* 62:1221–1232
- de Klerk E, AC't Hoen P (2015) Alternative mRNA transcription, processing, and translation: insights from RNA sequencing. *Trends Genet* 31:128–139
- Deplancke B, Alpern D, Gardeux V (2016) The genetics of transcription factor DNA binding variation. *Cell* 166:538–554
- Dykes IM, Emanuelli C (2017) Transcriptional and post-transcriptional gene regulation by long non-coding RNA.

Genomics Proteomics Bioinformatics 15:177–186

- Epum EA, Haber JE (2022) DNA replication: the recombination connection. *Trends Cell Biol* 32:45–57
- Fragkos M, Ganier O, Coulombe P, Méchali M (2015) DNA replication origin activation in space and time. *Nat Rev Mol cell Biol* 16:360–374
- Gauthier J, Vincent AT, Charette SJ, Derome N (2019) A brief history of bioinformatics. *Brief Bioinform* 20:1981–1996
- Gualerzi CO, Pon CL (2015) Initiation of mRNA translation in bacteria: structural and dynamic aspects. *Cell Mol Life Sci* 72:4341–4367
- Hanson G, Collier J (2018) Codon optimality, bias and usage in translation and mRNA decay. *Nat Rev Mol cell Biol* 19:20–30
- Koppad S, Gkoutos G V, Acharjee A (2021) Cloud computing enabled big multi-omics data analytics. *Bioinform Biol Insights* 15:11779322211035920
- Lambert SA, Jolma A, Campitelli LF, *et al* (2018) The human transcription factors. *Cell* 172:650–665
- Lino CA, Harper JC, Carney JP, Timlin JA (2018) Delivering CRISPR: a review of the challenges and approaches. *Drug Deliv* 25:1234–1257
- Long Y, Wang X, Youmans DT, Cech TR (2017) How do lncRNAs regulate transcription? *Sci Adv* 3:eaao2110
- Luecken MD, Theis FJ (2019) Current best practices in single-cell RNA-seq analysis: a tutorial. *Mol Syst Biol* 15:e8746
- Misra BB, Langefeld CD, Olivier M, Cox LA (2019) Integrated Omics: Tools, Advances and Future Approaches. *J Mol Endocrinol*. <https://doi.org/10.1530/jme-18-0055>
- Noble D (2018) Central dogma or central debate? *Physiology* 33:246–249

- Parker MW, Botchan MR, Berger JM (2017) Mechanisms and regulation of DNA replication initiation in eukaryotes. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 52:107–144
- Pramanik D, Shelake RM, Kim MJ, Kim J-Y (2021) CRISPR-mediated engineering across the central dogma in plant biology for basic research and crop improvement. *Mol Plant* 14:127–150
- Prioleau M-N, MacAlpine DM (2016) DNA replication origins where do we begin? *Genes Dev* 30:1683–1697
- Reel PS, Reel S, Pearson E, *et al* (2021) Using machine learning approaches for multi-omics data analysis: A review. *Biotechnol Adv* 49:107739
- Reid DW, Nicchitta C V (2015) Diversity and selectivity in mRNA translation on the endoplasmic reticulum. *Nat Rev Mol cell Biol* 16:221–231
- Roux PP, Topisirovic I (2018) Signaling pathways involved in the regulation of mRNA translation. *Mol Cell Biol*
- Saw PE, Xu X, Chen J, Song E-W (2021) Non-coding RNAs: The new central dogma of cancer biology. *Sci China Life Sci* 64:22–50
- Shibata M, Sugimoto K (2019) A gene regulatory network for root hair development. *J Plant Res* 132:301–309
- Subramanian I, Verma S, Kumar S, *et al* (2020) Multi-Omics Data Integration, Interpretation, and Its Application. *Bioinform Biol Insights*. <https://doi.org/10.1177/1177932219899051>
- Suter DM (2020) Transcription factors and DNA play hide and seek. *Trends Cell Biol* 30:491–500
- Tenenbaum JD (2016) Translational bioinformatics: past, present, and future. *Genomics Proteomics Bioinformatics* 14:31–41

- Wörheide MA, Krumsiek J, Kastenmüller G, Arnold M (2021) Multi-omics integration in biomedical research–A metabolomics-centric review. *Anal Chim Acta* 1141:144–162
- Zhang P, Wu W, Chen Q, Chen M (2019) Non-Coding RNAs and their Integrated Networks. *J Integr Bioinform* 16:1–12. <https://doi.org/10.1515/jib-2019-0027>
- Zhao BS, Roundtree IA, He C (2017) Post-transcriptional gene regulation by mRNA modifications. *Nat Rev Mol cell Biol* 18:31–42

BAB 2

BIOINFORMATIKA: KONSEP DASAR, PRINSIP DAN SEJARAH PERKEMBANGANNYA

2.1 Konsep Dasar Bioinformatika

Dalam beberapa dekade terakhir, perkembangan biologi molekuler dan teknologi informasi telah berjalan beriringan, seolah-olah keduanya mengetuk pintu masa depan secara bersamaan. Biologi menyajikan data biologis dalam jumlah yang luar biasa besar (Big Data) mulai dari sekuens DNA, struktur protein, hingga ekspresi gen sementara ilmu komputer menawarkan kekuatan pemrosesan yang mampu membuka makna tersembunyi di balik data tersebut. Dari sinilah **bioinformatika** lahir sebagai bidang yang menjembatani kedua dunia tersebut. Banyak ilmuwan menggambarkaninya bukan sekadar “alat bantu”, melainkan sebuah pendekatan baru untuk memahami kehidupan melalui pola, angka, dan algoritma (Luscombe, Greenbaum, & Gerstein, 2001). Dalam konteks inilah bioinformatika tidak hanya menjadi bidang akademik, tetapi juga fondasi dari berbagai inovasi modern seperti penemuan obat baru, diagnosis penyakit berbasis genom, hingga analisis mikroba dalam ekosistem lingkungan.

2.2 Apa itu Bioinformatika?

Bioinformatika, dalam pengertian ilmiahnya, adalah disiplin ilmu yang memadukan ilmu komputer, matematika, biologi molekuler, dan statistika untuk mengumpulkan, menyimpan, menganalisis, serta menginterpretasikan data biologis dalam berbagai skala. Akan tetapi, definisi formal ini tidak sepenuhnya menggambarkan betapa luas dan mendalamnya manfaat bioinformatika di dunia modern. Di balik istilah-istilah teknis tersebut, bioinformatika sesungguhnya merupakan upaya manusia untuk memahami kehidupan melalui data yang sangat kompleks, mulai dari sekuens DNA hingga jaringan interaksi protein. Kehidupan yang tadinya hanya bisa diamati melalui mikroskop kini dapat dipahami melalui pola digital yang dianalisis menggunakan algoritma cerdas (Luscombe, Greenbaum, & Gerstein, 2001). Dengan kata lain, bioinformatika adalah jembatan yang menghubungkan dunia biologis yang abstrak yang tidak kasat mata dengan representasi komputasional yang dapat dianalisis secara objektif.

Bagi pembaca awam, lebih mudah membayangkan bioinformatika sebagai “bahasa penerjemah kehidupan”. Semua makhluk hidup pada dasarnya membawa buku petunjuk yang tertulis dalam kode A, T, G, dan C, yakni empat basa nitrogen penyusun DNA. Buku ini sangat panjang genom manusia memiliki sekitar 3 miliar huruf dan tidak mungkin dibaca oleh manusia tanpa bantuan teknologi. Di sinilah bioinformatika berperan sebagai pembaca sekaligus penerjemah: ilmu ini mampu mengidentifikasi bagian mana dari genom yang bertugas mengatur pertumbuhan, bagian mana yang mengendalikan warna mata, hingga bagian mana yang rusak dan menyebabkan penyakit. Konsep ini telah dijelaskan secara mendalam oleh Mount & Mount (2001), tetapi kini semakin relevan karena data genomik di seluruh dunia terus bertambah secara eksponensial. Bioinformatika memungkinkan peneliti bukan hanya membaca genom, tetapi

juga menafsirkannya secara fungsional dalam konteks sel dan organisme.

Lebih jauh lagi, perkembangan teknologi komputasi modern telah mendorong bioinformatika memasuki era baru yang jauh lebih dinamis. Kecerdasan buatan dan *machine learning* kini menjadi bagian integral dalam analisis biologis. Model *deep learning* seperti AlphaFold2 telah menunjukkan bahwa komputer mampu memprediksi struktur protein tiga dimensi hanya dari sekuens asam aminonya dengan tingkat akurasi mendekati metode eksperimental (Jumper *et al.*, 2021). Penemuan seperti ini mengubah bioinformatika dari sekadar alat analisis menjadi teknologi penemuan (*discovery technology*). Tidak hanya itu, kajian terbaru menunjukkan bahwa bioinformatika kini memainkan peran sentral dalam studi penyakit menular, seperti pemetaan mutasi virus SARS-CoV-2 dan prediksi dampaknya terhadap penyebaran infeksi (Hadfield *et al.*, 2018). Dengan demikian, bioinformatika berkembang menjadi pilar penting ilmu biomedis modern.

Contoh yang paling mudah dipahami adalah ketika seorang peneliti menemukan sekuens DNA baru misalnya dari bakteri yang hidup di lingkungan ekstrem seperti dasar laut atau kawah vulkanik. Menggunakan alat-alat bioinformatika seperti BLAST, Clustal Omega, atau database genom seperti NCBI dan Ensembl, peneliti dapat membandingkan sekuens tersebut dengan jutaan sekuens lain dalam hitungan detik. Dari hasil perbandingan itu, mereka dapat memperkirakan fungsi gen, mempelajari evolusinya, hingga memprediksi apakah gen tersebut mungkin menghasilkan enzim yang bermanfaat bagi industri atau kesehatan. Tanpa bioinformatika, semua proses ini akan memakan waktu bertahun-tahun dan sangat bergantung pada eksperimen laboratorium yang memakan biaya besar. Dengan kata lain, bioinformatika bukan hanya “alat bantu”, tetapi fondasi yang mempercepat penemuan ilmiah, memperkaya pemahaman biologi, dan membuka peluang luas bagi inovasi masa depan.

2.2.1 Mengapa Bioinformatika Muncul?

Bioinformatika tidak muncul sebagai sebuah bidang ilmu secara tiba-tiba, tetapi merupakan respons ilmiah terhadap “krisis data” yang terjadi pada akhir abad ke-20. Sejak ditemukannya struktur DNA oleh Watson dan Crick pada tahun 1953, para ilmuwan mulai memahami bahwa informasi kehidupan terletak dalam rangkaian kode genetik yang sangat panjang dan kompleks. Namun, hingga menjelang tahun 1990-an, kemampuan manusia untuk membaca dan mengolah informasi tersebut masih sangat terbatas. Kehadiran proyek ambisius Human Genome Project (HGP) menjadi titik balik yang menentukan. Proyek internasional besar ini berusaha memetakan seluruh genom manusia, yang berisi sekitar 3 miliar pasangan basa, suatu jumlah yang tidak mungkin dianalisis secara manual atau dengan metode tradisional laboratorium (Collins, Morgan, & Patrinos, 2003). Pada saat itu, para ilmuwan menyadari bahwa diperlukan sistem komputasi dan algoritma khusus yang mampu menangani skala data sebesar itu dengan akurasi tinggi. Kebutuhan inilah yang menjadi fondasi lahirnya bioinformatika sebagai disiplin ilmiah modern.

Selain HGP, perkembangan bioinformatika juga didorong oleh meningkatnya kemampuan teknologi sekuensing. Teknologi awal seperti Sanger sequencing hanya mampu menghasilkan data dalam jumlah terbatas dan membutuhkan waktu lama. Namun, pada awal 2000-an, muncul teknologi Next Generation Sequencing (NGS) yang secara drastis meningkatkan kecepatan dan menurunkan biaya sekuensing. Satu mesin NGS saat ini dapat menghasilkan miliaran pembacaan DNA dalam satu kali proses, jumlah yang jauh lebih besar daripada total seluruh data genomik yang tersedia pada tahun 1980-an. Menurut laporan terbaru oleh Goodwin, McPherson, dan McCombie (2016), biaya sekuensing

genom manusia turun dari sekitar USD 100 juta pada 2001 menjadi kurang dari USD 1.000 pada 2015. Penurunan biaya dan peningkatan throughput ini menciptakan “ledakan data biologis” (biological data explosion), sehingga bioinformatika menjadi kebutuhan yang tidak bisa ditunda tanpa algoritma komputasi, data biologis modern akan menumpuk tanpa makna dan tidak dapat dimanfaatkan.

Selain kebutuhan teknis untuk menangani data dalam jumlah besar, bioinformatika juga muncul karena meningkatnya kompleksitas pertanyaan ilmiah dalam biologi modern. Biologi tidak lagi hanya membahas satu gen atau satu protein, tetapi mencoba memahami jaringan interaksi yang melibatkan ribuan molekul dalam organisme. Contohnya adalah pemetaan interaksi protein (*protein-protein interaction networks*), simulasi metabolisme sel, analisis epigenomik, dan studi evolusi genom. Pendekatan komputasional diperlukan untuk memodelkan interaksi tersebut karena sistem biologis bersifat nonlinear, dinamis, dan sangat kompleks (Barabási & Oltvai, 2004). Metode komputasi seperti graf, statistika lanjutan, dan machine learning menjadi inti dari analisis tersebut. Tanpa bioinformatika, pertanyaan besar dalam biologi misalnya bagaimana penyakit muncul, bagaimana organisme beradaptasi, atau bagaimana sistem imun bekerja akan jauh lebih sulit dijawab.

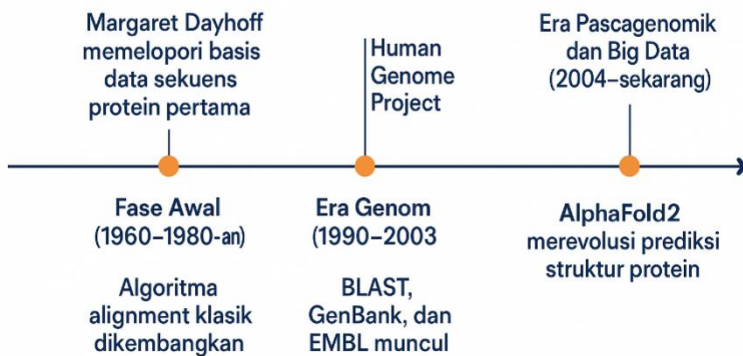
Contoh aplikatif paling jelas dapat dilihat dalam penelitian kanker modern. Teknologi seperti RNA-Seq memungkinkan para ilmuwan mengukur ekspresi ribuan gen sekaligus dari sampel tumor. Dari data ini, peneliti harus mengidentifikasi gen mana yang mengalami peningkatan atau penurunan ekspresi, bagaimana pola tersebut memengaruhi jalur molekuler, dan bagaimana implikasinya terhadap perkembangan kanker. Teknik

statistik dan algoritma machine learning, seperti nearest shrunken centroids yang diperkenalkan oleh Tibshirani *et al.* (2002), menjadi sangat penting dalam mengolah data ini. Penelitian mutakhir menggunakan metode yang lebih canggih seperti deep neural networks untuk mengidentifikasi mutasi kanker secara otomatis dari data sekuensing (Eraslan *et al.*, 2019). Tanpa keberadaan bioinformatika, data tersebut hanya akan menjadi kumpulan angka tanpa konteks biologis. Dengan bioinformatika, angka-angka tersebut berubah menjadi wawasan berharga yang dapat membantu diagnosis dini, menentukan jenis terapi, hingga memprediksi respons pasien terhadap obat tertentu.

Lebih jauh lagi, pandemi COVID-19 memberikan bukti nyata mengenai mengapa bioinformatika sangat penting dalam biologi dan kesehatan modern. Sejak virus SARS-CoV-2 diidentifikasi pada akhir 2019, ilmuwan di seluruh dunia menggunakan bioinformatika untuk melacak mutasi virus, mempelajari pola penyebarannya, hingga memprediksi struktur protein permukaan virus yang menjadi target vaksin. Platform seperti Nextstrain, yang melakukan analisis real-time genom virus dari seluruh dunia, membuktikan bahwa tanpa bioinformatika, pemantauan pandemi global tidak akan mungkin dilakukan secara cepat dan akurat (Hadfield *et al.*, 2018). Teknologi komputasi bahkan memungkinkan desain vaksin mRNA seperti vaksin Pfizer-BioNTech dan Moderna diselesaikan hanya dalam hitungan minggu, sesuatu yang tidak pernah terjadi dalam sejarah biomedis sebelumnya. Semua ini menegaskan bahwa bioinformatika bukan sekadar pendukung, tetapi pilar utama dalam sains modern.

2.3 Sejarah Perkembangan Bioinformatika

Perkembangan bioinformatika merupakan perjalanan panjang yang sekaligus merefleksikan perkembangan teknologi komputer, biologi molekuler, dan metode analisis data. Dari awalnya sekadar upaya sederhana untuk mengarsipkan sekuens protein, bioinformatika kini menjadi fondasi bagi hampir seluruh riset biologi modern. Evolusi bidang ini tidak berlangsung dalam satu langkah besar, melainkan melalui rangkaian lompatan teknologi dan intelektual yang menghubungkan generasi ilmuwan dari 1960-an hingga era kecerdasan buatan dewasa ini. Pada dasarnya, sejarah bioinformatika adalah sejarah bagaimana manusia belajar membaca, memahami, dan akhirnya memprediksi perilaku kehidupan melalui data.



Gambar 2. 1 Ilustrasi Timeline Sejarah Bioinformatika

2.3.1 Fase Awal (1960–1980-an): Kelahiran Biologi Komputasi

Pada era 1960-an, biologi molekuler baru memasuki babak baru setelah ditemukannya struktur DNA oleh Watson dan Crick pada 1953. Namun, pemahaman terhadap protein dan gen masih sangat terbatas, terutama terkait bagaimana sekuens yang berbeda dapat dibandingkan dan dianalisis. Di tengah keterbatasan tersebut, Margaret Dayhoff, seorang biofisikawan dan pionir dalam komputasi ilmiah, mulai menyusun database sekuens protein pertama di dunia. Karya monumentalnya, *Atlas of Protein Sequence and Structure* (Dayhoff, 1965), bukan hanya sebuah katalog, tetapi juga membentuk dasar prinsip representasi data biologis yang kemudian menjadi inti bioinformatika modern.

Terobosan Dayhoff tidak berhenti pada pengumpulan data. Ia mengembangkan PAM (Point Accepted Mutation) matrix, matriks substitusi pertama yang dirancang untuk memperkirakan perubahan evolusioner antar protein (Dayhoff *et al.*, 1978). PAM menjadi standar emas dalam perbandingan sekuens dan menjadi fondasi bagi algoritma alignment yang digunakan hingga kini. Pada masa yang sama, ilmuwan lain mulai bereksperimen dengan komputasi sederhana untuk memahami struktur protein, mempelajari filogenetika, dan mengembangkan algoritma awal alignment, meskipun terbatas oleh kemampuan komputer yang pada saat itu masih sangat primitif.

Menjelang akhir 1970-an dan awal 1980-an, perkembangan teori algoritma dan statistika semakin mendorong kemunculan metode yang lebih kuat. Pada periode ini muncul algoritma alignment terkenal seperti Needleman–Wunsch (1970) dan Smith–Waterman (1981), membuka jalan bagi perbandingan sekuens

secara sistematis. Fase awal ini berfungsi sebagai “fondasi epistemologis” bioinformatika: biologi komputasional mulai dianggap sebagai subdisiplin yang sah, bukan sekadar eksperimen teknis.

2.3.2 Era Genom (1990–2003): Ledakan Data dan Lahirnya Infrastruktur Bioinformatika Modern

Fase berikutnya adalah periode paling menentukan dalam sejarah bioinformatika: Era Genom, ketika dunia internasional meluncurkan *Human Genome Project* (HGP) pada tahun 1990. Tujuan proyek ini sangat ambisius memetakan seluruh 3 miliar pasangan basa DNA manusia (Collins, Morgan & Patrinos, 2003). Tantangan teknis dari proyek ini begitu besar sehingga memicu lahirnya metode, algoritma, dan basis data baru untuk menangani data biologis dalam skala yang belum pernah terjadi sebelumnya.

Pada 1990-an, perhatian besar diberikan pada efisiensi algoritma karena kecepatan pengolahan data sangat kritis. Inovasi terbesar pada era ini adalah pengembangan BLAST (Altschul *et al.*, 1990), sebuah algoritma heuristik yang memungkinkan pencarian kemiripan sekuens dalam hitungan detik, bukan jam atau hari. BLAST menyebabkan terjadinya “revolusi percepatan” dalam analisis sekuens, menjadikannya salah satu alat paling berpengaruh dalam seluruh sejarah biologi molekuler.

Era ini juga ditandai dengan lahirnya sistem basis data genom skala besar seperti GenBank, EMBL, dan DDBJ, yang menjadi repositori global untuk sekuens DNA dan protein. Infrastruktur ini sangat penting karena memungkinkan ilmuwan di seluruh dunia mengakses data genomik secara terbuka, mendorong kolaborasi internasional dan mempercepat penemuan ilmiah.

Ketika HGP selesai pada 2003, dunia sains memasuki babak baru. Untuk pertama kalinya dalam sejarah, manusia berhasil membaca “kitab kehidupan” secara lengkap. Pengetahuan ini memicu perubahan cara berpikir: fokus biologi bukan lagi hanya pada gen individual, tetapi bagaimana seluruh genom bekerja sebagai sebuah sistem.

2.3.3 Era Pascagenomik dan Big Data (2004–sekarang): Kelahiran Omics dan Bioinformatika Modern

Setelah proyek genom selesai, tantangan terbesar bukan lagi menghasilkan data, melainkan memahami data dalam jumlah yang luar biasa besar. Teknologi Next-Generation Sequencing (NGS) memungkinkan ribuan hingga jutaan sekuens dipetakan dalam waktu singkat dan biaya sangat rendah, memicu munculnya bidang-bidang *omics*:

- Genomik,
- Transkriptomik,
- Proteomik,
- Metabolomik,
- Metagenomik,
- dan berbagai cabang lainnya.

Pada fase ini, volume data biologis tumbuh secara eksponensial. Menurut Stephens *et al.* (2015), data biologis bahkan diprediksi melebihi data astronomi dan media sosial dalam beberapa dekade mendatang. Akibatnya, bioinformatika berkembang menjadi disiplin yang sangat bergantung pada big data, komputasi paralel, dan *cloud computing*.

Pada pertengahan 2010-an hingga 2020-an, integrasi machine learning dan deep learning membawa bioinformatika ke era baru. Model-model prediktif mulai digunakan untuk meramalkan struktur protein, interaksi obat, modifikasi epigenetik, hingga regulasi jaringan gen. Puncaknya, pada 2020–2021, DeepMind merilis AlphaFold2, sebuah sistem AI yang mampu memprediksi struktur protein dengan akurasi mendekati eksperimen laboratorium (Jumper *et al.*, 2021). Terobosan ini dianggap salah satu pencapaian terbesar dalam sejarah biologi struktural dan bioinformatika.

Era pascagenomik juga ditandai oleh:

- lahirnya *single-cell* omics,
- analisis genom populasi besar (misalnya UK Biobank, gnomAD),
- integrasi data multi-omics dalam riset penyakit kompleks,
- penggunaan bioinformatika dalam pemantauan pandemi seperti COVID-19 (Hadfield *et al.*, 2018).

Bioinformatika tidak lagi sekadar alat pendukung, tetapi telah menjadi pilar utama penelitian biomedis modern, menghubungkan eksperimen laboratorium dengan pemodelan komputasional berskala besar.

2.4 Prinsip Bioinformatika

Bioinformatika dibangun di atas sejumlah prinsip dasar yang tidak hanya berfungsi sebagai fondasi teoretis, tetapi juga sebagai pedoman praktis bagi para peneliti dalam menganalisis data biologis yang kompleks. Prinsip pertama adalah representasi data biologis, yaitu bagaimana berbagai informasi biologis baik itu sekuens DNA, RNA, protein, struktur tiga dimensi, maupun data ekspresi gen diubah

menjadi format digital yang dapat diproses dengan komputer. Representasi ini harus bersifat standar agar setiap laboratorium di dunia dapat saling bertukar data. Format FASTA, misalnya, menyediakan representasi sederhana berupa huruf-huruf kode nukleotida atau asam amino, sedangkan GenBank menyediakan anotasi lengkap mulai dari lokasi gen hingga fitur-fitur genom lainnya (Durbin *et al.*, 1998). Dalam era genomik modern, format ini terus diperbarui. Misalnya, format GFF3, BAM, dan VCF kini menjadi standar dalam menyimpan data hasil sekuensing generasi baru, termasuk informasi tentang variasi genom (Li *et al.*, 2009). Dengan demikian, prinsip representasi data bukan hanya persoalan menyimpan data, tetapi memberikan konteks biologis yang konsisten dan mudah ditafsirkan.

Prinsip kedua adalah pengembangan algoritma, yang merupakan “otak” dari seluruh proses bioinformatika. Algoritma alignment klasik seperti Needleman-Wunsch (*global alignment*) dan Smith-Waterman (*local alignment*) menjadi tonggak dalam membandingkan dua sekuens biologis secara presisi. Namun, algoritma ini memiliki kompleksitas tinggi sehingga lambat bila digunakan pada skala genom. Karena itu, dikembangkanlah algoritma heuristik seperti BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) yang memberikan hasil cepat tanpa mengorbankan akurasi secara signifikan (Altschul *et al.*, 1990). Saat ini, kemajuan teknologi komputasi memungkinkan pengembangan algoritma yang jauh lebih canggih. Misalnya, metode indeks seperti Burrows-Wheeler Transform (BWT) dan FM-index memungkinkan pemetaan pembacaan NGS ke genom referensi dengan cepat, yang diterapkan dalam software seperti BWA dan Bowtie (Li & Durbin, 2009). Bahkan, dalam beberapa tahun terakhir, algoritma berbasis deep learning mulai digunakan untuk prediksi fungsi gen, anotasi genom, serta prediksi struktur protein (Avsec *et al.*, 2021). Semua ini menunjukkan bahwa pengembangan algoritma merupakan aspek yang terus

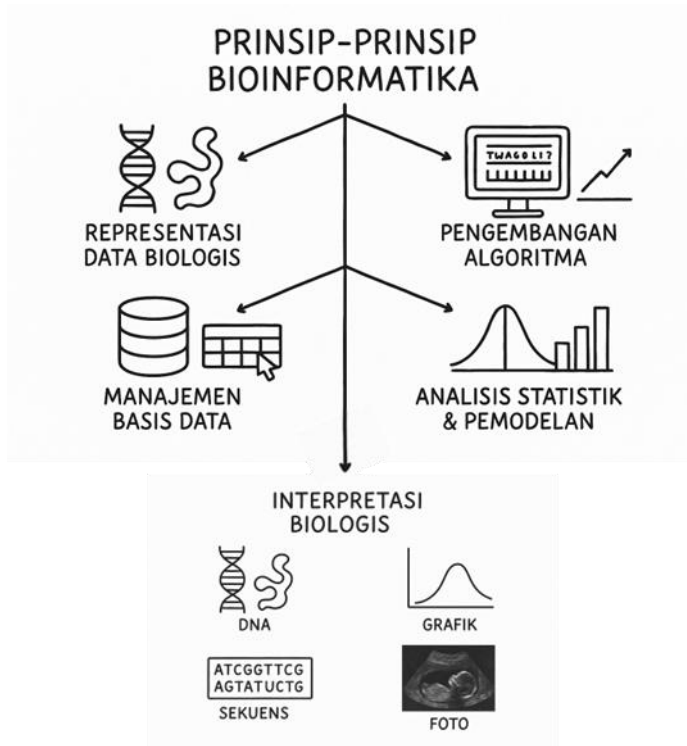
berkembang mengikuti kompleksitas pertanyaan biologi modern.

Prinsip ketiga adalah manajemen basis data, yaitu bagaimana data biologis disimpan, diintegrasikan, dan dikelola dalam repositori global. Basis data menjadi infrastruktur penting yang menghubungkan komunitas ilmiah dunia. Basis data seperti GenBank, UniProt, Protein Data Bank (PDB), Ensembl, dan NCBI RefSeq berfungsi sebagai sumber informasi primer yang memungkinkan peneliti mengunduh sekuens DNA, struktur protein, dan anotasi genom dari berbagai organisme. Dalam dekade terakhir, muncul pula basis data khusus seperti GTEx (untuk ekspresi gen pada berbagai jaringan manusia), TCGA (untuk kanker), dan MGnify (untuk metagenomik), yang semakin memperluas cakupan bioinformatika (GTEx Consortium, 2015; Weinstein *et al.*, 2013). Manajemen basis data tidak hanya mencakup penyimpanan, tetapi juga kurasi, validasi, versioning data, serta penyediaan alat pencarian agar data dapat dimanfaatkan secara efisien. Tanpa manajemen basis data yang baik, analisis biologis modern akan terfragmentasi dan sulit direplikasi.

Prinsip keempat adalah analisis statistik dan pemodelan, yang merupakan inti dari interpretasi data biologis dalam jumlah besar. Data biologis sering kali bersifat bising (noisy), kompleks, dan penuh variabilitas. Oleh karena itu, metode statistik diperlukan untuk membedakan sinyal yang benar-benar bermakna dari fluktuasi acak. Dalam analisis ekspresi gen, misalnya, metode seperti DESeq2 dan edgeR digunakan untuk menentukan gen mana yang mengalami perubahan signifikan antar kondisi (Love, Huber, & Anders, 2014). Sementara itu, pada studi populasi genomik, model probabilistik seperti Hidden Markov Models digunakan untuk mendeteksi haplotipe dan pola rekombinasi. Dalam beberapa tahun terakhir, pemodelan matematis telah meluas ke analisis jaringan biologis, metabolisme sel, hingga dinamika evolusi. Bahkan, pendekatan berbasis machine learning seperti

random forests atau neural networks kini menjadi standar dalam prediksi fungsi biologis atau klasifikasi jenis tumor berdasarkan data genomik (Eraslan *et al.*, 2019). Dengan demikian, prinsip statistik dan pemodelan menjadi landasan penting untuk mengekstrak makna biologis dari data yang kompleks.

Prinsip kelima, dan mungkin yang paling penting dari perspektif ilmiah, adalah interpretasi biologis. Meskipun algoritma mampu menghasilkan statistik, grafik, dan prediksi, pada akhirnya pemahaman biologis tetap berada di tangan manusia. Interpretasi biologis melibatkan kemampuan untuk menghubungkan hasil komputasi dengan proses biologis nyata di dalam sel atau organisme. Misalnya, ketika analisis menunjukkan bahwa suatu gen mengalami peningkatan ekspresi pada sampel kanker, interpretasi biologis diperlukan untuk menilai apakah gen tersebut berperan dalam proliferasi sel, apoptosis, atau metastasis. Bahkan dalam era otomatisasi besar-besaran, intuisi ilmiah tetap menjadi hal yang tidak tergantikan. Banyak studi menunjukkan bahwa kombinasi antara komputasi dan pemahaman biologis manusia menghasilkan penemuan yang jauh lebih kuat dan bermakna (Prlić & Procter, 2012). Oleh karena itu, bioinformatika bukan hanya bidang teknik, melainkan sebuah dialog antara data, algoritma, dan wawasan biologis.

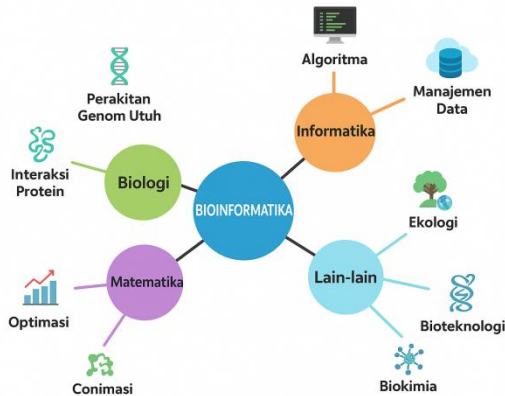


Gambar 2. 2 Ilustrasi Prinsip Bioinformatika

2.5 Bioinformatika dalam Kacamata Berbagai Bidang Ilmu

Bioinformatika sering dipahami sebagai gabungan antara biologi dan informatika, namun dalam praktiknya bidang ini dilihat secara berbeda oleh cabang ilmu yang terlibat di dalamnya. Dari perspektif biologi, bioinformatika merupakan alat fundamental untuk mengungkap pola yang tidak bisa terlihat melalui eksperimen basah saja. Biologi molekuler, misalnya, memanfaatkan bioinformatika untuk mengenali motif promotor, memprediksi domain protein, atau memahami hubungan evolusi antarorganisme. Bagi biolog, bioinformatika adalah “perpanjangan mikroskop” membantu

melihat ke dalam lapisan informasi genetika yang tidak terlihat secara fisik (Luscombe *et al.*, 2001).



Gambar 2. 3 Ilustrasi Peta Konseptual Bioinformatika dan Hubungannya dengan Berbagai Disiplin Ilmu

Sementara itu, bidang informatika memandang bioinformatika sebagai ruang aplikasi yang memerlukan inovasi algoritma, manajemen data, dan kecerdasan buatan. Tantangan seperti ukuran dataset yang sangat besar, struktur data tidak seragam, hingga keperluan komputasi paralel menjadi alasan mengapa peneliti informatika tertarik pada bioinformatika. Bagi ilmuwan komputer, bioinformatika adalah “bengkel uji coba algoritma” di mana pendekatan seperti graph theory, machine learning, hingga text mining menemukan relevansi nyata melalui aplikasi pada genom, transkriptom, dan data molekuler lainnya (Schneider *et al.*, 2019).

Dari sisi matematika, terutama cabang statistika, probabilitas, dan optimasi, bioinformatika dipandang sebagai kesempatan untuk menguji dan mengembangkan model yang dapat menangkap dinamika biologis secara kuantitatif. Contohnya, matematikawan menggunakan model probabilistik untuk memetakan motif DNA, optimasi untuk

menyelesaikan network inference, serta matematika terapan untuk memodelkan regulasi gen atau dinamika populasi sel. Keunggulan matematika terletak pada kemampuannya memberikan struktur formal pada data biologis yang kompleks. Banyak metode analisis ekspresi gen dan pemodelan jalur metabolik modern justru lahir dari kontribusi para matematikawan (De Jong, 2002).

Selain ketiga bidang utama tersebut, bioinformatika kini bersinggungan dengan berbagai disiplin lain dan melahirkan sub-bidang baru yang sangat kuat. Misalnya:

1. *Biofisika komputasional*, hasil irisan biologi struktural, fisika, dan komputasi, yang menghasilkan simulasi dinamika molekul dan prediksi struktur protein. Sub-bidang ini menjadi fondasi bagi model-model mutakhir seperti AlphaFold (Jumper *et al.*, 2021).
2. *Sistem biologi komputasional*, gabungan antara biologi seluler, matematika sistem dinamis, dan teknik komputasi, untuk mempelajari jaringan regulasi dan interaksi antar komponen molekuler.
3. *Biomedical data science*, yang memadukan ilmu kesehatan, statistik, dan informatika kesehatan untuk menganalisis data pasien, data klinis, dan data genomik dalam konteks medis.
4. *Metagenomik komputasional*, gabungan mikrobiologi, ekologi, dan analisis data berskala besar untuk memetakan mikrobioma dari berbagai lingkungan.
5. *Biologi evolusi komputasional*, kolaborasi antara biologi evolusi dan matematikawan yang mempelajari filogenetika, dinamika populasi, dan adaptasi melalui simulasi generasi ke generasi.

Dengan demikian, bioinformatika berkembang bukan hanya karena kebutuhan akan integrasi biologi dan komputasi, tetapi karena kemampuan uniknya untuk menjadi

titik temu banyak ilmu. Setiap disiplin memberikan pendekatan, metode, dan perspektif berbeda yang pada akhirnya memperkuat bioinformatika sebagai bidang ilmiah yang sangat strategis. Irisan-inilah yang menjadikan bioinformatika bukan hanya bidang analisis data, tetapi *ilmu sintesis* yang mampu menyatukan biologi, matematika, komputasi, hingga domain terapan lainnya untuk membangun pemahaman holistik tentang kehidupan.

2.6 Manfaat dan Aplikasi Bioinformatika

Bioinformatika telah berkembang menjadi salah satu pilar penting dalam sains modern dan kesehatan masyarakat. Tidak lagi sekadar alat bantu, kini bioinformatika menjadi fondasi bagi berbagai riset biologis, pengembangan obat, pertanian modern, hingga inovasi kesehatan digital. Ledakan data biologis terutama sejak hadirnya teknologi sekuensing generasi baru (NGS) menjadikan bioinformatika sebagai satu-satunya pendekatan yang mampu mengolah, menganalisis, dan menafsirkan data dalam skala besar dan kompleks. Bab ini membahas manfaat bioinformatika dalam berbagai aspek kehidupan, disertai contoh aplikasi nyata yang relevan dan terkini.

2.6.1 Bioinformatika dalam Biologi Molekuler dan Genomik

Bidang biologi molekuler dan genomik merupakan “rumah utama” bioinformatika. Di sinilah disiplin ini memainkan perannya secara paling fundamental: membaca, merakit, dan memahami informasi genetik makhluk hidup. Tanpa bioinformatika, data DNA, RNA, dan protein hanya akan menjadi rangkaian huruf tanpa makna. Melalui pipeline analisis yang terstruktur, para ilmuwan mampu menyingkap fungsi gen, jaringan regulasi, serta proses evolusi molekuler yang kompleks.

1. *Perakitan dan Analisis Genom Utuh (Whole Genome Assembly)*

Bioinformatika memungkinkan penyusunan (assembly) genom dari potongan-potongan pendek DNA hasil sekuensing. Metode seperti *de novo assembly* dan *reference-guided assembly* membantu peneliti mendapatkan genom utuh, baik genom inti (nuclear), kloroplas (cpDNA), maupun mitokondria (mtDNA).

Contoh aplikasi:

- Penyusunan genom SARS-CoV-2 tahun 2020 dalam hitungan minggu berkat pipeline bioinformatika seperti ARTIC dan Nextstrain, yang memungkinkan pemantauan mutasi virus secara global (Hadfield *et al.*, 2018).
- Assembly genom tanaman padi varietas lokal untuk menemukan gen ketahanan hama menggunakan assembler seperti Canu dan SPAdes.

2. *Identifikasi Gen, Promotor, dan Motif Regulasi*

Bioinformatika membantu menemukan gen baru, lokasi promotor, enhancer, dan elemen regulator lain menggunakan program seperti MEME Suite atau AUGUSTUS. Hal ini penting untuk memahami bagaimana gen bekerja dan diatur di dalam sel.

Sebagai contoh, motif transkripsi WRKY pada tanaman dapat dipetakan untuk memahami respons tanaman terhadap stres abiotik seperti kekeringan (Rushton *et al.*, 2010).

3. Analisis Ekspresi Gen (*Transcriptomics*)

Dengan RNA-Seq, bioinformatika menyediakan pipeline untuk:

- *Read mapping* (HISAT2, STAR)
- *Quantification* (StringTie, Salmon)
- *Differential expression analysis* (DESeq2, edgeR)

Contoh aplikasi:

- Identifikasi gen yang memicu resistansi obat pada kanker paru (Cancer Genome Atlas Research Network, 2014).
- Pemetaan ekspresi gen jaringan tunggal seperti analysis single-cell RNA-Seq yang mengungkap heterogenitas sel kanker (Macosko *et al.*, 2015).

2.6.2 Bioinformatika dalam Pengembangan Obat dan Kesehatan

Di bidang kedokteran dan farmasi, bioinformatika telah menjadi pilar transformasi menuju *medisin presisi*. Dahulu, pengembangan obat bisa memakan waktu lebih dari satu dekade dan biaya miliaran dolar. Bioinformatika memotong proses ini secara dramatis dengan melakukan penyaringan molekul, pemodelan protein, dan analisis interaksi obat-target secara digital sebelum diuji di laboratorium. Hal ini mempercepat proses inovasi sekaligus menurunkan risiko kegagalan pada tahap klinis.

1. *Penemuan Obat Berbasis Struktur (Structure-Based Drug Design)*

Teknik seperti *molecular docking*, *molecular dynamics simulation*, dan *virtual screening* sangat bergantung pada bioinformatika.

Contoh nyata:

- Komputasi docking digunakan untuk identifikasi kandidat obat antivirus SARS-CoV-2 pada awal pandemi COVID-19.
- Software seperti AutoDock, Schrödinger, dan GROMACS memprediksi interaksi obat-target secara efisien dibanding eksperimen laboratorium yang mahal.

2. *Farmakogenomik dan Pengobatan Presisi (Precision Medicine)*

Bioinformatika membantu memahami bagaimana variasi genom manusia memengaruhi respons terhadap obat, sehingga terapi dapat dipersonalisasi.

Contoh:

- Panel genetik seperti *OncoPanel* digunakan untuk menentukan terapi paling efektif berdasarkan mutasi tumor pasien.

3. *Diagnosis Penyakit Berbasis Genomik*

Analisis bioinformatika pada data klinis memungkinkan:

- Deteksi dini kanker melalui *liquid biopsy*.
- Identifikasi kelainan genetik langka melalui WGS (Whole Genome Sequencing)

2.6.3 Bioinformatika dalam dalam Evolusi, Keanekaragaman Hayati, dan Ekologi

Di luar laboratorium dan dunia kedokteran, bioinformatika memainkan peran besar dalam memahami kehidupan di tingkat ekosistem. Evolusi, hubungan antarspesies, dan dinamika populasi mikroba kini dapat dianalisis menggunakan data genomik dan metagenomik. Teknologi bioinformatika memungkinkan peneliti mempelajari organisme yang tidak pernah bisa dikultur sebelumnya, membuka jendela baru terhadap keanekaragaman hayati mikroba dan dinamika perubahan lingkungan global.

1. *Filogenomik dan Pohon Evolusi*

Dengan membandingkan sekuens DNA dari berbagai organisme, bioinformatika membantu merekonstruksi hubungan evolusi menggunakan program seperti MEGA, IQ-TREE, dan RAxML.

Contoh:

- Penelitian filogenomik mamalia modern yang mengklarifikasi hubungan antara ordo-ordo besar berdasarkan ribuan gen.

2. *Metagenomik Lingkungan*

Metagenomik memungkinkan identifikasi mikroorganisme tanpa perlu dikultur, menggali biodiversitas mikroba yang sebelumnya tak terdeteksi.

Contoh:

- Analisis metagenomik laut oleh Tara Oceans Expedition yang mengungkap lebih dari 40 juta gen baru mikroba laut.

- Survei kualitas tanah dan kesehatan ekosistem menggunakan profil metagenomik mikrobiota.

3. *Pelacakan Evolusi Patogen*

Bioinformatika memetakan mutasi patogen dan melacak penyebarannya secara real time, misalnya pada:

- Influenza
- SARS-CoV-2 (melalui GISAID dan Nextstrain)

2.6.4 Bioinformatika dalam Pertanian Modern

Pertanian modern memasuki era baru yang ditopang oleh data genomik dan teknologi komputasi. Ketahanan pangan global kini sangat bergantung pada kemampuan kita menghasilkan varietas unggul yang lebih produktif, adaptif, dan tahan penyakit. Bioinformatika membantu mengidentifikasi gen-gen penting, memandu pemuliaan tanaman, dan mendukung rekayasa genetika yang presisi melalui CRISPR. Hal ini menjadikan bioinformatika sebagai motor penggerak pertanian berbasis ilmu pengetahuan.

1. *Pemuliaan Tanaman dan Hewan Berbasis Genom (Genomic Breeding)*

Dengan GWAS (*Genome-Wide Association Study*), bioinformatika membantu menemukan penanda genetik (SNP) untuk sifat unggul seperti:

- Ketahanan terhadap cekaman lingkungan
- Produktivitas tinggi
- Resistansi penyakit

Contoh:

- Identifikasi gen pengatur ukuran biji pada gandum menggunakan analisis GWAS.

2. *Rekayasa Genetika dan CRISPR*

Bioinformatika digunakan untuk:

- Desain guide RNA (gRNA)
- Prediksi off-target
- Analisis hasil editing gen

Software: CRISPOR, CHOPCHOP.

3. *Identifikasi patogen tanaman*

Pipeline bioinformatika membantu mendeteksi infeksi virus dan jamur pada tanaman berdasarkan sekuensing RNA.

2.7 Kesimpulan

Bioinformatika telah berkembang dari sekadar eksperimen teoretis pada era 1960-an menjadi salah satu pilar utama sains modern. Dimulai dari upaya perintis seperti karya Margaret Dayhoff yang menyusun basis data sekuens protein pertama, bidang ini kemudian tumbuh pesat seiring kemajuan teknologi komputasi dan sekuensing. Masuknya era genom pada 1990–2003 mempercepat perubahan besar: proyek genom manusia, kemunculan BLAST, serta lahirnya gudang data biologis skala global menggeser paradigma penelitian biologi dari berbasis eksperimen semata menuju analisis data berskala besar. Era pascagenomik dan big data memperkuat transformasi ini, ketika machine learning, NGS, dan infrastruktur komputasi modern memungkinkan para ilmuwan menjawab pertanyaan biologis yang sebelumnya mustahil dijangkau.

Di sisi lain, prinsip-prinsip bioinformatika menegaskan bahwa bidang ini bukan sekadar penerapan komputer dalam biologi, tetapi sebuah disiplin yang menjembatani konsep matematis, statistik, algoritmik, hingga representasi data

biologis. Bioinformatika juga dipandang secara berbeda oleh berbagai disiplin: biolog melihatnya sebagai alat “pengungkap pola tersembunyi”, ilmuwan komputer menilainya sebagai ruang problem-solving algoritmik, sementara matematikawan memahaminya sebagai fenomena kompleks yang membutuhkan pemodelan kuantitatif. Keterhubungan multidisiplin inilah yang membuat bioinformatika terus berkembang dan tetap relevan dengan tantangan ilmiah masa kini.

Dalam aplikasinya, bioinformatika memberikan dampak nyata bagi banyak sektor kehidupan. Di tingkat molekuler, bioinformatika memungkinkan perakitan genom utuh, identifikasi gen dan motif regulator, serta analisis ekspresi gen berbasis RNA-Seq. Pada bidang kesehatan dan pengembangan obat, metodologi seperti molecular docking, simulasi dinamika molekul, dan farmakogenomik telah membangun fondasi bagi medis presisi. Di bidang evolusi dan ekologi, bioinformatika membantu merekonstruksi pohon evolusi, mengungkap keanekaragaman mikroba melalui metagenomik, serta memantau dinamika mutasi patogen secara real time. Sementara dalam pertanian modern, bioinformatika menjadi motor utama dalam pemuliaan berbasis genom, rekayasa CRISPR, serta deteksi cepat patogen tanaman.

Secara keseluruhan, bioinformatika bukan hanya alat bantu, tetapi sebuah *framework ilmiah baru* yang mentransformasikan cara kita memahami kehidupan. Dengan data biologis yang terus tumbuh secara eksponensial dan kemajuan kecerdasan buatan yang semakin pesat, bioinformatika diprediksi akan memainkan peran yang semakin sentral dalam menghadapi persoalan global seperti kesehatan, ketahanan pangan, perubahan iklim, hingga bioteknologi masa depan. Bioinformatika telah, sedang, dan akan terus menjadi jantung inovasi dalam biologi modern.

DAFTAR PUSTAKA

- Abraham, M. J., Murtola, T., Schulz, R., Páll, S., Smith, J. C., Hess, B., & Lindahl, E. (2015). GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. *SoftwareX*, 1, 19-25.
- Ahmar, S., Saeed, S., Khan, M. H. U., Ullah Khan, S., Mora-Poblete, F., Kamran, M., ... & Jung, K. H. (2020). A revolution toward gene-editing technology and its application to crop improvement. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(16), 5665.
- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., & Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of molecular biology*, 215(3), 403-410.
- Ashley, E. A. (2015). The precision medicine initiative: a new national effort. *Jama*, 313(21), 2119-2120.
- Avsec, Ž., Weilert, M., Shrikumar, A., Krueger, S., Alexandari, A., Dalal, K., ... & Zeitlinger, J. (2021). Base-resolution models of transcription-factor binding reveal soft motif syntax. *Nature genetics*, 53(3), 354-366.
- Bailey, T. L., Boden, M., Buske, F. A., Frith, M., Grant, C. E., Clementi, L., ... & Noble, W. S. (2009). MEME SUITE: tools for motif discovery and searching. *Nucleic acids research*, 37(suppl_2), W202-W208.
- Barabasi, A. L., & Oltvai, Z. N. (2004). Network biology: understanding the cell's functional organization. *Nature reviews genetics*, 5(2), 101-113.
- Barba, M., & Hadidi, A. (2015). An overview of plant pathology and application of next-generation sequencing technologies. *CABI Reviews*, (2015), 1-21.

- Chen, M. Y., Liang, D., & Zhang, P. (2017). Phylogenomic resolution of the phylogeny of laurasiatherian mammals: exploring phylogenetic signals within coding and noncoding sequences. *Genome Biology and Evolution*, 9(8), 1998-2012.
- Collins, F. S., & Varmus, H. (2015). A new initiative on precision medicine. *New England journal of medicine*, 372(9), 793-795.
- Collins, F. S., Morgan, M., & Patrinos, A. (2003). The Human Genome Project: lessons from large-scale biology. *Science*, 300(5617), 286-290.
- Dayhoff, M. O. (1972). A model of evolutionary change in proteins. *Atlas of protein sequence and structure*, 5, 89-99.
- De Jong, H. (2002). Modeling and simulation of genetic regulatory systems: a literature review. *Journal of computational biology*, 9(1), 67-103.
- Dobin, A., Davis, C. A., Schlesinger, F., Drenkow, J., Zaleski, C., Jha, S., ... & Gingeras, T. R. (2013). STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner. *Bioinformatics*, 29(1), 15-21.
- Durbin, R., Eddy, S. R., Krogh, A., & Mitchison, G. (1998). *Biological sequence analysis: probabilistic models of proteins and nucleic acids*. Cambridge university press.
- Eraslan, G., Avsec, Ž., Gagneur, J., & Theis, F. J. (2019). Deep learning: new computational modelling techniques for genomics. *Nature reviews genetics*, 20(7), 389-403.
- Goodwin, S., McPherson, J. D., & McCombie, W. R. (2016). Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. *Nature reviews genetics*, 17(6), 333-351.

- Gu, H., Liang, S., & Zhao, J. (2022). Novel sequencing and genomic technologies revolutionized rice genomic study and breeding. *Agronomy*, 12(1), 218.
- Hadfield, J., Megill, C., Bell, S. M., Huddleston, J., Potter, B., Callender, C., ... & Neher, R. A. (2018). Nextstrain: real-time tracking of pathogen evolution. *Bioinformatics*, 34(23), 4121-4123.
- Haeussler, M., Schönig, K., Eckert, H., Eschstruth, A., Mianné, J., Renaud, J. B., ... & Concordet, J. P. (2016). Evaluation of off-target and on-target scoring algorithms and integration into the guide RNA selection tool CRISPOR. *Genome biology*, 17(1), 148.
- Jumper, J., Evans, R., Pritzel, A., Green, T., Figurnov, M., Ronneberger, O., ... & Hassabis, D. (2021). Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *nature*, 596(7873), 583-589.
- Li, H., & Durbin, R. (2009). Fast and accurate short read alignment with Burrows–Wheeler transform. *bioinformatics*, 25(14), 1754-1760.
- Li, H., Handsaker, B., Wysoker, A., Fennell, T., Ruan, J., Homer, N., ... & 1000 Genome Project Data Processing Subgroup. (2009). The sequence alignment/map format and SAMtools. *bioinformatics*, 25(16), 2078-2079.
- Love, M. I., Huber, W., & Anders, S. (2014). Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome biology*, 15(12), 550.
- Luscombe, N. M., Greenbaum, D., & Gerstein, M. (2001). What is bioinformatics? An introduction and overview. *Yearbook of medical informatics*, 10(01), 83-100.
- Macosko, E. Z., Basu, A., Satija, R., Nemesh, J., Shekhar, K., Goldman, M., ... & McCarroll, S. A. (2015). Highly

- parallel genome-wide expression profiling of individual cells using nanoliter droplets. *Cell*, 161(5), 1202-1214.
- Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S., & Olson, A. J. (2009). AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of computational chemistry*, 30(16), 2785-2791.
- Mount, D. W., & Mount, D. W. (2001). *Bioinformatics: sequence and genome analysis* (Vol. 564). Cold Spring Harbor, NY: Cold spring harbor laboratory press.
- Prlić, A., & Procter, J. B. (2012). Ten simple rules for the open development of scientific software. *PLoS computational biology*, 8(12), e1002802.
- Rushton, D. L., Tripathi, P., Rabara, R. C., Lin, J., Ringler, P., Boken, A. K., ... & Rushton, P. J. (2012). WRKY transcription factors: key components in abscisic acid signalling. *Plant biotechnology journal*, 10(1), 2-11.
- Schneider, M. V., Watson, J., Attwood, T., Rother, K., Budd, A., McDowall, J., ... & Brooksbank, C. (2010). Bioinformatics training: a review of challenges, actions and support requirements. *Briefings in bioinformatics*, 11(6), 544-551.
- Stark, Z., Dolman, L., Manolio, T. A., Ozenberger, B., Hill, S. L., Caulfield, M. J., ... & North, K. N. (2019). Integrating genomics into healthcare: a global responsibility. *The American Journal of Human Genetics*, 104(1), 13-20.
- Stephens, Z. D., Lee, S. Y., Faghri, F., Campbell, R. H., Zhai, C., Efron, M. J., ... & Robinson, G. E. (2015). Big data: astronomical or genomics?. *PLoS biology*, 13(7), e1002195.

- Sun, L., Lai, M., Ghouri, F., Nawaz, M. A., Ali, F., Baloch, F. S., ... & Shahid, M. Q. (2024). Modern plant breeding techniques in crop improvement and genetic diversity: from molecular markers and gene editing to artificial intelligence a critical review. *Plants*, 13(19), 2676.
- Thompson, L. R., Sanders, J. G., McDonald, D., Amir, A., Ladau, J., Locey, K. J., ... & Knight, R. (2017). A communal catalogue reveals Earth's multiscale microbial diversity. *Nature*, 551(7681), 457-463.
- Tibshirani, R., Hastie, T., Narasimhan, B., & Chu, G. (2002). Diagnosis of multiple cancer types by shrunken centroids of gene expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(10), 6567-6572.
- Weinstein, J. N., Collisson, E. A., Mills, G. B., Shaw, K. R., Ozenberger, B. A., Ellrott, K., ... & Stuart, J. M. (2013). The cancer genome atlas pan-cancer analysis project. *Nature genetics*, 45(10), 1113-1120.

BAB 3

BASIS DATA BIOLOGIS

3.1 Konsep Basis Data Biologis

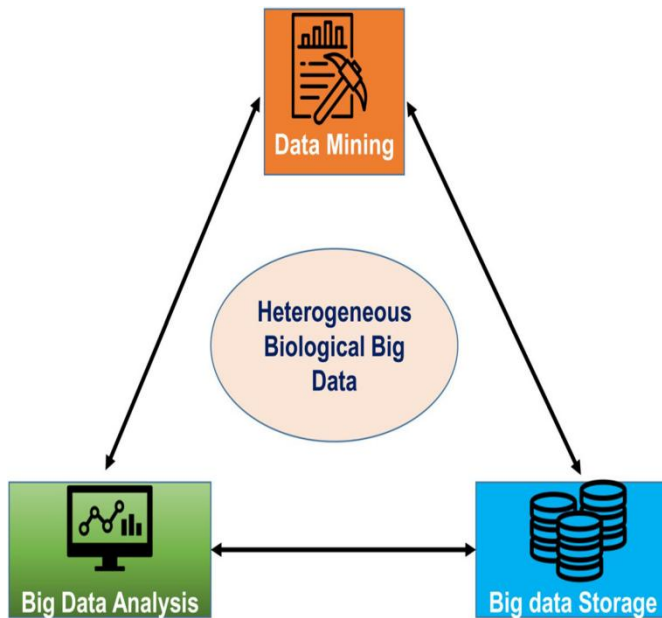
Makhluk hidup memiliki kemampuan untuk terus tumbuh dan berkembang. Proses kehidupan dalam tubuh makhluk hidup dilakukan oleh molekul-molekul dalam tubuhnya yang disebut proses metabolisme. Bahkan untuk menjaga eksistensi di bumi, makhluk hidup memiliki kemampuan reproduksi dengan mewariskan sifat-sifat pada keturunannya. Molekul seperti DNA, RNA, protein maupun molekul lain hasil ekspresi seluler lainnya mampu direkam menjadi data biologis yang dapat digunakan dalam banyak hal. Keseluruhan data atau basis data biologis (*Biological Database*) dapat diartikan keseluruhan data yang berhubungan dengan ilmu biologi baik berupa penyimpanan maupun analisis sehingga dapat dimanfaatkan lebih luas dan digunakan dalam jangka waktu yang lama. Selain itu juga dapat dijelaskan bahwa basis data biologis merupakan penggunaan metode komputasi dalam mempelajari dan menganalisis struktur, fungsi maupun evolusi dari molekul biologis seperti gen, protein dan genom serta hasil eksperimen biologis. (Higgs & Attwood, 2005).

Data biologis berasal dari hasil riset para peneliti dari seluruh dunia yang disajikan dalam internet (global) untuk digunakan oleh ilmuwan lain dan masyarakat secara luas. Data diperoleh dari microarrays atau sequencing, peptida dengan mass spectrometry, 3D structure (X-ray

crystallography, NMR, atau cryo-EM), maupun imaging data (misalnya pemindaian pasien, X-rays, atau mikroskop) (Pop *et al.*, 2024)

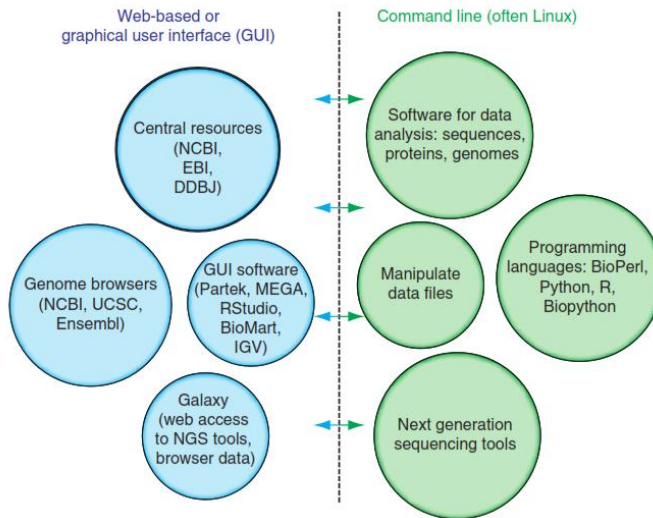
Tujuannya tidak lain adalah kolaborasi dan saling berbagi informasi sehingga proses riset bisa berkesinambungan dan efisien. Terkadang riset tidak berdampak langsung bagi manusia namun memberikan informasi baru untuk pengembangan pengetahuan maupun pengembangan teknologi (Kumari, 2024). Secara luas basis data bukan hanya ada di bidang biologi namun juga ada di bidang ilmu lainnya. Ilmu biologi itu sendiri bisa jadi menggunakan basis data ilmu lain seperti kimia, fisika, komputasional, geografis dan lainnya dalam aplikasinya.

Penggunaan data biologis bukan sekedar menggunakan data yang sudah ada, namun mampu memprediksi kemungkinan struktur, fungsi dan penerapannya dengan menggunakan algoritma-algoritma komputer. Sehingga sebelum dilakukan eksperimen, ilmuwan mampu mengira atau mendapat gambaran kemungkinan yang akan diperoleh dengan menghubungkan kemungkinan interaksi dan kaidah biologis dari data yang tersedia. Data biologis memerlukan tiga komponen utama yaitu pemanenan sumber data yang telah ada (*Data mining*), *Big Data Analysis* dan *Big data Storage* (penyimpanan) (Gambar 3.1). Bahkan di zaman modern penggunaan *Artificial intelligence* mampu mempermudah manusia memprediksi dan mengolah data menjadi lebih cepat, walaupun belum mampu menggantikan data biologis primer (Pop *et al.*, 2024).



Gambar 3. 1 Proses dan Hubungan Basis Data Biologis
(Sumber: Chaudhari *et al.*, 2024)

Komputasi data biologis memerlukan beberapa aplikasi pendukung dan dukungan software serta *Operating System (OS)* (sistem Operasi) sehingga data dapat diterjemahkan dan diolah. Utamanya terdapat dua jenis OS yaitu Windows dan Linux yang sering digunakan dan disertai dengan software seperti *MEGA*, *Phyton*, *Rstudio* dan lainnya (Gambar 3.2).



Gambar 3. 2 Penggunaan *Operating System* dan Software Pendukung dalam Pengolahan Data Bioinformatik

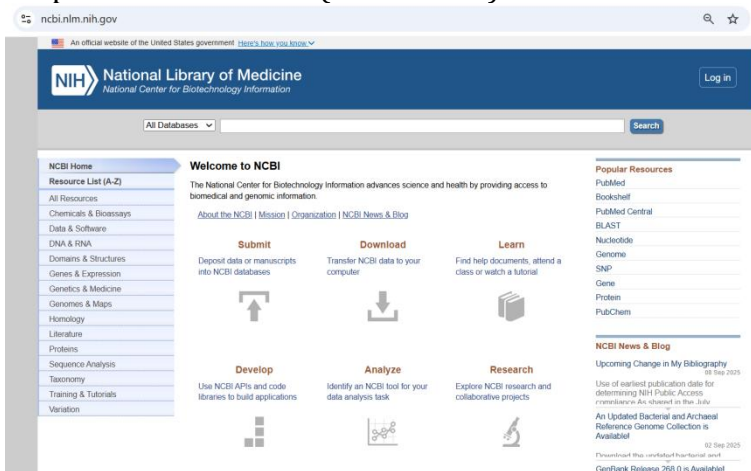
Penggunaan basis data biologis memberikan keuntungan diantaranya membuat data biologis dapat diakses oleh banyak orang khususnya peneliti di seluruh dunia, membantu mempercepat riset khususnya sebidang, memberikan saluran untuk berkolaborasi, serta menunjang inovasi misalnya dalam penemuan obat baru, pengembangan pertanian dan aplikasi di lingkungan.

3.2 Penyedia Basis Data Biologis

Data biologis sangat beragam jumlahnya, namun sebagai cetak biru kehidupan data sekuen DNA biasanya hal yang penting dan tersimpan hampir semua penyedia basis data biologis. Basis data dapat dibagi menjadi basis data primer dan basis data sekunder. Basis data primer disebut juga data utama yaitu data berupa urutan nukleotida, contohnya terdapat pada GenBank, EMBL, DDBJ, *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), DNA Data Bank of Japan

(DDBJ), dan *European Molecular Biology Laboratory* (EMBL) (Abed & Al-Najjar, 2021). Sedangkan basis data sekunder merupakan turunan dari basis data primer seperti UniProt, Swiss Prot dan lain-lain. Semakin banyak dan lengkap suatu website menyimpan data biologis, maka semakin sering digunakan sehingga sering menjadi acuan utama dan sering diakses. Saat ini penyedia data/website menyediakan baik data primer maupun sekunder, sehingga menghimpun data dan menghubungkan antara data primer dan sekunder. Berikut penyedia basis data biologis Primer dan sekunder yang sering digunakan:

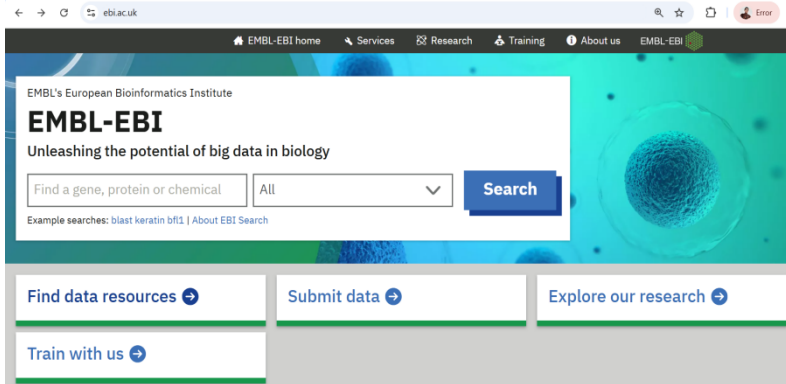
1. *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) oleh National Institutes of Health (NIH) berpusat di Bethesda, Maryland USA. NCBI menyediakan banyak basis data, bukan hanya DNA namun data biologis lain seperti protein, taksonomi maupun biomedis. Berikut tampilan website NCBI (Gambar 3.3).



Gambar 3. 3 Tampilan Website NCBI

(Sumber: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> tampilan diakses tanggal 16 November 2025)

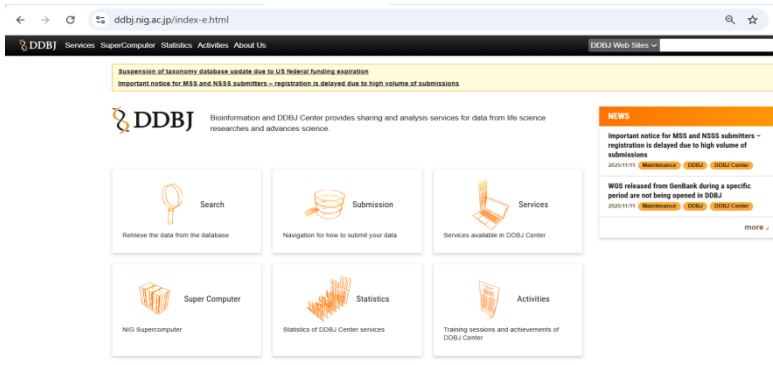
2. Laman *the European Molecular Biology Laboratory* (EMBL) (Gambar 3.4) merupakan bagian dari *the European Nucleotide Archive* (ENA) dikelola oleh the European Bioinformatics Institute (EBI) berpusat di Hinxton, Inggris.



Gambar 3. 4 Tampilan Website EMBL-EBI

(Sumber: <https://www.ebi.ac.uk/> tampilan diakses tanggal 16 November 2025)

3. *DNA Database of Japan* (DDBJ) oleh *National Institute of Genetics* berlokasi di Mishima.



Gambar 3. 5 Tampilan Website DDBJ

(Sumber: <https://www.ddbj.nig.ac.jp/index-e.html> diakses tanggal 16 November 2025)

Masing-masing basis data dikelola oleh instansi berbeda namun berkomitmen berkolaborasi dan keterbukaan informasi riset dikelola oleh *International Nucleotide Sequence Database Collaboration* (INSDC). Masing-masing website basis data mencantumkan sumber perolehan data misalnya berupa tulisan artikel jurnal peneliti maupun basis data yang diunggah seperti sekuen DNA atau protein. Biasanya terdapat komunitas riset yang telah bekerja sama dengan pengelola basis data maupun peneliti lainnya yang mempercayakan datanya untuk disimpan pada basis data tersebut. Masing-masing pengelola memiliki pengawasan dan standar berupa panduan yang memuat data apa saja yang bisa mereka simpan dan memastikan kebenaran data. Besaran data yang disajikan dalam basis data bermacam-macam, misalnya untuk DNA disajikan dengan satuan pasangan basa (base pair/bp) (Tabel 3.1).

Tabel 3. 1 Satuan Basis Data Gen (DNA)

Pasangan basa (basepair/bp)	Unit	Singkatan
1	1 base pair	1 bp
1000	1 kilobase pair	1 kb
1.000.000	1 megabase pair	1 Mb
1.000.000.000 (10^9)	1 gigabase pair	1 Gb
1.000.000.000.000 (10^{12})	1 terabasepair	1 Tb
1.000.000.000.000.000 (10^{15})	1 petabase pair	1 Pb

Data biologis biasanya diperoleh sedikit demi sedikit dari hasil riset para ilmuwan. Seiring berkembangnya zaman dan teknologi, penemuan alat dan metode yang lebih canggih memungkinkan penemuan sekuen DNA menjadi lebih cepat. Selain itu, setiap data yang masuk ke basis data akan direview terlebih dahulu untuk menghindari error (*quality control*) (Pool & Esnayra, 2000). Mekanisme lainnya dapat dilakukan otomatis menggunakan software atau program, misalnya pada pengecekan BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) dengan perintah program:

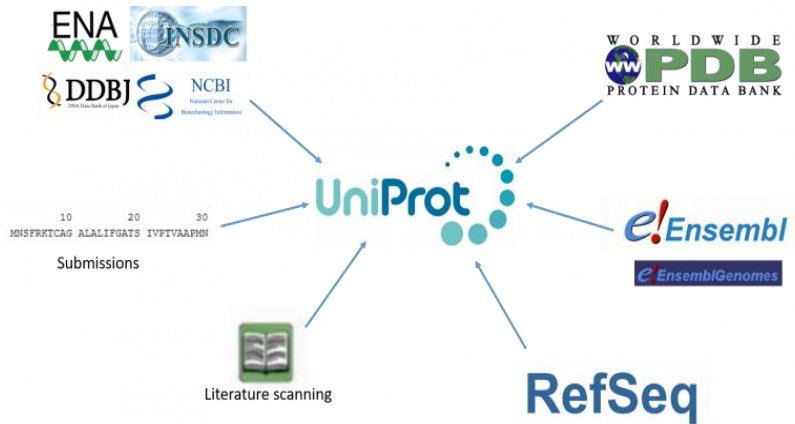
➤ **\$ blastdbcheck -db swissprot -dbtype prot**

Selanjutnya jika terdapat laporan aplikasi error maka perlu dicek ketersediaan ruang penyimpanan (disk) dan dapat diuji coba diunggah ulang (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK603843/>).

Namun, program memiliki keterbatasan dan tetap perlu dievaluasi oleh seorang ahli dalam mengecek atau kurasi. Sehingga biasanya pengelola database merupakan orang yang sudah dilatih dalam mengoperasikan website database (Pool & Esnayra, 2000). Selain website yang dikelola oleh suatu instansi yang diwakili oleh beberapa negara besar seperti penjelasan sebelumnya (USA, Jepang dan Eropa), beberapa website basis data lain juga dikelola oleh suatu organisasi (domain .org) misalnya *uniprot.org*.

➤ **Uniprot**

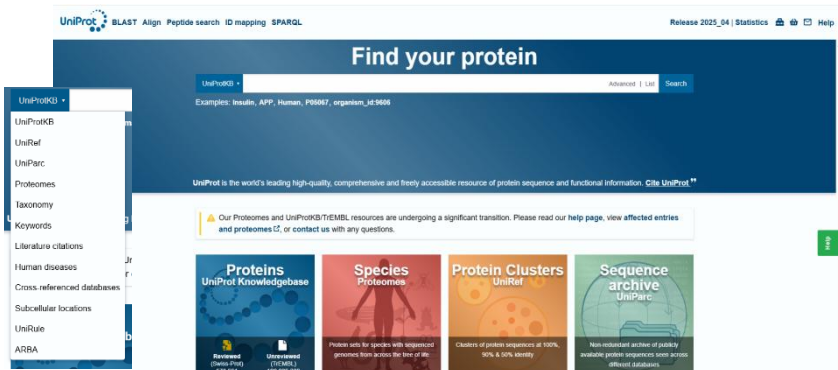
Uniprot dapat diakses di laman <https://www.uniprot.org/> merupakan basis data dari kolaborasi antara European Bioinformatics Institute (EBI), Swiss Institute of Bioinformatics (SIB), dan Protein Information Resource (PIR). Di laman uniprot terbagi menjadi tiga data mendasar yaitu UniprotKB (*Knowledgebase*), UniRef (*Reference Cluster*) dan UniParc (*Archive*) (Gambar 3.6).



Gambar 3. 6 Keterkaitan dan Kolaborasi Data pada UniProt

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

Tampilan website Uniprot.org (Gambar 3.7) juga interaktif dan memudahkan pengguna dalam mencari data yang berkaitan dengan protein baik itu struktur, sekuen protein, fungsi protein, *taxonomy*, domain, interaksi protein, *post translational modification*, *protein cluster* dan lain-lain.



Gambar 3. 7 Tampilan Website UniProt dengan Fitur yang Bisa Digunakan.

(Sumber: <https://www.uniprot.org/>)

Masing-masing website penyedia basis data memiliki fitur berbeda-beda sesuai dengan fokus dan tujuan penggunaannya (misalnya disajikan pada Tabel 3.2). Ada yang berfokus pada genom dan komponennya, ada yang mengarah pada protein atau dalam lingkup fungsional maupun taksonomi. Ada juga database yang mencakup banyak jenis data biologis sehingga banyak hal yang bisa diakses dari satu laman website. Semakin besar kapasitas data yang disimpan tentunya perlu didukung oleh kemampuan komputer tingkat tinggi dan akses internet yang memadai untuk memenuhi kebutuhan pengguna. Sebagai pengguna tentunya kita dapat memilih dan membandingkan website database mana yang dianggap relevan dengan kebutuhan riset atau analisis data yang kita butuhkan. Selain itu kecepatan akses, *user interface* dan *user friendly* dapat menjadi alasan menggunakan situs database tersebut. Terlebih lagi ada fitur *Search* yang sangat memudahkan pencarian topik atau kata kunci yang ingin kita cari. Website yang mampu menyediakan lebih banyak hal yang ingin dicari pengguna tentunya akan sering menjadi referensi dalam riset dan publikasi nantinya. Referensi yang dikutip dari database tentunya memberikan keuntungan bagi peneliti penyumbang data dan memberikan insentif untuk pengelola website untuk jumlah kunjungan yang tinggi.

Tabel 3. 2 Perbandingan Beberapa Basis Data dari Beberapa Sumber Penyedia Data

Database	Fokus	Fitur	Tipe data	Penggunaan
UniProt www.uniprot.org	Sekuen protein dan informasi fungsional	Sekuen protein komprehen sif, anotasi dan klasifikasi famili protein	Sekuen protein, data fungsional	Fungsi protein, anotasi dan klasifikasi

Database	Fokus	Fitur	Tipe data	Penggunaan
<i>Protein data Bank</i> (PDB) https://www.rcsb.org/	Struktur 3 dimensi dari protein, asam nukleat, dan kompleks lainnya	Struktur data 3D, visualisasi molekuler dan informasi struktural	Struktur protein, asam nukleat	Struktur biologi, desain obat, analisis fungsi protein
Ensembl www.ensembl.org	Data Genome dari vertebrata dan organisme model	Sekuen genom, anotasi gen, variasi data dan perbandingan genomik	Genom, gen, dan variasi	Fungsi gen, evolusi, perbandingan genomik
GenBank https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/	Sekuen Nukleotida dari berbagai organisme	Sekuen DNA dan RNA, anotasi dan menghubungkan dengan database lainnya	Sekuen DNA, sekuen RNA	Penemuan gen, <i>sequence alignment</i> , <i>functional genomic</i>
KEGG https://www.genome.jp/kegg/	Jalur biologis dan interaksi molekuler	Jalur, fungsi, dan integrasi antara gen, protein, dan data senyawa	Jalur dan interaksi gen	Analisis jalur, sistem biologis dan pengembangan produk
<i>Gene Expression</i>	Ekspresi gen dari alat dengan	Ekspresi gen, eksperimen	Data ekspresi gen	<i>Transcriptomic</i> , ekspresi gen,

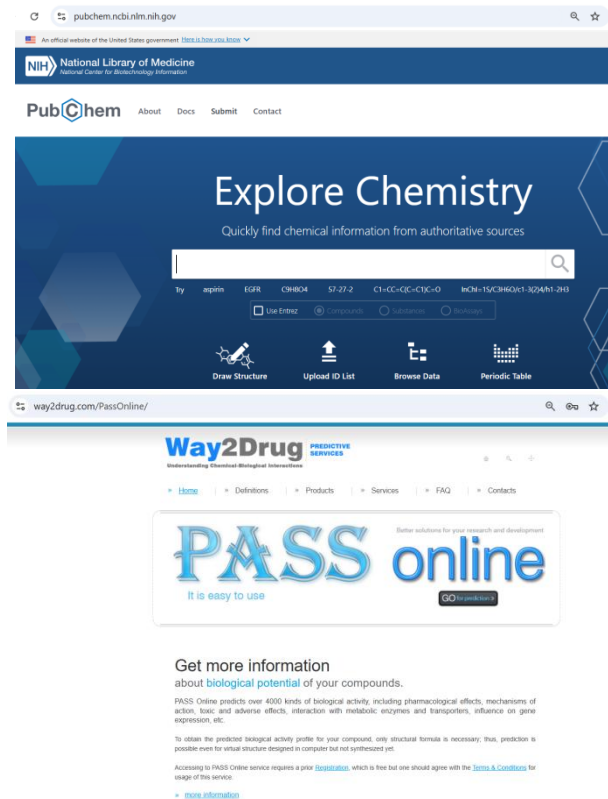
Database	Fokus	Fitur	Tipe data	Penggunaan
<i>Omnibus</i> (GEO) https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/	teknologi tinggi	metadata dan metode normalisasi		penemuan penanda biologis

Sumber: <https://www.cleavebio.com/>



Gambar 3. 8 Tampilan Website Basis Data
(Sumber: <https://www.rcsb.org/> ; www.ensembl.org ;
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/> ;
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)

Terlepas dari sumber basis data yang ditampilkan di topik ini, masih banyak sumber data lainnya karena masing-masing negara bisa saja memiliki basis data masing-masing. Namun tetap memperhatikan kualitas, kredibilitas dan kolaborasi dengan peneliti dan data lainnya yang telah ada serta telah diakui kebenarannya. Selain itu, basis data biologis biasanya juga membutuhkan data dari sumber bidang lain atau beririsan kuat dengan biologi misalnya bidang kimia khususnya yang berkaitan dengan molekul organik dalam makhluk hidup (biokimia). Basis data seperti <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> (untuk data senyawa kimia, struktur molekul, fungsi dll) dan <https://way2drug.com/PassOnline/> (untuk literatur aktivitas senyawa kimia) yang biasanya digunakan ahli biokimia dalam menganalisis senyawa biokimia khususnya dibidang metabolomik (Gambar 3.9). Bidang metabolomik memungkinkan untuk menganalisis senyawa dalam makhluk hidup baik hewan, tumbuhan maupun mikrobial yang selanjutnya dapat dianalisis ekspresi pada tingkat metabolisme.



Gambar 3. 9 Basis Data Bidang Kimia yang Biasanya Digunakan dalam Topik Metabolomik

(Sumber: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>; <https://way2drug.com/PassOnline/>)

DAFTAR PUSTAKA

- Abed, R., & Al-Najjar, Y. 2021. Bioinformatics Storing Databases. *Technium BioChemMed*, 2(4), 96–105. <https://doi.org/10.47577/biochemmed.v2i4.5335>
- Chaudhari, J. K., Pant, S., Jha, R., Pathak, R. K., & Singh, D. B. 2024. Biological big-data sources, problems of storage, computational issues, and applications: A comprehensive review. *Knowledge and Information Systems*, 66(6), 3159–3209. <https://doi.org/10.1007/s10115-023-02049-4>
- Higgs, P. G., & Attwood, T. K. 2005. *Bioinformatics and Molecular Evolution*. Blackwell Publishing.
- Kumari, B. 2024. An Overview In Biological Databases. *International Journal Of Scientific Research*, 80–82. <https://doi.org/10.36106/ijsr/5730614>
- Pool, R., & Esnayra, J. (with Staff, B. on B.). 2000. *Bioinformatics Converting Data to Knowledge: Workshop Summary*. National Academy Press.
- Pop, M., Attwood, T. K., Blake, J. A., Bourne, P. E., Conesa, A., Gaasterland, T., Hunter, L., Kingsford, C., Kohlbacher, O., Lengauer, T., Markel, S., Moreau, Y., Noble, W. S., Orengo, C., Ouellette, B. F. F., Parida, L., Przulj, N., Przytycka, T. M., Ranganathan, S., ... Warnow, T. 2024. Biological databases in the age of generative artificial intelligence. *Bioinformatics Advances*, 5(1), vbaf044. <https://doi.org/10.1093/bioadv/vbaf044>

BAB 4

STRUKTUR DAN FUNGSI ASAM NUKLEAT

4.1 Pengertian Asam nukleat

Cetak biru yang diperlukan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan manusia ada dalam genom manusia. Pada akhirnya, kami dapat memperoleh pemahaman yang lebih baik tentang bagaimana proses seluler dan molekuler manusia berkontribusi pada kesehatan dan penyakit. Genom, yang merupakan pelengkap lengkap DNA organisme, mengandung semua informasi yang diperlukan untuk menentukan struktur setiap protein yang dapat diproduksi sel. Ketahuian bahwa DNA bertanggung jawab atas semua aktivitas sel membawa konsep keilmuan biologi molekuler. Asam nukleat, makromolekul yang terdiri dari monomer yang disebut nukleotida, adalah molekul dasar yang dibahas dalam biologi molekuler dan sangat penting untuk semua sel dan virus.

Asam nukleat adalah makromolekul biologis yang mendasar, yang membentuk dasar molekuler pewarisan, ekspresi gen, dan regulasi seluler. Mereka berfungsi sebagai penyimpanan informasi genetik dan memfasilitasi kelangsungan hidup melalui transmisi yang akurat dari sifat-sifat genetik dari satu generasi ke generasi berikutnya. Dua jenis utama asam nukleat **asam deoksiribonukleat (DNA)** dan **asam ribonukleat (RNA)** adalah komponen universal pada organisme hidup, mulai dari virus dan bakteri hingga

tumbuhan dan manusia. Strukturnya terorganisir secara presisi untuk mendukung fungsi biologis esensialnya, dan sifat kimianya memungkinkan stabilitas serta regulasi dinamis. Pemahaman tentang struktur dan fungsi asam nukleat oleh karena itu menjadi inti dari biologi modern, genetika, bioteknologi, dan kedokteran. Memahami sifat, struktur, dan peran biologis asam nukleat sangat penting untuk memahami bagaimana organisme tumbuh, bereproduksi, berevolusi, dan mempertahankan integritas selulernya. (Watson, 2018)

Asam nukleat merupakan biopolimer esensial yang menjadi dasar kelangsungan kehidupan dengan menyimpan, mentransmisikan, dan mengekspresikan informasi genetik. Secara utama terdiri dari asam deoksiribonukleat (DNA) dan asam ribonukleat (RNA), keduanya terbentuk dari monomer nukleotida yang terhubung menjadi rantai panjang melalui ikatan fosfodiester antara gugus hidroksil 3' dari satu gula dan gugus fosfat 5' dari gula berikutnya, membentuk tulang punggung gula-fosfat yang berarah dengan basa nitrogen yang menonjol.

Asam nukleat atau nukleotida terhubung melalui **ikatan fosfodiester** antara kelompok hidroksil 3' dari satu gula dan kelompok fosfat 5' dari gula berikutnya, membentuk tulang punggung gula-fosfat dengan polaritas **5' ke 3'** yang terdefinisi. Susunan arah ini sangat penting untuk proses biologis seperti replikasi, transkripsi, dan pengenalan enzim (Lodish et al., 2016)

Struktur heliks memiliki **celah utama** dan **celah minor**, yang berfungsi sebagai situs ikatan untuk protein regulasi, faktor transkripsi, dan enzim. Bentuk DNA yang paling umum dalam kondisi fisiologis adalah **B-DNA**, meskipun konformasi alternatif seperti A-DNA dan Z-DNA dapat terbentuk dalam kondisi tertentu dan memiliki implikasi regula Selain struktur primer dan sekundernya, DNA juga memiliki struktur tingkat

tinggi yang kompleks. Pada prokariota, DNA terdapat sebagai molekul melingkar yang terpilin secara superkoil untuk muat di dalam wilayah nukleoid. Pada eukariota, DNA dikemas bersama protein histon untuk membentuk kromatin. Unit dasar kromatin adalah nukleosom, yang terdiri dari sekitar 147 pasangan basa DNA yang melilit sekelompok delapan protein histon. Nukleosom melipat dan mengondensasi lebih lanjut untuk membentuk serat kromatin tingkat tinggi, memungkinkan molekul DNA yang panjangnya meteran dikompresi ke dalam volume nukleus yang kecil (Watson, 2018)

Pengemasan kromatin bersifat dinamis dan memengaruhi ekspresi gen; kromatin yang longgar (euchromatin) memungkinkan transkripsi aktif, sedangkan kromatin yang sangat terkompresi (heterochromatin) umumnya tidak aktif secara transkripsional. Modifikasi epigenetik seperti metilasi DNA dan asetilasi histon memodulasi struktur kromatin dan memainkan peran kunci dalam perkembangan, identitas sel, dan penyakit.

Asam nukleat **DNA (asam deoksiribonukleat)** dan **RNA (asam ribonukleat)** adalah makromolekul biologis yang bertanggung jawab atas **penyimpanan, transmisi, dan ekspresi informasi genetik**. Mereka terdapat di semua organisme hidup dan esensial untuk pewarisan, ekspresi gen, dan regulasi seluler.

Secara struktural, asam nukleat adalah **polimer dari nukleotida**, dan secara fungsional, mereka berperan sebagai:

- Molekul penyimpanan genetik (DNA),
- Perantara dalam sintesis protein (RNA),
- Regulator ekspresi gen (RNA nonkoding),
- Molekul katalitik dalam beberapa kasus (ribozim).

(Bates, 2024)

4.2 Komposisi Asam Nukleat

Asam nukleat, terutama DNA dan RNA, terdiri dari monomer nukleotida yang berulang dan terhubung menjadi rantai panjang, membentuk tulang punggung gula-fosfat dengan basa nitrogen yang menonjol.

4.2.1 Nukleotida: *Building Block*

Asam nukleat terdiri dari blok bangunan spesifik yang disebut nukleotida, yang sedikit berbeda antara DNA dan RNA untuk menyesuaikan peran masing-masing dalam penyimpanan dan ekspresi genetik.

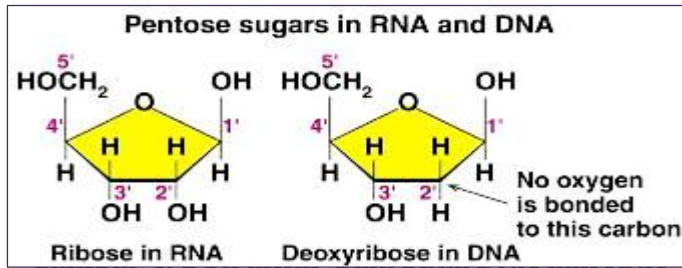
Pada tingkat yang paling dasar, asam nukleat adalah **polimer dari nukleotida**. Setiap nukleotida terdiri dari tiga komponen: gula pentosa, basa nitrogen, dan satu atau lebih kelompok fosfat. Basa nitrogen dibagi menjadi **purin** (adenin dan guanin) dan **pirimidin** (sitosin, timin, dan urasil). Pada DNA, gula yang digunakan adalah **deoksiribosa**, dan basa yang digunakan adalah adenina, guanina, sitosina, dan timin. Pada RNA, gula yang digunakan adalah **ribosa**, dan urasil menggantikan timin.

Secara kimia, asam nukleat adalah polimer yang terbuat dari unit monomer yang disebut **nukleotida**. Setiap nukleotida terdiri dari tiga komponen esensial:

1. Gula pentose

Gula pentosa menentukan apakah nukleotida termasuk dalam DNA atau RNA. DNA mengandung **deoksiribosa**, gula yang tidak memiliki atom oksigen pada karbon 2', sehingga DNA secara kimia lebih stabil. RNA mengandung **ribosa**, yang memiliki kelompok hidroksil (-OH) pada karbon 2', yang berkontribusi pada reaktivitas yang lebih tinggi dan

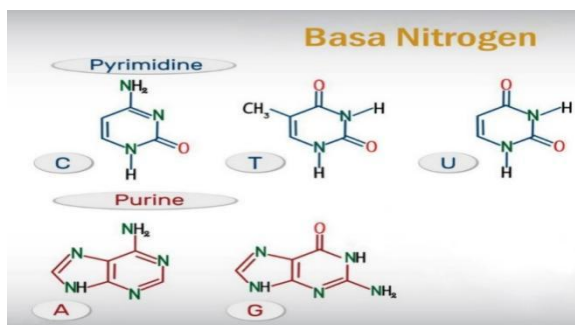
fleksibilitas struktural (Baynes dan Dominiczak, 2019)



(Sumber : <https://byjus.com>)

2. Basa nitrogen

Basa nitrogen dibagi menjadi dua kelompok: **purin** (adenin dan guanin) dan **pirimidin** (sitosin, timin dalam DNA, dan urasil dalam RNA). Basa purin terdiri dari (adenin [A], dan guanin [G]) dengan cincin ganda yang terikat dan pirimidin terdiri dari (sitosin [C], timin [T] dalam DNA, atau urasil [U] dalam RNA) dengan cincin tunggal. Pasangan basa komplementer A dengan T/U (dua ikatan hidrogen), G dengan C (tiga ikatan hidrogen).



Gambar 4. 2 Struktur Basa Nitrogen Purin dan Pirimidin (<https://www.istockphoto.com>)

3. Kelompok fosfat.

Nukleotida terhubung satu sama lain melalui **ikatan fosfodiester** antara kelompok fosfat 5' dari satu nukleotida dan kelompok hidroksil 3' dari nukleotida berikutnya, membentuk **tulang punggung** gula-fosfat yang khas pada polimer asam nukleat.

4.2.2 Jenis Asam Nukleat

Asalam nukelat utama yang ada, terdapat dalam dua jenis yaitu DNA dan RNA.

➤ DNA

Dua untai DNA saling melengkapi satu sama lain, di mana adenine (A) selalu berhadapan dengan thymine (T), dan guanine (G) berpasangan dengan cytosine (C) pada untai lainnya. Pasangan basa AT dan GC disebut pasangan basa melengkapi. pasangan basa. Logika dari pelengkapan ini adalah sebagai berikut:

1. Purina, yaitu adenina (A) dan guanina (G), lebih besar, sedangkan pirimidina, yaitu sitosina (C) dan timin (T), lebih kecil. Oleh karena itu, purina pada satu untai berpasangan dengan pirimidina pada untai lainnya untuk menjaga jarak yang hampir seragam antara kedua untai.
2. Adenin (A) membentuk dua ikatan hidrogen dengan timin (T), dan guanin (G) membentuk tiga ikatan hidrogen dengan sitosin (C) pada untai lainnya. Kombinasi lain antara purin dan pirimidin tidak stabil: A dapat tidak memiliki ikatan hidrogen dengan C, dan G hanya dapat memiliki satu ikatan hidrogen dengan T.

Pairing basa, yaitu AT dan GC, melengkapi kedua untai. Ikatan hidrogen multiple antara setiap

nukleotida DNA menahan kedua untai bersama-sama seperti resleting yang tertutup. (The LibreTexts libraries)

DNA mengkodekan instruksi untuk protein dan RNA melalui urutan basa, memungkinkan pewarisan, perkembangan, dan adaptasi. DNA bereplikasi secara semi-konservatif (satu untai parental menjadi templat untuk sintesis baru melalui DNA polymerase), ditranskripsi menjadi mRNA (RNA polymerase), dan mengalami perbaikan untuk mempertahankan integritasnya.

➤ RNA

Asam ribonukleat (RNA) adalah polimer untai tunggal dari ribonukleotida (A, G, C, U) yang menyimpan, mentransfer, dan menginterpretasikan informasi genetik serta mengkatalisis reaksi biokimia.

RNA berperan sentral dalam ekspresi gen, regulasi, katalisis, dan replikasi virus.

Berbeda dengan DNA, RNA memiliki karakter :

- Memiliki ribosa (kelompok 2'-OH)
- Menggunakan urasil (U) alih-alih timina (T)
- Biasanya beruntai tunggal
- Memiliki struktur sekunder dan tersier yang kompleks
- Dapat berfungsi sebagai enzim (ribozim)

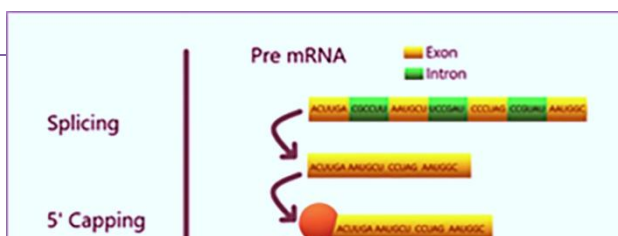
Tiga jenis RNA utama adalah messenger RNA (mRNA), ribosomal RNA (rRNA), dan transfer RNA

(tRNA). Ketiganya berfungsi dalam jalur utama sintesis protein. Berikut adalah RNA:

1. mRNA

mRNA ditranskripsi dari DNA dan mengandung cetak biru genetik untuk membuat protein. Tidak seperti mRNA eukaryotik, mRNA prokariotik tidak perlu diproses dan dapat langsung memulai sintesis protein karena ditranskripsi dari DNA dan mengandung cetak biru genetik. Setelah ditranskripsikan pada eukariota, pre-mRNA harus mengalami pematangan sebelum membentuk mRNA. Pre-mRNA mengandung daerah coding dan non-coding yang disebut intron dan ekson. Selama pemrosesan pre-mRNA, intron dihilangkan dari mRNA.

Mesenger RNA yang terbentuk setelah pemrosesan hanya terdiri dari ekson, yaitu bagian gen yang mengkode protein. Dalam transkrip RNA, cap 5' ditambahkan dengan 7 methylguanosine, dan ujung 3' dipoliadenilasi. Poliadenilasi adalah ketika ekor (tail) poli (A), urutan nukleotida adenin, ditambahkan ke transkrip. Ekor poli (A) 3' meningkatkan stabilitas mRNA, menandai ujung untai mRNA, dan membantu transportasi mRNA dari nukleus ke sitoplasma, selain melindungi mRNA dari degradasi melalui tutup 5'. Menurut Wan dan Chatterjee 2024.

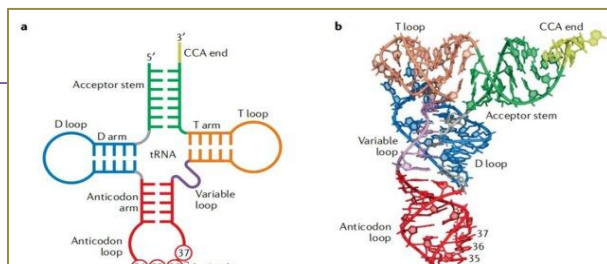


Gambar 4. 3 Tahapan pra-mRNA sebelum meninggalkan nukleus.

Sumber: (<https://creativecommons.org>)

2. tRNA

Proses mengubah mRNA menjadi protein dilakukan oleh molekul RNA yang dikenal sebagai RNA Transfer. Struktur tRNA terdiri dari situs akseptor 3', terminal fosfat 5', lengan D, lengan T, dan lengan antikodon. Tugas utama tRNA adalah mengangkut asam amino ke situs akseptor 3' dan membawanya ke kompleks ribosom dengan bantuan enzim sintetase tRNA aminoasil. Enzim ini memuat asam amino ke tRNA bebas untuk mensintesis protein. RNA transfer atau tRNA memiliki bentuk yang paling kecil jika dibandingkan dengan mRNA dan rRNA.

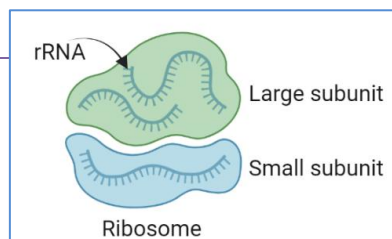


Gambar 4. 4 Ilustrasi Struktur RNA Transfer. a. Struktur Dasar tRNA, b. Struktur Daun Clover dari tRNA (Ding *et al.*, 2022)

Jenis asam amino yang terikat pada tRNA disebut sebagai aminoasil-tRNA setelah asam amino terikat pada tRNA. Jenis asam amino yang terikat pada tRNA bergantung pada kodon mRNA, yang terdiri dari urutan tiga nukleotida yang mengkode asam amino. Situs antikodon yang komplementer terhadap kodon mRNA dan menentukan asam amino mana yang akan dibawa adalah lengan antikodon tRNA (Wan & Chatterjee, 2024; Wang & Farhana, 2023).

3. rRNA

rRNA membentuk ribosom yang penting dalam sintesis protein. Ribosom mengandung subunit ribosom besar dan kecil. Pada prokariota, subunit ribosom 30S kecil dan 50S besar membentuk ribosom 70S. pada eukariota, subunit 40S dan 60S membentuk ribosom 80S. ribosom mengandung situs keluar E, peptidil (P), dan akseptor (A) untuk mengikat aminoasil-tRNA dan menghubungkan asam amino bersama-sama untuk membentuk polipeptida (Wan & Chatterjee, 2024; Wang & Farhana, 2023).



Gambar 4. 5 Ilustrasi Struktur rRNA dalam Ribosom

4.2.3 Fungsi Asam Nukleat

DNA dalam bentuk cetak biru, juga dikenal sebagai blueprint, dapat disalin dan diperbanyak saat sel membelah, memungkinkan DNA yang sama dimasukkan ke dalam sel baru. Oleh karena itu, sifat dan sifat seseorang berasal dari orang tua mereka dan akan diturunkan ke anak cucu mereka. Ini adalah daftar lengkap keunikan DNA yang sudah diketahui. Berikut adalah fungsi dari DNA.

1. Materi genetik kita, DNA, mengandung semua instruksi dari generasi ke generasi.
2. DNA yang terkandung dalam satu sel dapat mencapai panjang lebih dari dua meter jika dikumpulkan dan didistribusikan.
3. DNA adalah dasar dari semua gen, tetapi tidak semua DNA adalah gen; kurang dari 2% DNA kita adalah gen. Gen tersebar di seluruh DNA kita, dengan berton-ton DNA "non-gen" di antaranya.
4. "Huruf" yang terdiri dari DNA terdiri dari huruf-huruf A, T, G, dan C. Huruf-huruf ini adalah kependekan dari senyawa kimia yang terdiri dari DNA. Pada setiap sel terdapat 3 miliar huruf DNA didalamnya.

5. Gen mirip dengan kata-kata dalam alfabet DNA karena selalu dimulai dengan kumpulan 3 huruf (ATG). Oleh karena itu, para ilmuwan mengetahui bahwa itu adalah gen, dan gen tersebut secara harfiah dapat dibaca dengan alat yang disebut pengurut DNA. Kita mempunyai sekitar 25.000 gen, dan gen ini dapat ditemukan di setiap sel.
6. Tidak semua gen dapat digunakan oleh semua sel karena beberapa di antaranya unik untuk organ tertentu, seperti jantung atau otak. Epigenetika mengontrol gen yang aktif dan tidak aktif.
7. DNA manusia terdiri dari 23 kelompok unit yang berbeda (total 46 unit). Masing-masing dari 23 pasangan kromosom cocok dan memiliki set gen yang sama, sehingga setiap gen memiliki dua salinan. Ini disebut kromosom.

(Luftig dan Richey, 2000)

RNA adalah molekul yang dinamis. Struktur dan panjang molekul RNA dapat berbeda. RNA membentuk protein selama tahapan translasi. RNA membawa informasi genetik yang diterjemahkan oleh ribosom menjadi berbagai protein yang diperlukan untuk proses seluler. Tiga jenis RNA utama yang terlibat dalam sintesis protein adalah ribosomal RNA (rRNA), transfer RNA (tRNA), dan messenger RNA. Sekelompok kecil regulator RNA, seperti microRNA (miRNA), small nuclear RNA (snRNA), dan small interferensi RNA, juga melakukan fungsi regulasi gen, penyuntingan RNA, dan interferensi RNA (Wang & Farhana, 2023 : Wan & Chatterjee, 2024)

Berbagai fungsi RNA sebagai berikut (Baynes dan Dominiczak, 2019):

- a) Messenger RNA, atau mRNA, mengirimkan informasi genetik dari DNA ke ribosom, tempat sintesis protein terjadi.
- b) Transfer RNA, juga dikenal sebagai tRNA: Mentransfer asam amino tertentu ke ribosom selama proses sintesis protein, menyesuaikan dengan urutan mRNA yang dikodekan.
- c) RNA ribosom, atau rRNA: bagian struktural ribosom yang sangat penting untuk sintesis protein.
- d) Berfungsi sebagai prekursor untuk sintesis asam nukleat.
- e) RNA berfungsi sebagai pengangkut energi (seperti ATP atau NADH) dan koenzim (seperti NADH).
- f) RNA juga berfungsi sebagai molekul pensinyalan (seperti cAMP) di berbagai jalur metabolisme.
- g) Beberapa molekul RNA memiliki sifat katalitik dan dapat berfungsi sebagai enzim, yang dikenal sebagai ribozim. Mereka memiliki kemampuan untuk membelah urutan RNA tertentu, yang memiliki kemungkinan aplikasi terapeutik untuk penyakit yang disebabkan oleh RNA yang bermutasi. Penyakit seperti distrofi otot dan gangguan neurodegeneratif adalah contoh penyakit yang disebabkan oleh RNA yang bermutasi.
- h) Meregulasi Ekspresi Gen: Ekspresi gen diatur oleh molekul RNA. Misalnya, microRNA (miRNA) memiliki kemampuan untuk mengubah regulasi ekspresi gen target, yang berdampak pada berbagai proses dan respons seluler.

- i) RNA berperan padaproses translasi: Selama transkripsi, RNA dibuat dari DNA, di mana RNA polimerase II membaca untaian template DNA dalam arah 3' hingga 5' untuk menghasilkan transkrip RNA primer dalam arah 5' hingga 3'. Proses ini sangat penting untuk mengubah informasi genetik menjadi bentuk yang dapat diterjemahkan menjadi protein.

(Bates, *et al.*, 2024).

4.3 Struktur Asam Nukleat

Struktur DNA secara terkenal dijelaskan oleh **model heliks ganda** yang diusulkan oleh Watson dan Crick pada tahun 1953. DNA terdiri dari dua untai komplementer yang tersusun secara antiparalel, dengan satu untai berjalan ke arah 5'→3' dan untai lainnya ke arah sebaliknya 3'→5'. Untai-untai tersebut diikat bersama oleh **ikatan hidrogen** antara pasangan basa komplementer: adenina berpasangan dengan timin (A-T) melalui dua ikatan hidrogen, sementara guanina berpasangan dengan sitosin (G-C) melalui tiga ikatan hidrogen. Komplementaritas ini tidak hanya menstabilkan heliks ganda tetapi juga menyediakan dasar molekuler untuk replikasi DNA yang akurat. (Albert, *et al.*, 2002)

Konsep bahwa DNA mengandung informasi genetik diperkuat melalui eksperimen-eksperimen penting, termasuk yang dilakukan oleh Avery, MacLeod, dan McCarty pada tahun 1944, serta oleh Hershey dan Chase pada tahun 1952. Namun, dasar struktural pewarisan genetik menjadi jelas pada tahun 1953 ketika James Watson dan Francis Crick, berdasarkan data eksperimental penting dari Rosalind Franklin dan Maurice Wilkins, mengusulkan model heliks ganda DNA yang ikonik. Dalam model ini, dua untai nukleotida yang berlawanan arah melilit satu sama lain dalam heliks berputar ke kanan. Pasangan basa komplementer adenin berpasangan

dengan timin melalui dua ikatan hidrogen, dan guanin berpasangan dengan sitosin melalui tiga ikatan hidrogen tidak hanya menstabilkan struktur tetapi juga menyediakan mekanisme untuk replikasi informasi yang akurat. Urutan basa sepanjang molekul DNA mengkodekan informasi genetik dalam format linear yang mirip bahasa, memungkinkan pewarisan sifat dan transmisi instruksi biologis antar generasi (Albert, *et al.*, 2002).

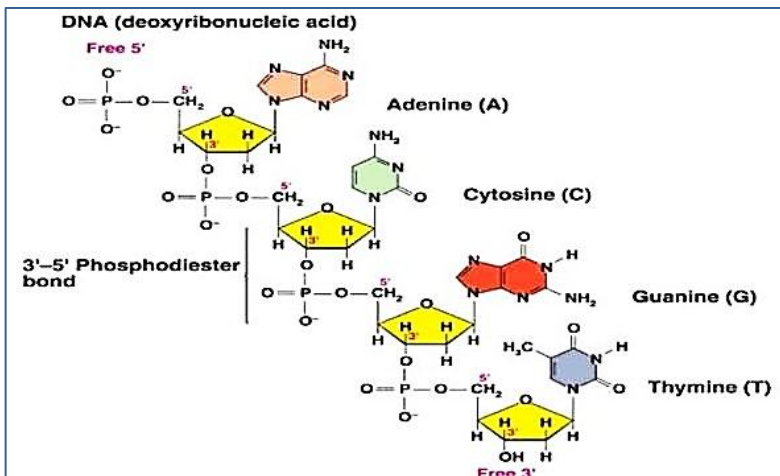
Meskipun stabil, DNA terus-menerus terpapar oleh agen-agen berbahaya seperti radiasi ultraviolet, spesies oksigen reaktif, dan mutagen kimia. Agen-agen ini dapat menyebabkan berbagai jenis kerusakan, mulai dari mutasi titik hingga patahan rantai ganda. Untuk menjaga integritas genomik, sel menggunakan berbagai **jalur perbaikan DNA**, termasuk Perbaikan Eksisi Basa (BER), Perbaikan Eksisi Nukleotida (NER), Perbaikan Ketidakcocokan (MMR), dan mekanisme perbaikan patah rantai ganda seperti Penyambungan Ujung Non-Homolog (NHEJ) dan Rekombinasi Homolog (HR). (Wilson dan Walker, 2010)

4.3.1 Struktur Primer

Struktur primer asam nukleat adalah urutan linier nukleotida yang dihubungkan oleh ikatan fosfodiester, membentuk rantai dengan tulang punggung gula-fosfat dan urutan basa yang bervariasi (A, T, C, atau G). Diagram menggambarkan ini sebagai *rantai tunggal dengan pola gula-fosfat yang berulang, di mana setiap posisi nukleotida menampung salah satu dari empat basa nitrogen*. Urutan ditulis dengan gugus fosfat bebas di ujung 5' dan gugus hidroksil bebas di ujung 3'.

DNA dan RNA adalah makromolekul dengan polimer berulang yang terbuat dari nukleotida. Ini adalah blok bangunan dasar asam nukleat dan berasal dari nukleosida, yang terdiri dari dua komponen: basa

nitrogen (2-deoksiribosa dalam DNA dan ribosa dalam RNA), dan gula segi lima atau gula karbon pentosa. Nukleotida, atau nukleosida fosfat, dibentuk oleh ikatan fosfodiester antara dua nukleotida yang berdekatan dengan reaksi antara posfat suatu nukleotida dengan gugus 3-OH pada nukleotida lainnya. Proses ini dapat diulang berulang kali untuk menghasilkan molekul polinukleotida yang Panjang (Albert, 2002)



Gambar 4. 6 Pembentukan Polinukleotida dari Mononukleotida Melalui Ikatan Fosfodiester (Wilson dan Walker, 2010)

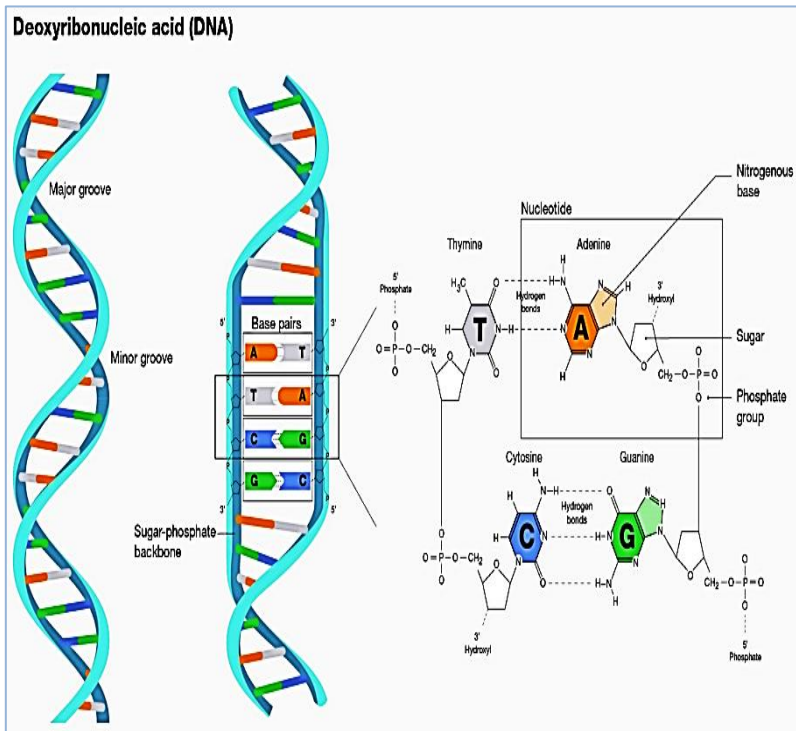
4.3.2 Struktur Sekunder Asam Nukleat

Struktur sekunder asam nukleat merujuk pada konformasi spasial lokal yang terbentuk oleh molekul asam nukleat saat melipat lebih lanjut berdasarkan tulang punggung untai tunggal. Dua rantai polinukleotida dalam DNA biasanya ditemukan dalam bentuk heliks ganda *right-handed*, dengan tulang punggung gula-fosfat di luar tengah molekul basa-basa dari dua untai. Struktur untai ganda ini sangat penting karena bergantung pada urutan basa di satu untai yang saling melengkapi.

➤ Struktur Sekunder *DNA*

Struktur sekunder DNA terutama berupa heliks ganda, yang terdiri dari dua untai deoksiribonukleotida yang berjalan ke arah berlawanan tetapi sejajar satu sama lain, melilit di sekitar sumbu bersama untuk membentuk heliks ganda. Dalam struktur ini, basa-basa terletak di bagian dalam heliks ganda dan berpasangan satu sama lain melalui ikatan hidrogen. Adenin (A) berpasangan dengan timin (T) melalui dua ikatan hidrogen, sedangkan guanin (G) berpasangan dengan sitosin (C) melalui tiga ikatan hidrogen. Mekanisme pasangan basa ini memberikan molekul DNA stabilitas dan spesifisitas yang tinggi.

Struktur sekunder DNA juga mencakup berbagai variasi, seperti heliks ganda tipe A dan heliks ganda tipe Z yang dapat mengambil konformasi yang berbeda-beda dalam kondisi yang berbeda. Selain itu, DNA dapat membentuk struktur sekunder yang lebih kompleks, seperti heliks tiga dan empat, yang memainkan peran penting dalam proses biologis tertentu (Ghannam, *et al.*, 2023)



Gambar 4. 7 Struktur Sekunder dari DNA

(National Human Genome Research Institute,)

Model heliks ganda DNA (kiri), bagian yang menunjukkan tumpang tindih antara rantai deoksiribosa dan fosfat yang membentuk kerangka; adenin (A) berpasangan dengan timin (T) atau guanin (G) berpasangan dengan sitosin (C) membentuk anak tangga heliks ganda (tengah); dan bagian yang diperbesar untuk menunjukkan struktur rangka dengan T terikat dengan A oleh dua ikatan hidrogen dan C terhubung dengan G oleh tiga ikatan hidrogen (kanan). (National Human Genome Research Institute,

Urutan basa, yang sangat penting untuk interaksi unik antara DNA yang dapat menyebabkan perbedaan dalam bentuk DNA molekul. Pada proses *in vivo*, DNA memiliki bentuk tiga dimensi yang berbeda, biasanya menggunakan heliks ganda yang dikenal sebagai bentuk B atau B-DNA. Bentuk DNA tangan kanan lain, seperti A dan C, terbentuk ketika serat DNA terkena kelembapan yang berbeda. Jumlah buah basa nitrogen di setiap lekukan lipatan DNA ditentukan oleh hal ini, (Wilson dan Walker, 2010) seperti yang ditunjukkan dalam tabel berikut.

Tabel 4. 1 Variasi bentuk DNA

DNA form	% humidity	Helix direction	Base/turn helix	Helix diameter (Å)
B	92%	RH	10	19
A	75%	RH	11	23
C	66%	RH	9.3	19
Z	(Pu-Py) _n	LH	12	18

RH, *right-handed* helix; LH, *left-handed* helix; Pu, Purine; Py, Pyrimidine. Dengan meletakkan serat DNA pada berbagai jenis kelembapan, berbagai bentuk DNA dapat diperoleh. DNA bentuk B adalah yang paling umum, dan bentuk A dan C telah diturunkan dalam kondisi laboratorium. DNA bentuk Z dapat dibuat dengan urutan purin dan pirimidin yang memiliki nukleotida bergantian dengan satu sama lain. (Wilson dan Walker, 2010)

➤ Struktur Sekunder RNA

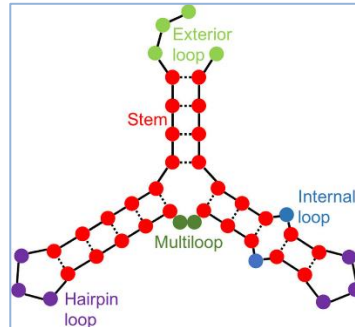
Struktur sekunder RNA relatif lebih kompleks, karena RNA umumnya berupa untai tunggal, namun daerah lokal dapat membentuk struktur untai ganda seperti loop rambut dan struktur batang-loop. Daerah untai ganda lokal ini terbentuk melalui pasangan basa di dalam rantai RNA, mirip dengan pasangan basa pada DNA. Namun, karena RNA umumnya mengandung lebih banyak urasil (U) daripada thymine (T), pasangan basa pada RNA lebih sering berupa A-U daripada A-T.

Struktur sekunder RNA sangat penting untuk fungsi biologisnya. Misalnya, struktur cloverleaf pada tRNA adalah struktur sekunder RNA yang khas, yang memungkinkan tRNA mengenali dan mengikat kodon yang sesuai pada mRNA dengan akurat, sehingga berpartisipasi dalam sintesis protein. Selain itu, struktur sekunder RNA juga mempengaruhi stabilitasnya, interaksi dengan protein, serta lokalisasi dan fungsinya di dalam sel (Bates, *et al.*, 2024). Berikut beberapa bentuk atau motif struktur sekunder RNA yang ada:

a. Hairpins (Stem-loops)

Sebuah RNA **hairpin** juga disebut **stem-loop** terbentuk ketika urutan nukleotida melipat kembali untuk berpasangan dengan urutan komplementer, menghasilkan:

- Sebuah batang ganda (daerah berpasangan basa)
- Sebuah lingkaran tunggal di bagian atas



Gambar 4. 8 Struktur Sekunder RNA : hairpin – stem loop

Hairpins adalah motif dasar yang ditemukan dalam:

- prekursor miRNA
- lengan tRNA
- elemen regulasi mRNA (misalnya, atenuasi, pengendalian stabilitas)
- genom virus. Mereka menstabilkan struktur RNA dan sering berfungsi sebagai elemen pengenalan untuk protein dan ribonuklease.
- rRNA

Bentuk ini berfungsi pada :

- ✓ Situs pengenalan untuk protein dan molekul kecil
- ✓ Memulai lipatan tersier
- ✓ Diperlukan untuk pematangan miRNA (Drosha & Dicer).

b. Internal loop

Nukleotida yang tidak berpasangan di kedua sisi batang mengganggu ikatan basa. Internal loop terlihat pada gambar 5 diatas)

- Dapat simetris atau asimetris
- Menyebabkan fleksibilitas dan distorsi lokal

Berfungsi pada

- ✓ Berfungsi sebagai platform pengikatan protein
- ✓ Mempengaruhi stabilitas dan geometri katalitik
- ✓ Ditemukan dalam banyak ribozim dan riboswitch

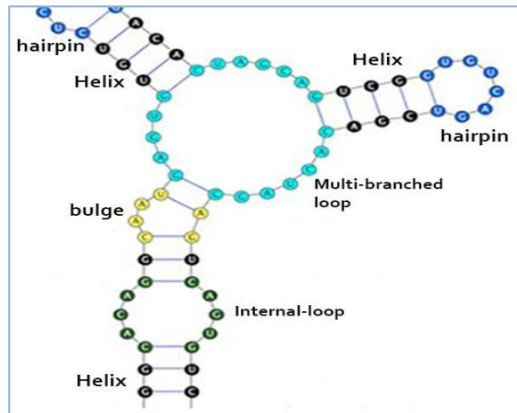
c. RNA Bulges

Sebuah bulge/**tonjolan** terjadi ketika **satu atau lebih nukleotida yang tidak berpasangan** menonjol dari hanya **satu sisi** heliks RNA.

Bulge/tonjolan menciptakan:

- Lipatan atau lekukan lokal dalam struktur
- **Engsel fleksibel** yang penting untuk interaksi tersier
- Situs pengenalan spesifik untuk protein pengikat RNA

Tonjolan muncul pada: Ribozim, motif RNA virus, dan posisi loop antikodon tRNA.



Gambar 4. 9 Struktur Sekunder RNA dalam Motif Bulge

d. Multibranch-loop (*junction*)

Daerah di mana tiga atau lebih heliks berkumpul. Berfungsi sebagai “pusat” lipatan dan pneting untuk RNA berukuran besar (misalnya, rRNA, intron kelompok I)

Berfungsi :

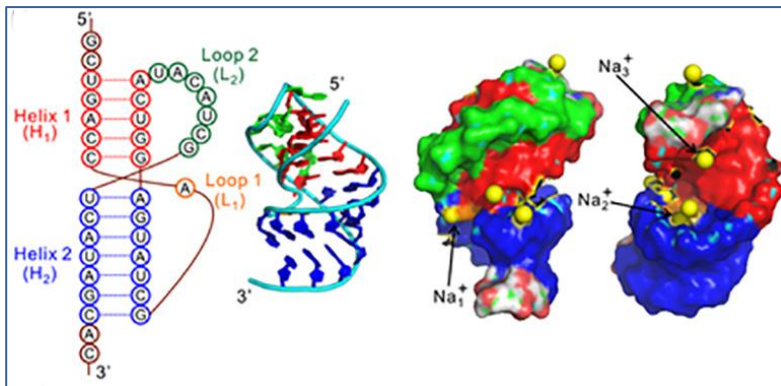
- Mengatur interaksi jarak jauh
- Membentuk permukaan ikatan untuk protein
- Pusat dari arsitektur ribosom

e. Pseudoknot

Sebuah RNA dalam motif **pseudoknot** terbentuk ketika nukleotida dalam sebuah loop berpasangan basa dengan wilayah di luar loop. Hal ini menciptakan topologi yang saling terjalin, yang penting untuk fungsi.

Signifikansi fungsional:

- ✓ Diperlukan untuk fungsi **RNA telomerase**
- ✓ Mediasi **pergeseran bingkai ribosom** pada virus (misalnya, coronavirus)
- ✓ Terdapat pada **ribozyme** dan **riboswitch**
- ✓ Berkontribusi pada kompresi tersier RNA



Gambar 4. 10 Bentuk Struktur RNA dengan Motif Pseudotnot (Brierley *et al.*, 2007)

Topologinya menambah kekakuan mekanis dan sering memengaruhi translasi atau katalisis. Beberapa teori mengatakan bahwa Pseudotnot lebih ke struktur tersier jika ditemukan lebih banyak dalam untai RNA. Contohnya telah diidentifikasi pada 16S rRNA, U2 snRNA, dan beberapa RNA virus tumbuhan dengan struktur serupa tRNA.

Struktur pseudoknot sangat sensitif terhadap konsentrasi garam, ion logam, dan urutan nukleotida, karena dapat dengan mudah membentuk struktur alternatif seperti struktur 5'-atau 3'-hairpin.

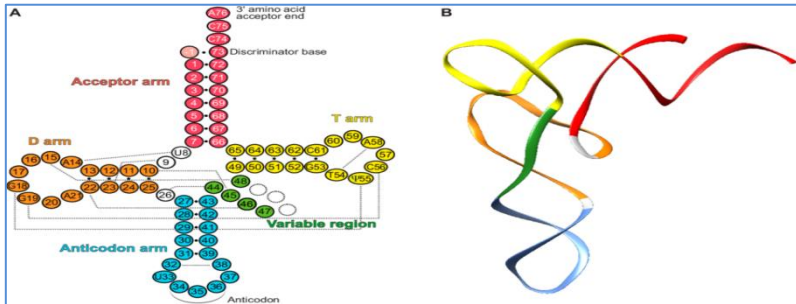
f. tRNA Folding (Cloverleaf)

tRNA menjalani salah satu jalur lipatan RNA yang paling ikonik merupakan struktur sekunder RNA. tRNA melipat menjadi struktur sekunder berbentuk daun semanggi melalui ikatan basa intramolekuler, memungkinkan perannya dalam mengantarkan asam amino selama sintesis protein.

tRNA melipat menjadi struktur sekunder berbentuk daun semanggi melalui ikatan basa intramolekuler, memungkinkan perannya dalam mengantarkan asam amino selama sintesis protein. Model daun semanggi menggambarkan tRNA sebagai RNA untai tunggal (~70-90 nukleotida) yang melipat menjadi empat lengan utama melalui ikatan basa kanonik (G-C, A-U) dan interaksi non-kanonik:

- ✓ Lengan penerima: Pasangan basa ujung 5'-3' (~7 bp), berakhir dengan urutan CCA untuk pengikatan asam amino.
- ✓ Lengan D: Mengandung modifikasi dihydrouridine (D); berpasangan dengan wilayah loop variabel.
- ✓ Lengan anticodon: Loop batang-loop 5 bp dengan loop anticodon 7 nukleotida untuk pengenalan kodon mRNA.
- ✓ Lengan T: Loop T ψ C (timidin, pseudouridin, sitidin) berpasangan dengan lengan D.

(Biela *et al.*, 2023).



Gambar 4. 11 Bentuk Struktur Sekunder RNA Motif Cloverleaf (Biela *et al.*, 2023)

Lingkar variabel (lengan tambahan pada beberapa tRNA) menambah keragaman. Basa yang dimodifikasi (~10-20% nukleotida, misalnya m^1A , m^2G) menstabilkan lipatan dan mencegah pasangan yang salah (Biela *et al.*, 2023)

4.3.3 Struktur Tersier Asam Nukleat

Struktur tersier asam nukleat merujuk pada struktur tingkat tinggi yang terbentuk akibat lipatan lebih lanjut dari molekul asam nukleat berdasarkan struktur sekundernya.

➤ Struktur tersier DNA

Untuk DNA, struktur tersiernya merupakan struktur tingkat tinggi yang terbentuk akibat pelintiran dan penggulangan tambahan pada heliks ganda, yang secara spesifik manifestasi sebagai struktur superkoil. Superkoiling ini terjadi dengan keterlibatan topoisomerase, memungkinkan DNA membentuk gulungan yang sangat rapat di dalam molekul, sehingga lebih mengompresi volumenya dan membuat penyimpanannya di dalam sel menjadi lebih efisien.

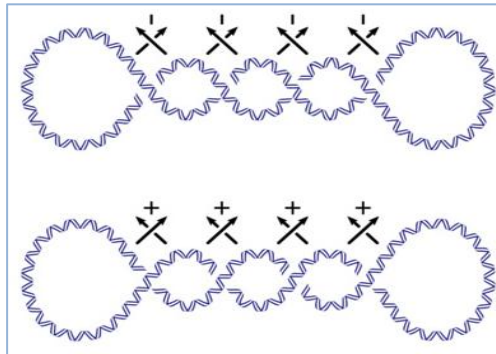
Struktur superkoil DNA dapat dianggap sebagai manifestasi dari struktur tersiernya. Dalam struktur ini, heliks ganda DNA dapat terhubung ujung ke ujung dan mengalami pelintiran atau penggulangan lebih lanjut, membentuk superkoil yang berputar dan berbentuk lingkaran. Struktur ini tidak hanya membantu dalam pengemasan kompak DNA di dalam sel tetapi juga dapat mempengaruhi proses seperti replikasi DNA, transkripsi, dan perbaikan (Neidle dan Sanderson, 2022)

Struktur tersier DNA merujuk pada organisasi tiga dimensi DNA di luar struktur sekunder (heliks ganda). Struktur tersier menjelaskan bagaimana DNA melipat, mengkondensasi, membentuk superkoil, dan berinteraksi dengan protein untuk muat di dalam sel dan menjalankan fungsi biologis. Organisasi tersier sangat penting karena DNA genom yang utuh, seringkali berukuran jutaan hingga miliaran pasangan bas harus dipaket dalam bentuk sangat kompak, namun tetap dapat diakses untuk replikasi, transkripsi, perbaikan DNA, dan rekombinasi.

Struktur tersier DNA berbeda antara prokariota dan eukariota, tetapi prinsip dasar superkoiling, looping, dan kompresi bersifat universal. Berikut contoh motif Struktur Tersier DNA

a. *Supercoiling*

Supercoiling DNA adalah pelintiran berlebihan (positif) atau pelintiran kurang (negatif) dari heliks ganda. Hal ini dikendalikan oleh topoisomerase, yang menambahkan atau menghilangkan pelintiran. *uperkoiling* adalah motif tersier dasar untuk semua DNA.



**Gambar 4. 12 Struktur DNA Tersier Motif DNA
*Supercoiling***

Gambar ini menunjukkan:

- Superkoil negatif (terlalu longgar) mempromosikan pemisahan untai
- Superkoil positif (terlalu ketat) dihasilkan di depan garpu replikasi
- Peran topoisomerase dalam meredakan tegangan torsi

b. Pembentukan Loop DNA

DNA membentuk loop melalui interaksi protein.

Contoh:

- Lac operon loop pada bakteri (DNA membentuk loop saat represor Lac mengikat dua situs)
- Enhancer–promoter loops pada eukariota yang dimediasi oleh cohesin & CTCF
- Topologically Associated Domains (TADs) dalam arsitektur kromatin

Loop memungkinkan regulasi jarak jauh gen.

(Gestelend *et al.*, 1999)

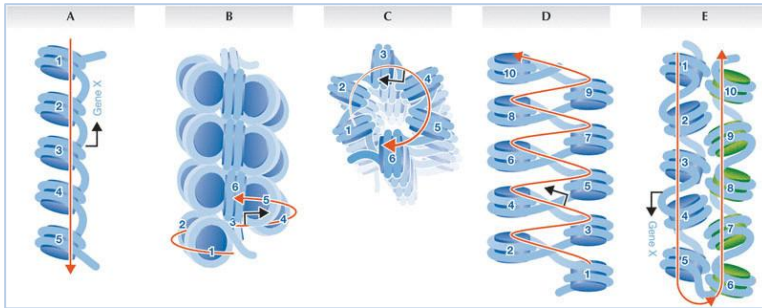
c. DNA-Protein Complexes (*Nucleoprotein Structures*)

Struktur DNA tersier adalah bentuk tiga dimensi keseluruhan molekul DNA, yang melibatkan penggulungan dan lipatan tingkat tinggi dari heliks ganda, bukan hanya struktur dua untai. Ini mencakup bentuk heliks ganda yang terkenal, penggulungan supernya menjadi struktur melingkar yang terpilin untuk penyimpanan kompak, dan penggulungan lebih lanjut menjadi serat kromatin yang membentuk kromosom

Struktur DNA tersier pada eukariota didominasi oleh hierarki kromatin:

1. Nukleosom (serat 10 nm) – “manik-manik pada tali”
2. Serat 30 nm – model solenoid atau zig-zag
3. Lingkaran kromatin – terikat pada protein penyangga
4. TADs – domain yang terkait secara topologis
5. Wilayah kromosom di dalam nucleus

Lapisan-lapisan ini menghasilkan kompresi DNA sebesar 6 orde magnitudo.



Gambar 4. 13 Struktur Tersier DNA-Compleks Protein

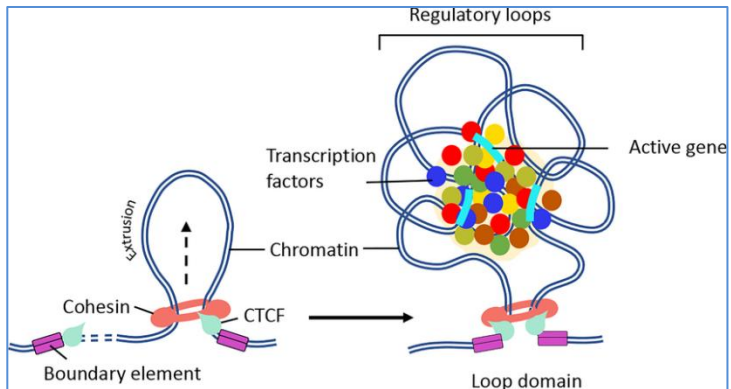
Meskipun nukleosom kadang-kadang diklasifikasikan sebagai “kuaterner,” mereka tetap menjadi komponen esensial dari lipatan tersier DNA karena mereka menentukan kompresi 3D. Hal ini termasuk Nukleosom & Serat Kromatin (Lipatan Tingkat Tinggi) ;

- Nukleosom (DNA yang melilit histon)
 - Serat kromatin (serat 10 nm → 30 nm)
 - Lingkaran kromatin & rangkaian
 - Wilayah kromosom
- d. Chromatin Loops & TAD Organization (3D Genome)

Genom manusia tidak tersusun sebagai molekul linear di dalam nukleus. Sebaliknya, genom tersebut melipat menjadi arsitektur 3D yang sangat kompleks yang mengatur ekspresi gen, replikasi, perbaikan DNA, dan stabilitas genom. Dua prinsip dasar dari organisasi 3D ini adalah:

- Lingkaran kromatin
- Domain Asosiasi Topologis (TAD)

Fitur struktural ini memastikan bahwa elemen genomik fungsional (promotor, enhancer, protein regulasi) berinteraksi secara terkendali secara spasial.



Gambar 4. 14 Struktur Tersier DNA dalam Motif Chromatin-Loop

Dari gambar diatas, menunjukkan cohesin membentuk loop dengan bergerak meluncur sepanjang DNA, Protein CTCF terikat pada titik tumpuan loop (biasanya dalam orientasi konvergen) dan enhancer (E) secara fisik bersentuhan dengan promotor (P) akibat pembentukan loop. Domain yang diberi kode warna membantu memvisualisasikan batas-batas.

Fungsi biologis dalam bentuk kromatin loops :

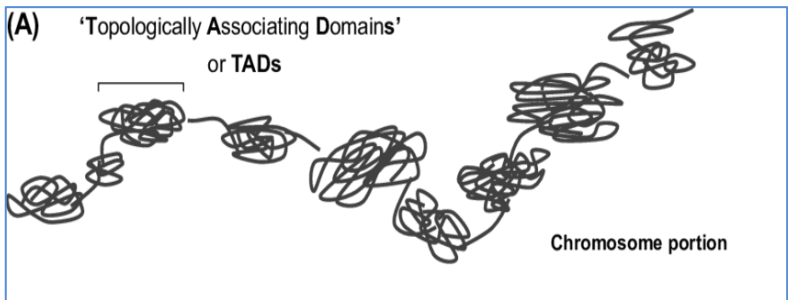
- Membawa **enhancer** bersentuhan dengan **promoter**
- Memisahkan wilayah regulasi
- Mengontrol ekspresi gen
- Menstabilkan arsitektur regulasi yang besar

- Memfasilitasi pabrik transkripsi (kluster polimerase RNA)

Domain Asosiasi Topologis (TADs) adalah wilayah genom berukuran megabase di mana interaksi DNA terjadi lebih sering di dalam domain daripada antara domain. Mereka mewakili unit dasar dari lipatan genom 3D.

Fitur Utama

- Ukuran: 100 kb – 2 Mb
- Interaksi internal tinggi; interaksi lintas batas jarang
- Terpelihara di berbagai jenis sel dan spesies
- Batas-batas yang kaya akan CTCF, cohesin, gen rumah tangga, elemen SINE



Gambar 4. 15 Struktur tersier DNA dalam bentuk Domain Asosiasi Topologis (TADs)

Fungsi

- Mengatur spesifisitas enhancer-promoter
- Mencegah “misfiring” enhancer ke gen yang salah
- Mengorganisir kromatin menjadi kompartemen fungsional

- Menstabilkan struktur genom selama pembelahan sel

TADs bertindak seperti **lingkungan** yang menjaga elemen regulasi dalam konteks genomik yang benar.

(Neidle dan Sandersom, 2022 ; Wattson , 2018)

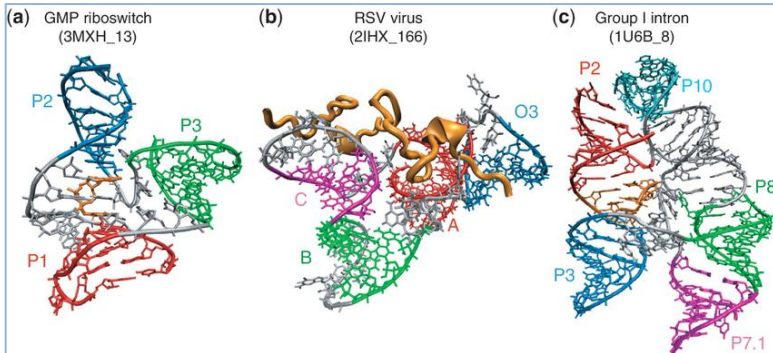
4.3.4 Struktur Tersier RNA

Selain DNA, molekul RNA juga memiliki struktur tersier. Sebagai contoh, struktur tersier tRNA membentuk bentuk L terbalik. Pada tRNA berbentuk daun semanggi, yang memiliki struktur sekunder, pembengkokan molekul memungkinkan basa yang tidak berpasangan pada satu loop membentuk ikatan hidrogen dengan basa komplementer pada loop lainnya, sehingga menghasilkan konformasi tiga dimensi yang spesifik ini. Struktur tersier ini sangat penting bagi fungsi tRNA karena memastikan bahwa tRNA dapat mengenali dan mengikat kodon yang sesuai pada mRNA dengan akurat, sehingga berpartisipasi dalam proses sintesis protein. (Wang, & Farhana, 2023).

Lipatan tersier RNA lebih beragam dan dinamis daripada DNA, karena RNA: Berupa rantai tunggal, memiliki kelompok 2'-OH yang reaktif, dapat membentuk pasangan basa nonkanonik, Berinteraksi kuat dengan ion logam (Mg^{2+}) dan menggunakan berbagai macam motif tersier. Berikut beberapa motif RNA tersier :

a. Coaxial Helical Stacking

Penumpukan heliks koaksial adalah interaksi tersier RNA yang mendasar, di mana dua heliks RNA terpisah berbaris ujung ke ujung untuk membentuk satu heliks quasi-heliks yang kontinu.



Gambar 4. 16 Bentuk Tersier dari RNA Moritf Coaxial Helical Stacking (Laing et l., 2011)

- ✓ Two double-stranded RNA helices are shown **stacking vertically**, forming an extended helix.
- ✓ The **base-pairing continuity** creates structural stability similar to a canonical A-form RNA helix.
- ✓ The junction region (between the helices) is color-coded to show **unpaired nucleotides** that allow flexibility yet preserve stacking alignment.
- ✓ Hydrogen-bonded base pairs reinforce the coaxial alignment.

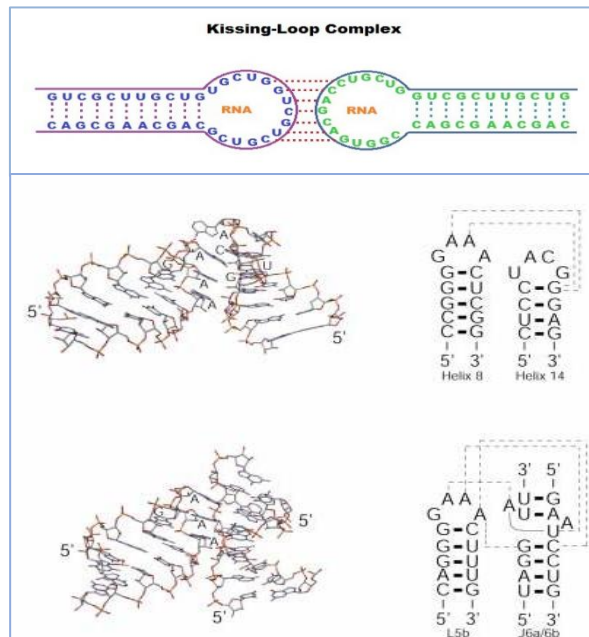
Penumpukan koaksial sangat penting dalam:

- ✓ penyusunan tersier tRNA (menstabilkan struktur berbentuk L)
- ✓ Intron kelompok I dan II
- ✓ Arsitektur RNA ribosom (rRNA)
- ✓ Ribozim (hammerhead, ribozim HDV)
- ✓ Kompleks RNA-protein (RNA telomerase, spliceosome)

Motif ini membantu mengompakkan RNA menjadi bentuk 3D yang stabil sambil memungkinkan fleksibilitas fungsional (Laing *et al.*, 2011)

b. *Kissing-loop Interactions*

Kompleks RNA kissing-loop juga disebut interaksi kissing-hairpin adalah struktur tersier RNA yang penting, di mana dua loop hairpin berpasangan basa satu sama lain. Alih-alih melipat dalam satu molekul, loop dari dua batang RNA terpisah berinteraksi melalui pasangan basa Watson-Crick atau non-kanonik, membentuk kontak tersier yang stabil (Li, *et al.*, 2004)

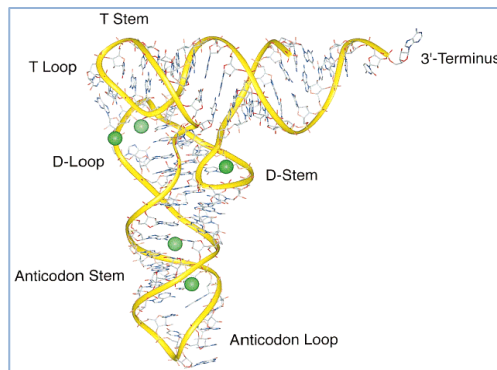


Gambar 4. 17 Struktur Tersier RNA , Motif Liss-Loop

c. tRNA Tertiary Structure (L-shaped Folding)

Transfer RNA (**tRNA**) merupakan salah satu molekul RNA yang paling kompleks secara struktural dan esensial secara fungsional dalam sel. Struktur tersiernya berupa konformasi 3D berbentuk L yang kompak, terbentuk dari lipatan struktur sekunder berbentuk daun semanggi klasiknya. Arsitektur 3D yang presisi dari tRNA sangat penting untuk perannya dalam translasi, memudahkan dalam

- Pengiriman asam amino yang akurat ke ribosom
- Pengakuan kodon-antikodon yang benar
- Penempatan yang tepat di situs A, P, dan E ribosom
- Interaksi dengan sintase aminoasil-tRNA



Gambar 4. 18 Struktur Tersier RNA dalam Morif 3D-Folding RNA (Gesteland *et al.*, 1999)

tRNA menunjukkan bagaimana RNA mencapai kompleksitas struktural dan stabilitas melalui interaksi sekunder dan tersier, termasuk penumpukan basa, pasangan nonkanonik, dan kontak jarak jauh. (Robertson dan Joyce, 2012)

4.3.5 Struktur Kuaterner Asam Nukleat

Struktur kuaterner asam nukleat merujuk pada konformasi spasial kompleks yang terbentuk ketika molekul asam nukleat berinteraksi dengan molekul lain, seperti protein atau asam nukleat lainnya. Struktur ini umumnya melibatkan ikatan non-kovalen antara rantai asam nukleat dan protein atau molekul lain, seperti ikatan hidrogen, ikatan ionik, interaksi hidrofobik, dan gaya van der Waals. Pada organisme hidup, struktur kuaterner asam nukleat sangat penting untuk menjalankan fungsi biologis spesifiknya. Secara khusus, struktur kuaterner asam nukleat dapat mencakup situasi-situasi berikut:

1. Kompleks Asam Nukleat-Protein

Ini adalah bentuk struktur kuaterner yang paling umum untuk asam nukleat. Misalnya, dalam ribosom, rRNA berikatan dengan berbagai protein untuk membentuk kompleks, yang sangat penting dalam proses sintesis protein. Selain itu, terdapat banyak jenis kompleks asam nukleat-protein lainnya, seperti spliceosome dan telomerase, yang memainkan peran vital dalam regulasi ekspresi gen, perbaikan DNA, dan pembelahan sel.

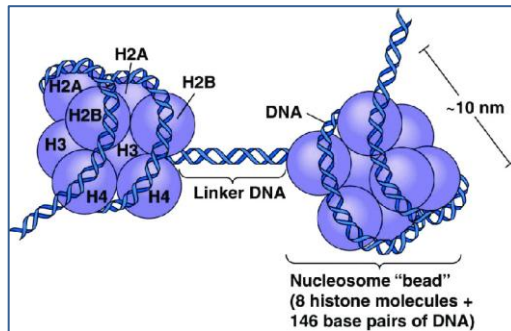
2. Kompleks Asam Nukleat-Protein

Ini adalah bentuk struktur kuaterner yang paling umum untuk asam nukleat. Misalnya, dalam ribosom, rRNA berikatan dengan berbagai protein untuk membentuk kompleks, yang sangat penting dalam proses sintesis protein. Selain itu, terdapat banyak jenis kompleks asam nukleat-protein lainnya, seperti spliceosome dan telomerase, yang memainkan peran vital dalam regulasi ekspresi gen, perbaikan DNA, dan pembelahan sel.

3. Konformasi Ruang Spesifik

Selain interaksi dengan protein atau asam nukleat lainnya, molekul asam nukleat itu sendiri dapat membentuk konformasi ruang spesifik di bawah kondisi tertentu. Misalnya, di bawah konsentrasi ion dan tingkat pH tertentu, DNA dapat membentuk struktur superkoil dan konformasi tingkat tinggi lainnya. Struktur-struktur ini penting untuk pengemasan rapat DNA dan regulasi ekspresi gen.

(Wang, & Farhana, 2023).



Gambar 4. 19 STruktur Quartener DNA (Albert, 2002)

Struktur kuaterner pada DNA paling baik diilustrasikan oleh kromatin, di mana DNA berinteraksi dengan protein histon untuk membentuk:

1. Nukleosom (DNA + oktamer histon)
2. Serat kromatin (susunan nukleosom yang dilipat menjadi struktur berukuran 30–40 nm)
3. Domain loop (diorganisir oleh cohesin/CTCF)

4. Wilayah kromosom (organisasi nuklir tingkat tinggi)

Ini mewakili perakitan nukleoprotein multi-komponen, sesuai dengan definisi struktur kuaterner asam nukleat. Struktur kuaterner RNA merujuk pada tingkat organisasi tertinggi dari arsitektur RNA, di mana beberapa molekul RNA atau RNA bersama dengan banyak protein menyatu menjadi kompleks besar dan terintegrasi. Struktur kuaterner RNA sangat penting dalam proses translasi, splicing, pengemasan genom, dan regulasi seluler, perakitan nukleoprotein, sesuai dengan definisi struktur kuaterner asam nukleat. Berikut beberapa contoh struktur kuartener dari RNA

- Ribosome: Arsitype dari struktur kuartener RNA
- Spliceosome: Perakitan Kuartener Multi-snRNA (Contohnya U1, U2, U4/U6, U5 snRNAs + lebih dari 100 protein)
- Telomerase RNP (RNA TERC + protein TERT + faktor aksesori)
- RNase P (enzim RNA katalitik + protein-protein lain)
- Signal Recognition Particle (SRP) contohnya (7S RNA + 6 proteins)
- Viral RNA Quaternary Structures contohnya : (Ribozyme multimers, pseudoknot stacks, RNA dimers)
- Ribozim Multi-RNA dan Perakitan RNA Berstruktur Tinggi

(Gesteland *et al.*, 1999 ; Doudna dan Doherty, 2001)

Struktur kuaterner asam nukleat tidak terdapat pada semua molekul asam nukleat. Pada organisme hidup, jenis-jenis molekul asam nukleat yang berbeda memiliki karakteristik struktural yang unik tergantung pada fungsi biologisnya. Selain itu, struktur kuaterner asam nukleat dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti suhu, pH, dan kekuatan ion (Neidle dan Sanceren, 2022)

4.4 Penutup

Asam nukleat DNA dan RNA mewakili dasar molekuler informasi biologis, pewarisan, dan fungsi seluler. Strukturnya, meskipun secara kimiawi sederhana, menghasilkan kompleksitas, stabilitas, dan adaptabilitas yang luar biasa, yang memungkinkan kehidupan untuk menyimpan, menyebarkan, dan mengatur informasi genetik dengan ketepatan yang luar biasa. Secara struktural, asam nukleat merupakan contoh organisasi hierarkis.

Struktur primer DNA urutan linier nukleotida mengkodekan informasi genetik. Struktur sekundernya, heliks ganda ikonik, memberikan stabilitas dan pasangan komplementer yang presisi, sementara tingkat tersier dan kuaterner mengorganisasikan DNA menjadi kromosom melalui interaksi dengan histon, protein penyangga, dan kompresi kromatin tingkat tinggi. RNA mengikuti hierarki serupa tetapi jauh lebih fleksibel secara struktural: struktur seperti rambut, loop, tonjolan, pseudoknot, dan motif tumpukan koaksial menghasilkan arsitektur tiga dimensi yang rumit. Bersama-sama, lapisan struktural ini mengubah polimer kimia sederhana menjadi arsitektur informasi genetik dan pengendalian seluler.

Secara fungsional, asam nukleat sangat penting di semua tingkatan organisasi biologis. Fungsi utama DNA adalah penyimpanan informasi jangka panjang, memastikan kelangsungan materi genetik antar generasi sel. Replikasi DNA, yang dipandu oleh pasangan basa komplementer dan dieksekusi oleh kompleks protein yang sangat terkoordinasi, memastikan pewarisan yang lengkap dan akurat. RNA berperan di pusat ekspresi gen struktur dan fungsi asam nukleat mencerminkan keseimbangan halus antara stabilitas dan adaptabilitas.

DNA menyediakan kerangka kerja yang kokoh dan tahan lama, cocok untuk penyimpanan jangka panjang informasi hereditas, sementara RNA memperkenalkan fleksibilitas, kapasitas katalitik, dan respons cepat yang diperlukan untuk regulasi seluler dan evolusi. Interaksi terkoordinasi mereka menetapkan dogma sentral biologi molekuler dan membentuk kompleksitas semua sistem hidup. Pada akhirnya, pemahaman tentang struktur dan fungsi asam nukleat esensial tidak hanya untuk menghargai organisasi biologis dari molekul hingga organisme, tetapi juga untuk memajukan bioteknologi, kedokteran, dan ilmu genomik di era yang semakin ditandai oleh presisi molekuler

DAFTAR PUSTAKA

- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., *et al.* 2002. *Molecular Biology of the Cell*. Garland Science.
- Bates, S. A. (2024, July 26). *Deoxyribonucleic Acid (DNA)*. National Human Genome Research Institute. <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Deoxyribonucleic-Acid>
- Bayne, J dan Dominiczak, M. 2019. Medical Biochemistry. Edisi 5. ISBN: 978-0-7020-7299-4. © 2019, Elsevier Limited
- Biela , A., Hammermeister , A., Kaczmarczyk, I., Walczak, M., Koziej, L., Lin T.Y., Glatt, S. 2023 . The diverse structural modes of tRNA binding and recognition. *Journal Biol Chem.* 26;299(8):104966. doi: 10.1016/j.jbc.2023.104966
- Brierley, I., Pennell, S dan Robert J. C. Gilbert. 2007. Viral RNA pseudoknots: versatile motifs in gene expression and replication. *Nature Reviews Microbiology* **volume 5**, pages 598–610 (2007)
- Doudna, J.A., dan Doherty, E.A. 2001. Ribozyme Structures and Mechanisms. *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure* 30(1):457-75. DOI:10.1146/annurev.biophys.30.1.457
- Gesteland, R.F., Cech, T.R., dan Atkins, J.F. 1999. The RNA world : the nature of modern RNA suggests a prebiotic RNA . Book. Edisi 2. Cold Spring Harbor, N.Y. : Cold Spring Harbor Laboratory Press. ISBN : 9780879695897

- Ghannam, J. Y., Wang, J., & Jan, A. (2023). Biochemistry, DNA Structure. *StatPearls*.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538241/>
- Laing, C., Wen, D., Jason T. L., Wang, Schlick, T. 2011. Predicting coaxial helical stacking in RNA junctions. *Nucleic Acids Research*, Volume 40, Issue 2, 1 January 2012, Pages 487–498,
<https://doi.org/10.1093/nar/gkr629>
- Li, P.T.X., Bustamante, C. and Tinoco, I,Jr. 2006. Unusual mechanical stability of a minimal RNA kissing complex. *Biophysics and Computational Biology*. 103 (43) 15847-15852.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0607202103>
- Lodish, H., Berk, A., Kaiser, C., *et al.* 2016. *Molecular Cell Biology*. W. H. Freeman & Company. Edisi 8. ISBN-10: 1-4641-8339-2.
- Luftig, M. A.and Richey S. 2000.DNA and Forensic Science.New England LawReview.Vol. 35:3
- Neidle, S. dan Sanderson, M. 2022. Principles of Nucleic Acid Structure. Chapter Methods for studying nucleic acid structure (Second Edition).
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819677-9.00008-1>
- Robertson, M.P and Joyce,G.F. 2012. The Origins of the RNA World. Cold Spring Harb Perspect Biol 2012;4:a003608
- Tripathi, M., Sarkar, A. dan Mahilang, M. 2023. Handbook of Biomolecules Fundamentals, Properties and Applications : Chapter 3 - Nucleic acids: Components, nomenclature, types, and protection method. 2023,

Pages 57-76. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91684-4.00009-8>

Watson, J. D., *et al.* 2018. *Molecular Biology of the Gene*. Pearson.
– Clear diagrams of hairpins, loops, pseudoknots, and tertiary structures.

Wan, Y., & Chatterjee, K. (2024, July 24). *RNA / Definition, Structure, Types, & Functions*. Encyclopedia Britannica. <https://www.britannica.com/science/RNA>

Wang, D., & Farhana, A. (2023). Biochemistry, RNA Structure. *StatPearls*.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK558999/>

Wilson, K dan Walker, J. 2010. Principle and Technique of Biochemistry and Molecular Biology. Edisi 7. Cambridge University Press. ISBN 978-0-521-51635-8.

Watson, J. D., *et al.* *Molecular Biology of the Gene*. Molecular Biology of the Gene Watson 7th Edition: An In-Depth Exploration. Pearson. Clear diagrams of hairpins, loops, pseudoknots, and tertiary structures.

Wang, D., & Farhana, A. (2023). Biochemistry, RNA Structure. *StatPearls*.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK558999/>

Voet, Donald; Voet, Judith; Pratt, Charlotte (2008). *Fundamentals of the biochemistry : life at the molecular level (3rd ed.)*. Hoboken, NJ: Wiley. ISBN 9780470129302.

Winchester, A. (2024, July 17). *Genetics - DNA, Heredity, Variation*. Encyclopedia Britannica. [https://www.britannica.com/science/genetics/Meth](https://www.britannica.com/science/genetics/Methods-in-genetics)
[ods-in-genetics](https://www.britannica.com/science/genetics/Meth)

Zang, Q., Jiang, B., DU, Z., Chasin, L. 2020. A doubly auxotrophic CHO-K1 cell line for the production of recombinant monoclonal antibodies. *Biotechnology and Bioengineering*, 117, (8) DOI: 10.1002/bit.27367

BAB 5

ANALISIS SEKUENS DNA DAN RNA

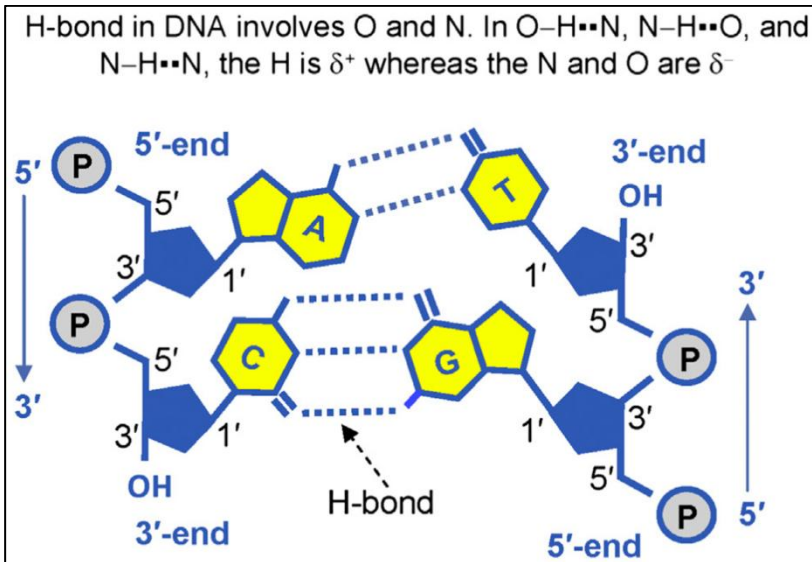
Riset genetika modern bersifat menyeluruh dan memanfaatkan beragam metode yang bekerja pada berbagai tingkat organisasi biologis untuk menjelaskan suatu fenomena. Fokus utamanya adalah mengungkap susunan genetik organisme, termasuk memahami dasar genetik suatu sifat, mempelajari sekuens DNA (genom), mengidentifikasi gen penyandi sifat, serta menafsirkan fungsi dan hubungan gen tersebut dengan gen dari organisme lain. Pendekatan ini dikenal sebagai *genomik terpadu*, yaitu cabang genetika yang menggabungkan metode klasik dengan teknologi berdaya tinggi dan bioinformatika untuk mempelajari struktur genom (genomik struktural), fungsi dan aktivitas gen (genomik fungsional, transkriptomik, proteomik, metabolomik), serta proses evolusinya (genomik evolusioner). Saat ini, genomik berkembang sangat cepat karena hadirnya teknik baru yang memungkinkan para peneliti mempelajari bagaimana genom membentuk fenotipe. Jutaan data sekuens kini tersimpan dalam basis data biologis, dan jumlahnya meningkat hampir secara eksponensial (Kornelia, 2017).

Informasi genetik disimpan dalam sel dalam bentuk makromolekul biologis, seperti asam nukleat dan protein. Informasi genetik tidak hanya mengendalikan fungsi seluruh organisme, tetapi juga menggerakkan mesin evolusi. Oleh karena itu, pemahaman tentang dasar molekuler kehidupan sangat fundamental untuk memahami bagaimana informasi genetik membentuk kehidupan dan menggerakkan

evolusinya. Secara umum, asam deoksiribonukleat (DNA) berfungsi sebagai materi genetik utama pada hampir seluruh organisme. Namun, terdapat pengecualian pada kelompok tertentu, seperti virus RNA, yang menggunakan asam ribonukleat (RNA) sebagai bahan genetiknya. Istilah *ribovirus* merujuk pada virus yang memiliki genom RNA, baik beruntai tunggal maupun beruntai ganda, termasuk retrovirus yang memanfaatkan RNA sebagai dasar informasi genetik pada sebagian tahap siklus hidupnya (Choudhuri, 2014).

5.1 Analisis Sekuens DNA

DNA tersusun atas komponen-komponen dasar yang disebut nukleotida (deoksiribonukleotida). Setiap nukleotida terdiri dari tiga bagian: gula pentosa (2'-deoksi-D-ribosa), salah satu dari empat basa nitrogen adenin (A), timin (T), guanin (G), atau sitosin (C) serta gugus fosfat. Gula pentosa memiliki lima atom karbon yang diberi penomoran 1' hingga 5'. Basa nitrogen berikatan dengan karbon 1' pada gula, sementara gugus fosfat menempel pada karbon 5' (Gambar 5.1). Ikatan antara gula dan basa membentuk nukleosida, dan ketika gugus fosfat ditambahkan, terbentuklah nukleotida. Dengan demikian, nukleosida terdiri dari gula dan basa, sedangkan nukleotida mencakup gula, basa, dan fosfat (Choudhuri, 2014).



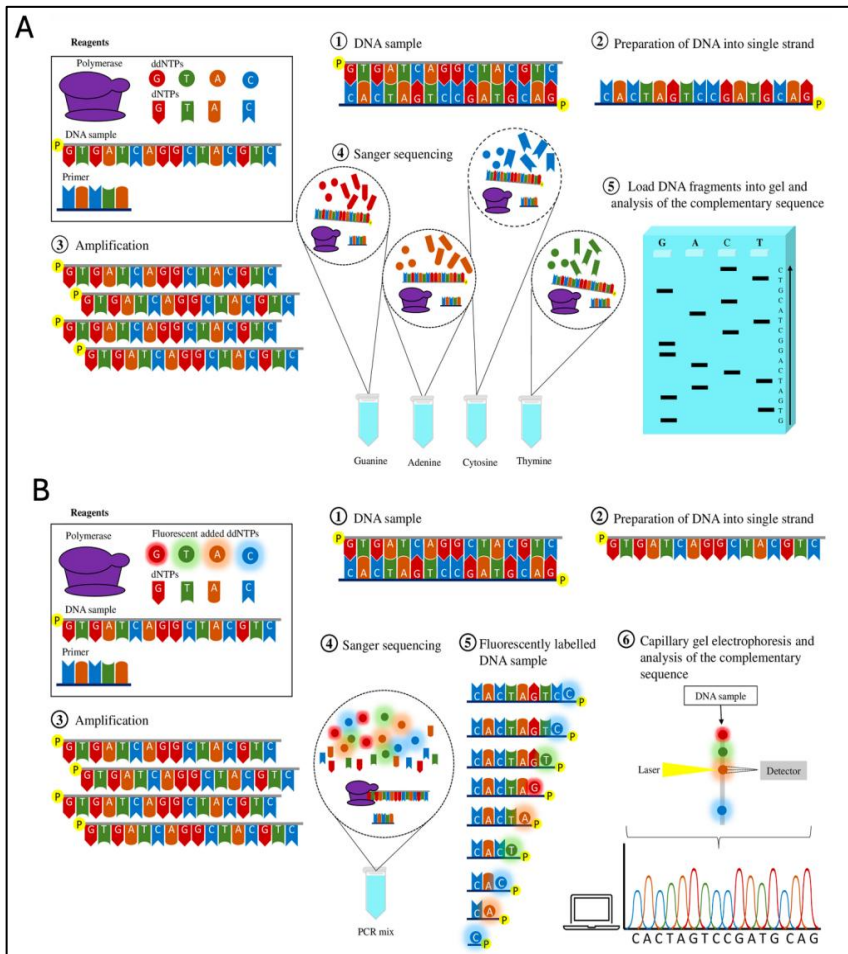
Gambar 5. 1 Dua Nukleotida pada Heliks Ganda DNA, Menunjukkan Orientasi Antiparalelnya, Dua Ikatan Hidrogen Antara A dan T, dan Tiga Ikatan Hidrogen Antara G dan C (Choudhuri, 2014).

Sekuensing DNA merupakan teknik untuk menentukan susunan nukleotida dalam molekul DNA. Informasi mengenai urutan DNA sangat penting dalam penelitian biologi dasar maupun berbagai aplikasi terapan, seperti diagnosis medis, bioteknologi, forensik, virologi, serta studi sistematika organisme. Sekuensing digunakan untuk mengidentifikasi susunan nukleotida pada fragmen DNA tertentu (gen) maupun seluruh genom. Proses ini dapat dilakukan langsung dari produk PCR (*direct sequencing*) atau melalui tahapan kloning terlebih dahulu sebelum dianalisis. Kemajuan teknologi sekuensing genom telah mengubah metode pemuliaan tanaman, dari yang sebelumnya mengandalkan karakter morfologi (fenotipe) menjadi berbasis informasi genom. Pendekatan ini jauh lebih efisien, akurat, menyeluruh, dan memiliki presisi tinggi dalam proses seleksi (Maksum *et al.*, 2017).

5.1.1 Metode Sanger Sequencing

Terdapat berbagai metode untuk melakukan sekuensing DNA, namun banyak peneliti masih mengandalkan teknik yang paling populer, yaitu Sanger Sequencing. Metode Sanger Sequencing termasuk ke dalam sekuensing DNA generasi pertama yang pertama kali diperkenalkan oleh Frederick Sanger dan rekan-rekannya pada tahun 1970-an. Metode ini didasarkan pada terminasi perpanjangan rantai, yang digunakan dalam pengurutan DNA dengan bantuan polimerase dan nukleotida khusus. Meskipun teknik sekuensing DNA yang lebih baru, seperti Next-Generation Sequencing (NGS), telah muncul dalam beberapa tahun terakhir, metode Sanger Sequencing tetap menjadi landasan dalam penelitian dan diagnostik karena akurasi dan keandalannya yang tinggi (Eren *et al.*, 2023; Hardwick, 2024).

Metode Sanger Sequencing memanfaatkan primer oligonukleotida untuk mengenali dan menempel pada bagian tertentu dari DNA. Prosesnya diawali dengan denaturasi DNA beruntai ganda menjadi dua untai tunggal. Primer kemudian menempel pada salah satu untai dan diperpanjang menggunakan campuran deoksinukleotida trifosfat (dNTPs). Empat jenis basa adenin (A), sitosin (C), timin (T), dan guanin (G) diperlukan untuk membentuk rantai DNA baru. Di dalam campuran juga terdapat sejumlah kecil dideoksinukleotida trifosfat (ddNTP) yang berfungsi menghentikan pemanjangan rantai. Ketika ddNTP (ddATP, ddGTP, ddCTP, atau ddTTP) bergabung ke dalam rantai, proses sintesis berhenti, dan setiap jenis ddNTP memiliki penanda fluoresen. Mesin sekuensing kemudian menggunakan laser untuk membaca sinyal fluoresen ini, sehingga urutan basa DNA dapat ditentukan (Gambar 5.2).

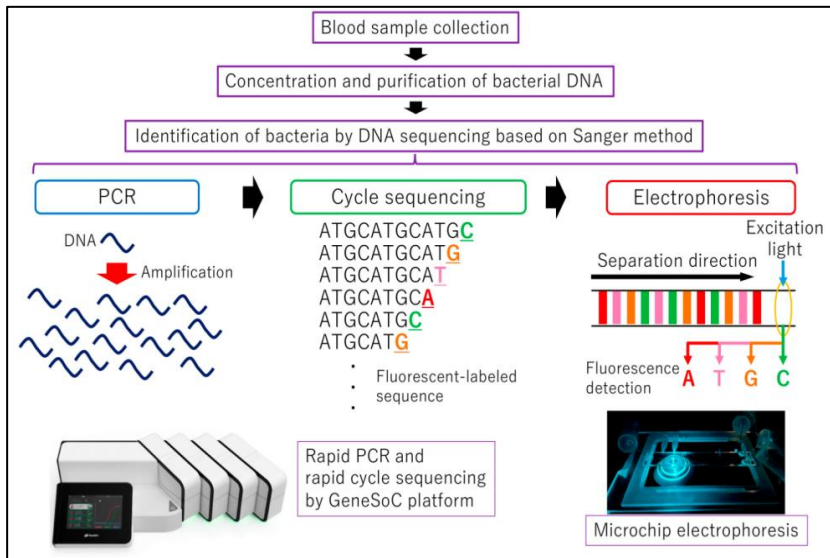


Gambar 5. 2 (A) Representasi Skematis Metode Sanger Lama, (B) Metode Sanger Baru dalam Bentuknya yang Sederhana (Eren *et al.*, 2023).

Sanger Sequencing bekerja dengan prinsip penghentian terkontrol terhadap pemanjangan rantai DNA selama proses replikasi. Tahapannya melibatkan DNA cetakan, primer pendek yang menempel pada cetakan, serta enzim DNA polimerase. Enzim ini berfungsi menyintesis untai DNA komplementer dengan

menambahkan nukleotida A, T, C, dan G ke dalam rantai yang sedang dibentuk. Pada metode Sanger, sebagian nukleotida diganti dengan dideoksinukleotida (ddNTPs), yaitu nukleotida yang tidak memiliki gugus hidroksil sehingga menghambat perpanjangan rantai. Salah satu kelebihan utama metode ini adalah akurasi yang sangat tinggi. Teknik ini mampu menghasilkan urutan DNA dengan tingkat kesalahan minimal dibandingkan metode sekuensing lainnya, sehingga sangat ideal untuk analisis yang memerlukan ketelitian tinggi, seperti identifikasi mutasi genetik atau konfirmasi varian dari sekuensing skala besar (Hardwick, 2024).

Sanger Sequencing dapat menghasilkan panjang bacaan yang relatif panjang, biasanya berkisar antara 500 hingga 1.000 pasangan basa. Hal ini menjadikannya pilihan ideal untuk sekuensing wilayah DNA yang lebih kecil, seperti gen individu atau wilayah tertentu yang menjadi fokus dalam genom. Meskipun sekuensing Sanger mungkin mahal untuk proyek sekuensing skala besar, metode ini tetap menjadi pilihan yang efisien secara biaya untuk sekuensing yang ditargetkan atau validasi hasil yang diperoleh dari metode “high-throughput” lainnya.



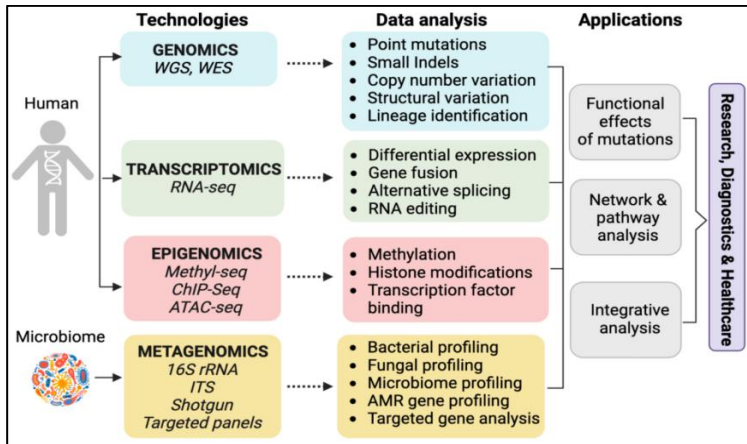
Gambar 5. 3 Proses Pengujian Klinis Dan Skema Eksperimental Lengkap untuk Pengurutan DNA Cepat Berdasarkan Metode Sanger (Furutani *et al.*, 2022).

Furutani *et al.*, (2022) dalam penelitiannya telah mengidentifikasi bakteri dengan teknologi sekuensing DNA menggunakan metode Sanger Sequencing. Penelitian ini berhasil melakukan amplifikasi PCR dalam waktu 13 menit dan urutan siklus dalam waktu 14 menit menggunakan sistem siklus termal cepat yang menerapkan teknologi mikofluida. Selain itu, analisis DNA selesai dalam 14 menit dengan mengembangkan algoritma untuk menganalisis dan melakukan elektroforesis mikrochip. Dengan demikian, ketiga langkah urutan DNA berbasis Sanger selesai dalam 41 menit. Pengembangan proses pemurnian cepat setelah PCR dan urutan siklus menggunakan mikrochip akan membantu mengidentifikasi agen bakteri penyebab dalam satu jam, dan memfasilitasi pengobatan dini sepsis (Gambar 5.3). Metode ini digunakan dalam penelitian ini

karena dianggap sebagai metode yang lebih andal untuk analisis urutan DNA.

5.1.2 *Next Generation Sequencing (NGS)*

Kemunculan teknologi *Next Generation Sequencing* (NGS) telah membawa perubahan paradigma dalam penelitian genomik, menawarkan kemampuan tak tertandingi untuk menganalisis molekul DNA dan RNA secara massal dan efisien dari segi biaya (Gambar 5.4). Teknologi transformatif ini telah dengan cepat mendorong kemajuan genomik di berbagai bidang. NGS memungkinkan pengurutan jutaan fragmen DNA secara bersamaan, memberikan wawasan komprehensif tentang struktur genom, variasi genetik, profil ekspresi gen, dan modifikasi epigenetik. Kemampuan serbaguna platform NGS telah memperluas cakupan penelitian genomik, memfasilitasi studi tentang penyakit genetik langka, genomik kanker, analisis mikrobioma, penyakit menular, dan genetika populasi. Selain itu, NGS telah memfasilitasi pengembangan terapi target, pendekatan kedokteran presisi, dan metode diagnostik yang lebih baik (Satam *et al.*, 2023).



Gambar 5. 4 Berbagai Pendekatan yang Digunakan Dalam Analisis Genom dan Penerapan NGS, Termasuk Platform Teknologi, Analisis Data, dan Penerapan (Satam *et al.*, 2023).

Next Generation Sequencing (NGS) telah merevolusi genomik, memperluas pemahaman kita tentang struktur, fungsi, dan dinamika genom (Gambar 5.4). Teknologi inovatif ini telah memfasilitasi penelitian yang luas dan memungkinkan ilmuwan untuk mengeksplorasi kompleksitas informasi genetik dengan cara yang belum pernah terjadi sebelumnya. Dengan kapasitas “high-throughput” dan efisiensi biaya, NGS telah menjadi alat fundamental bagi peneliti di berbagai disiplin ilmu, mulai dari biologi dasar hingga diagnostik klinis. NGS tidak hanya memfasilitasi pengurutan genom yang komprehensif tetapi juga memudahkan studi transkriptomik, epigenomik, metagenomik, dan studi omik lainnya. Kemunculan platform NGS canggih, seperti Illumina, Pacific Biosciences, dan Oxford Nanopore, telah mengubah bidang genomik dengan memungkinkan pengurutan paralel jutaan hingga miliaran fragmen DNA.

Ada lima langkah utama dalam pengoperasian sistem NGS (Cheng *et al.*, 2023): ekstraksi asam nukleat, konstruksi Library, amplifikasi template, reaksi

[Home](#)
[About Us](#)
[Contact Us](#)
[Privacy Policy](#)
[Terms of Service](#)
[FAQ](#)
[Blog](#)
[Help](#)
[Feedback](#)



0 0 0

➤ **Konstruksi Library**

Penyusunan Library DNA diawali dengan memecah DNA hasil isolasi menjadi fragmen-fragmen kecil yang bersifat acak dan saling tumpang tindih, kemudian setiap fragmen tersebut ditautkan dengan adaptor yang berfungsi sebagai titik awal proses sekuensing. Ukuran fragmen biasanya berkisar antara 150 hingga 800 bp, tergantung pada platform yang digunakan. Fragmentasi dapat dilakukan secara mekanik (misalnya dengan memaksa DNA melalui saluran sempit), menggunakan sonikasi, atau dengan enzim. Untuk Library RNA, proses dimulai dengan mengisolasi mRNA, kemudian memotongnya secara acak dan mensintesis DNA komplementer (cDNA), yang selanjutnya dihubungkan dengan adaptor guna keperluan amplifikasi klonal dan sekuensing.

➤ **Amplifikasi Template**

Setelah Library DNA selesai disiapkan, fragmen-fragmen DNA kemudian diperbanyak pada permukaan padat baik pada slide kaca maupun mikrobead melalui reaksi yang melibatkan enzim polimerase. Jenis metode amplifikasi yang digunakan bergantung pada platform sekuensing, yaitu emulsion PCR (emPCR), solid-phase bridge PCR, atau solid-phase template walking, yang semuanya bertujuan menghasilkan populasi template klonal. Pada emPCR, molekul DNA ditempelkan pada setiap butiran magnetik sehingga satu butiran hanya membawa satu molekul DNA. Setiap butiran kemudian diamplifikasi secara terpisah tanpa saling mengkontaminasi. Pada metode bridge PCR dan template walking berbasis fase padat, primer dengan konsentrasi tinggi diikat

secara kovalen pada permukaan padat sehingga setelah amplifikasi terbentuk kluster DNA. Amplifikasi pada fase padat ini mampu menghasilkan 100–200 juta kluster yang terpisah, serta memastikan setiap molekul DNA memiliki ujung bebas yang dapat berikatan dengan primer universal dan melanjutkan ke tahap sekuensing.

➤ **Reaksi Sekuensing**

Setelah proses amplifikasi, urutan DNA dibaca menggunakan berbagai platform sekuensing. Platform NGS komersial saat ini umumnya dikelompokkan menjadi dua jenis utama: sekuensing-by-synthesis (SBS; seperti Roche/454, Illumina/Solexa, dan Ion Torrent) serta sekuensing-by-ligation (SBL; contohnya SOLiD). Pada metode SBL, sekuensing dilakukan menggunakan probe berlabel fluorofoor yang berikatan dengan DNA target dan kemudian diligasikan pada oligonukleotida di sebelahnya untuk proses pembacaan. Sinyal fluoresensi yang dihasilkan menunjukkan basa yang sesuai dengan posisi tertentu pada probe. Sementara itu, metode SBS memanfaatkan enzim polimerase untuk menambahkan nukleotida ke dalam untai DNA baru, dan setiap nukleotida yang terintegrasi dapat diidentifikasi selama proses sintesis. Perlu dicatat bahwa setiap platform NGS memiliki karakteristik dan jenis kesalahannya masing-masing.

Roche/454 merupakan sistem SGS komersial pertama yang berhasil dikembangkan. Alat ini menawarkan kecepatan sekuensing yang tinggi dan panjang bacaan yang relatif besar, namun memiliki keterbatasan dalam mengidentifikasi homopolimer yang panjangnya lebih dari 6–8 bp. Selain itu, biaya

operasionalnya cukup mahal dibandingkan platform NGS lainnya. Platform Illumina/Solexa saat ini menjadi teknologi sekuensing yang paling dominan di pasaran. Teknologi ini mampu mengatasi kendala terkait pembacaan homopolimer, meskipun masih menunjukkan kecenderungan menghasilkan kesalahan substitusi terutama pada wilayah DNA yang kaya AT dan CG. Ion Torrent merupakan platform NGS berbasis teknologi semikonduktor. Sama seperti Roche/454, platform ini mendeteksi perubahan pH, tetapi sinyalnya tidak selalu linear terhadap jumlah nukleotida yang ditambahkan dalam satu siklus, sehingga menurunkan ketelitian dalam membaca homopolimer. SOLiD adalah platform NGS berbasis SBL (sequencing-by-ligation), yang menggunakan probe dua-basa terencode dalam setiap siklus yang melibatkan proses pengikatan, ligasi, pembacaan, dan pemotongan. Meskipun memiliki tingkat akurasi tertinggi di antara teknologi NGS lainnya, panjang bacaannya yang pendek membuat proses perakitan genom menjadi lebih menantang.

➤ Analisis Data

Sequencer NGS mampu menghasilkan data dalam jumlah sangat besar hanya dari satu kali eksperimen. Karena itu, berbagai algoritma canggih perlu terus dikembangkan untuk keperluan perakitan sekuens, identifikasi varian, dan visualisasi hasil. Secara umum, analisis data NGS mencakup tiga tahap utama: (1) mengubah sinyal kimiawi dari proses sekuensing menjadi informasi urutan basa, lengkap dengan nilai kualitas atau skor yang mencerminkan struktur primer DNA atau RNA; (2) melakukan penyelarasan serta perakitan fragmen DNA atau RNA untuk memperoleh urutan

lengkap sehingga varian genetik dapat terdeteksi; dan (3) menafsirkan varian genetik tersebut untuk mendapatkan pemahaman dan informasi baru terkait biologi dasar.

5.2 Analisis Sekuens RNA

Dalam biologi molekuler klasik, pembahasan mengenai RNA umumnya berfokus pada tiga jenis utama yang terlibat dalam sintesis protein, yaitu RNA ribosom (rRNA), RNA pesan (mRNA), dan RNA transfer (tRNA). Di antara ketiganya, rRNA dan tRNA termasuk RNA nonkoding, sedangkan mRNA berfungsi mengode protein. Sejak itu, ragam RNA nonkoding fungsional berkembang pesat. Selain itu, seperti telah dijelaskan sebelumnya, RNA juga dapat berperan sebagai materi genetik pada retrovirus. Molekul RNA umumnya berantai tunggal, meskipun beberapa bagian dapat membentuk struktur berantai ganda melalui pasangan basa komplementer. Sama seperti DNA, RNA tersusun atas nukleotida (ribonukleotida), namun memiliki dua perbedaan utama: gula yang digunakan adalah ribosa, dan basa urasil ("U") menggantikan timin ("T"), sehingga pasangan basa terjadi antara "A" dan "U" (Choudhuri, 2014).

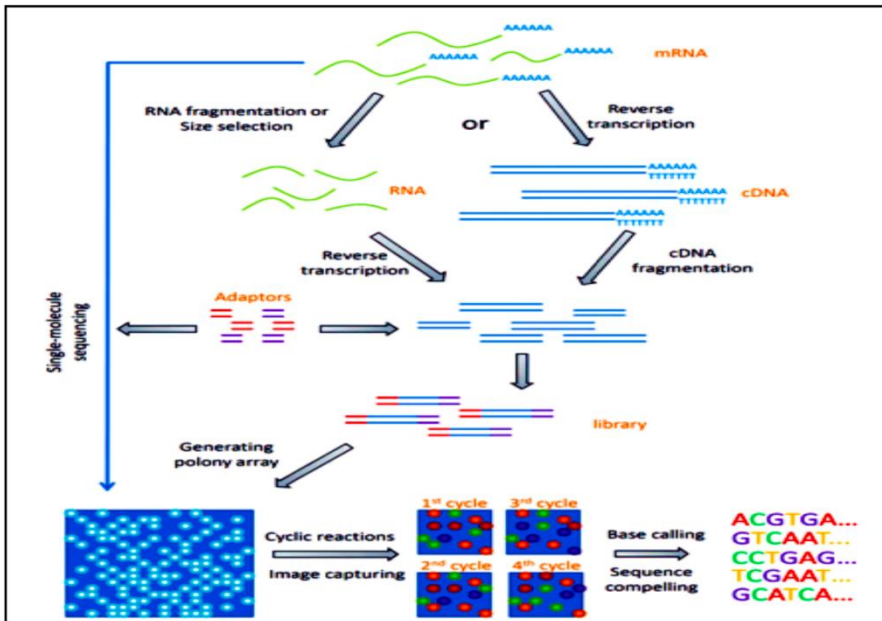
Bagi sebagian besar orang, RNA sering dianggap hanya sebagai perantara pasif yang membawa informasi genetik dari DNA menuju proses penerjemahan protein. mRNA biasanya dipandang sebagai molekul linear yang tidak memiliki struktur berarti, dan hanya penting karena memuat kode untuk urutan asam amino suatu protein. Namun, kenyataannya banyak RNA non-coding memiliki struktur tiga dimensi yang rumit, bahkan beberapa mampu bertindak sebagai katalis reaksi biokimia. Sejak ditemukannya RNA yang bersifat katalitik pada awal tahun 1980-an, semakin banyak jenis RNA struktural dan katalitik yang menarik telah diidentifikasi. Dalam beberapa tahun terakhir, teknologi

evolusi in vitro juga memungkinkan penciptaan RNA baru dengan menyaring perpustakaan urutan RNA acak untuk menemukan katalis baru maupun ligan yang sangat spesifik (Durbin *et al.*, 1998).

Untuk lebih memahami mengenai proses sekuensing RNA, berikut akan dibahas beberapa tahapan yang terdiri dari RNA-Seq sebagai alat untuk analisis ekspresi gen, isolasi mRNA, persiapan Library, amplifikasi, sekuen dengan metode sintesis, dan analisis data RNA-seq (Million and Feyissa, 2022).

5.2.1 RNA-Seq Sebagai Alat Untuk Analisis Ekspresi Gen

RNA-seq merupakan teknologi berbasis *next-generation sequencing* (NGS) yang mampu mendeteksi dan mengukur seluruh transkrip yang diekspresikan dalam suatu sampel dengan sensitivitas dan presisi yang sangat tinggi (Gambar 5.6). Metode ini memungkinkan identifikasi gen yang terekspresi, *splice junctions*, isoform, serta RNA berukuran pendek, menjadikannya alat penting untuk memahami kompleksitas transkriptom berbagai organisme seperti ragi, tikus, manusia, dan Arabidopsis. Dalam proses ini, seluruh mRNA diekstraksi dan diubah menjadi cDNA, kemudian dipecah menjadi fragmen-fragmen kecil dan dipasang adaptor sebelum disekuensing pada kedalaman tinggi. Data hasil pembacaan kemudian dipetakan terhadap genom atau transkriptom referensi untuk menentukan tingkat ekspresi setiap gen.



Gambar 5. 6 Prosedur Eksperimental RNA Seq untuk NGS

5.2.2 Isolasi mRNA

Tahap isolasi mRNA merupakan langkah penting yang menentukan kualitas hasil RNA-seq, karena mRNA hanya mencakup sekitar 1–5% dari total RNA sel. Jurnal ini menjelaskan dua pendekatan utama: seleksi poly-A dan *rRNA depletion*. Pada seleksi poly-A, mRNA diperkaya menggunakan manik-manik oligo-dT yang mengikat ekor poli-A pada mRNA eukariot, sekaligus menghilangkan rRNA, tRNA, dan RNA kecil lainnya. Alternatifnya, metode *rRNA depletion* menggunakan probe spesifik yang mengikat rRNA, seperti probe DNA biotinisasi atau LNA, kemudian menariknya dengan manik streptavidin sehingga hanya RNA non-rRNA yang tersisa. Tahap ini sangat penting untuk memastikan bahwa cDNA yang dihasilkan nantinya mencerminkan profil transkripsi sebenarnya.

5.2.3 Persiapan Library

Persiapan *library* dimulai dengan menghasilkan cDNA berkualitas baik dari populasi mRNA yang telah diperkaya. cDNA kemudian di-fragmentasi dan diberikan adaptor pada kedua ujungnya agar dapat dikenali oleh platform sekuensing. Jurnal ini menekankan pentingnya memulai dari mRNA yang utuh untuk memastikan cDNA berkualitas, menggunakan primer oligo-dT atau primer acak selama sintesis cDNA. Preparasi *library* dapat digunakan dalam mode *single-end* maupun *paired-end*, tergantung panjang potongan DNA yang ingin dibaca. Langkah ini memengaruhi representasi transkrip dalam hasil akhir, karena kerusakan atau bias pada tahap ini akan berdampak pada akurasi kuantifikasi ekspresi gen.

5.2.4 Amplifikasi

Amplifikasi dilakukan untuk memperbanyak jumlah cDNA sehingga cukup untuk dibaca oleh mesin sekuensing, terutama karena sebagian besar platform NGS memiliki batas sensitivitas tertentu. Biasanya PCR digunakan untuk menggandakan *library* cDNA, tetapi tahap ini juga berpotensi menimbulkan bias, misalnya ketidakseimbangan representasi transkrip tertentu. Jurnal ini menyebutkan bahwa beberapa platform seperti PacBio atau Helicos tidak memerlukan PCR, sehingga meminimalkan bias. Meski demikian, untuk sebagian besar platform, PCR tetap diperlukan dan hasilnya harus dianalisis dengan membandingkan beberapa sampel untuk memisahkan efek PCR dari tingkat ekspresi RNA yang sebenarnya.

5.2.5 Sekuen dengan Metode Sintesis

Tahap sekuensing dilakukan dengan menggunakan prinsip *sequencing by synthesis* (SBS), terutama pada platform Illumina. Pada metode ini, primer, polimerase, dan empat nukleotida termodifikasi yang diberi label fluoresen ditambahkan bersamaan ke dalam reaksi. Setiap nukleotida hanya dapat terpasang satu per satu karena memiliki gugus 3'-OH terblokir; setelah terpasang, cahaya fluoresen dipancarkan dan direkam oleh kamera CCD sehingga identitas basa dapat dibaca. Setelah sinyal terekam, blok terminator dihilangkan sehingga siklus penambahan basa dapat berlanjut hingga diperoleh panjang bacaan yang diinginkan. Prinsip inilah yang memungkinkan pembacaan jutaan kluster DNA secara paralel dalam satu siklus sekuensing.

5.2.6 Analisis Data RNA-seq

Analisis data RNA-seq dimulai dengan memetakan *short reads* ke genom atau transkriptom referensi menggunakan algoritma *alignment* atau *de novo assembly* jika referensi tidak tersedia. Tujuan utama tahap ini adalah menentukan struktur transkrip serta menghitung tingkat ekspresi gen, isoform, dan elemen transkrip lainnya seperti exon, junction, dan gen baru. Proses *read mapping* dilakukan dengan alat seperti TopHat, GSNAP, atau SOAPSplice untuk mendeteksi splicing. Setelah penyelarasan, ekspresi dihitung menggunakan metode normalisasi seperti FPKM, diikuti analisis ekspresi diferensial untuk membandingkan tingkat ekspresi antar kondisi. Selain itu, analisis lanjutan seperti deteksi *alternative splicing*, *gene fusion*, dan isoform baru juga dapat dilakukan.

DAFTAR PUSTAKA

- Cheng, C., Fei, Z., Xiao, P., 2023. Methods to improve the accuracy of next-generation sequencing. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 11, 982111. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.982111>
- Choudhuri, S., 2014. Fundamentals of Genes and Genomes, in: *Bioinformatics for Beginners*. Elsevier, pp. 1–25. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-410471-6.00001-3>
- Durbin, R., Eddy, S.R., Krogh, A., Mitchison, G., 1998. *Biological Sequence Analysis: Probabilistic Models of Proteins and Nucleic Acids*, 1st ed. Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CB09780511790492>
- Eren, K., Taktakoglu, N., Pirim, I., 2023. DNA Sequencing Methods: From Past to Present. *Eurasian J Med* 54, S47–S56. <https://doi.org/10.5152/eurasianjmed.2022.22280>
- Furutani, S., Furutani, N., Kawai, Y., Nakayama, A., Nagai, H., 2022. Rapid DNA Sequencing Technology Based on the Sanger Method for Bacterial Identification. *Sensors* 22, 2130. <https://doi.org/10.3390/s22062130>
- Hardwick, W., 2024. Sanger Sequencing: Foundation of Modern DNA Analysis. *Epigenetics Research: Open Access* 6, 1–2. <https://doi.org/10.35248/EROA.24.6.199>
- Kornelia, P., 2017. From DNA sequence to biological meaning. *Zenodo*. <https://doi.org/10.5281/zenodo.820140>
- Maksum, I.P., Sriwidodo, Gaffar, S., Hassan, K., Subroto, T., Soemitro, S., 2017. *Teknik Biologi Molekuler*. Alqaprint Jatinangor, Jatinangor.

- Million, M., Feyissa, T., 2022. RNA-Seq as an Effective Tool for Modern Transcriptomics, A Review-based Study. *joarps* 3, 236–241. <https://doi.org/10.38211/joarps.2022.3.2.29>
- Satam, H., Joshi, K., Mangrolia, U., Waghoo, S., Zaidi, G., Rawool, S., Thakare, R.P., Banday, S., Mishra, A.K., Das, G., Malonia, S.K., 2023. Next-Generation Sequencing Technology: Current Trends and Advancements. *Biology* 12, 997. <https://doi.org/10.3390/biology12070997>

BAB 6

PENGENALAN BLAST

6.1 Pengertian *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST)

Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) merupakan salah satu alat bioinformatika paling banyak digunakan untuk melakukan pencarian kesamaan sekuen biologis (Donkor *et al.* 2014). Program ini dikembangkan untuk memfasilitasi peneliti dalam membandingkan sekuen DNA, RNA, dan protein terhadap database yang tersedia. Dengan kemampuan pencarian yang cepat, BLAST membantu peneliti memahami hubungan evolusioner antara organisme. BLAST bekerja dengan prinsip *alignment* lokal yang memungkinkan pencarian bagian sekuen yang mirip meskipun tidak identik. Efisiensi dan ketepatannya menjadikan BLAST *platform* standar dalam analisis sekuen modern.

Sejarah BLAST dimulai pada awal 1990-an dan terus berkembang mengikuti peningkatan kebutuhan analisis genomik (Samal *et al.* 2021). Pengembangan awal bertujuan untuk mendukung riset molekuler melalui algoritma pencarian yang efisien. Seiring perkembangan teknologi sekuensing, jumlah data genomik bertambah besar dan mendorong optimalisasi BLAST. Versi BLAST yang ada sekarang merupakan hasil penyempurnaan algoritmik dan ekspansi basis data. Alat ini kini digunakan hampir di semua bidang biologi molekuler.

Tujuan utama BLAST adalah mendeteksi kesamaan sekuen untuk membantu pengembangan penelitian genomik, proteomik, dan biologi evolusi. BLAST memungkinkan identifikasi cepat gen baru berdasarkan kemiripannya dengan gen yang telah dilaporkan sebelumnya. Alat ini membantu dalam anotasi genom, penemuan gen homolog, dan validasi hasil sequencing (Ye *et al.* 2006). Pengguna dapat melakukan pencarian baik melalui antarmuka web maupun sistem lokal. Fleksibilitas ini memberikan penggunaan yang luas mulai dari akademisi hingga industri bioteknologi.

6.2 Konsep Dasar Pencarian Kesamaan Sekuen

Pencarian kesamaan sekuen merupakan proses yang membandingkan urutan biologis untuk menemukan hubungan antar sekuen. Dalam bioinformatika, dua sekuen dianggap serupa jika memiliki pola nukleotida atau asam amino yang sebanding. Konsep *similarity* mengacu pada tingkat kemiripan karakter antar posisi sekuen, sedangkan *identity* menunjukkan kecocokan karakter yang sama persis (Gambar 6.1). BLAST bekerja berdasarkan prinsip *similarity* dan *identity* untuk menilai hubungan biologis (Samal *et al.* 2021). Konsep ini mendasari keberhasilan identifikasi kesamaan gen antar organisme.

```

RLA0_METVA  --MIDAKSEHKIAPWKIEEVNALKELLKSANVTALIDMMEVPAVLOEIRDK
RLA0_METJA  ---METKVKAHVAPWKIEEVKTLKGLIKSKPVVAIVDMMDVPAPLOEIRDK
RLA0_PYRAB  -----MAHVAEWKKKEVEELANLIKSYPVIALVDVSSMPAYPLSQMRRL
RLA0_PYRHO  -----MAHVAEWKKKEVEELAKLIKSYPVIALVDVSSMPAYPLSQMRRL
RLA0_PYRFU  -----MAHVAEWKKKEVEELANLIKSYPVVALVDVSSMPAYPLSQMRRL
RLA0_PYRKO  -----MAHVAEWKKKEVEELANLIKSYPVIALVDVAGVPAYPLSKMRDK
RLA0_HALMA  MSAESERKTETIPEWKQEEVDAIVEMIESYESVGVVNIAGIPSRQLQDMRRD
RLA0_HALVO  MSESEVRQTEVIPQWKREEVDELVDVFIIESYESVGVVGVAGIPSRQLQSMRRE
RLA0_HALSA  MSAEEQRTTEEVPEWKQEVVAELVDLLETYSVGVVNVGTGIPSKQLQDMRRG
RLA0_THEAC  -----MKEVSQKKELVNEITTRIKASRSVAIVDTAGIRTRQIDIRGK
RLA0_THEVO  -----MRKINPKKEIVSELAADITKSKAVAIVDIKGVTRQMODIRAK
RLA0_PICTO  -----MTEPDQWKIDFVKNLENEINSRKVAIVISKLRNNEFQKIRNS
  
```

Gambar 6. 1 Contoh Hasil BLAST
(Sumber : Faiza 2015)

Homologi menggambarkan hubungan evolusioner antara dua sekuen yang berasal dari nenek moyang yang sama (Pangsuma & Hidayat 2023). Dua sekuen dapat menunjukkan *similarity* tanpa homologi, namun homologi hampir selalu didukung oleh *similarity* signifikan. Dalam penelitian evolusi, homologi menjadi indikator penting dalam analisis kekerabatan organisme (Healy 2007). BLAST membantu peneliti dalam mendeteksi homologi dengan menampilkan kesamaan berdasarkan *alignment* lokal. Interpretasi yang tepat diperlukan untuk membedakan *similarity* fungsional dari kesamaan acak.

Alignment lokal berbeda dengan *alignment* global yang membandingkan keseluruhan sekuen (Malendes & Bunyamin 2017). Pada *alignment* lokal, hanya bagian sekuen yang memiliki kesamaan tinggi yang disejajarkan. Pendekatan ini sangat cocok untuk menganalisis genom kompleks dengan banyak variasi. BLAST menggunakan algoritma *alignment* lokal agar pencarian tetap efisien meskipun data sangat besar. Hal ini memungkinkan deteksi fragmen penting seperti domain protein atau motif konservatif.

6.3 Komponen Utama dan Algoritma BLAST

Algoritma BLAST beroperasi melalui beberapa tahap pemrosesan yang sistematis dan terstruktur (Samal *et al.* 2021). Proses dimulai dengan pemecahan sekuen query menjadi potongan kecil atau *word*. *Word* ini digunakan sebagai dasar pencarian kecocokan awal pada *database*. Ketika ditemukan kecocokan, proses dilanjutkan pada tahap perpanjangan atau *extension*. Dari tahapan ini dihasilkan high scoring segment pair yang menunjukkan kesamaan lokal paling kuat.

Konsep *seed* atau *word hit* merupakan komponen utama dalam algoritma BLAST (Healy 2007). *Word hit* menentukan titik awal pencarian kesamaan antara *query* dan sekuen target. Skor kesamaan kemudian dihitung menggunakan matriks substitusi untuk protein atau skor kesesuaian nukleotida. Perhitungan penalti untuk gap dilakukan agar alignment tetap realistis secara biologis. Kombinasi scoring dan penalti menghasilkan nilai akhir yang ditampilkan pada hasil.

High scoring segment pair menunjukkan segmen *alignment* dengan skor tertinggi (Auch *et al.* 2010). BLAST melakukan penyaringan HSP untuk menampilkan hanya hasil paling relevan. Evaluasi kualitas hasil menggunakan skor *bit* dan nilai *e value*. Semakin rendah *e value* maka semakin signifikan kesamaan yang ditemukan. Melalui mekanisme ini BLAST menghasilkan hasil yang objektif dan terukur.

6.4 Jenis - Jenis BLAST

BLAST memiliki beberapa varian yang dapat digunakan sesuai jenis analisis dan data biologis (Gambar 6.2, Tabel 6.1) (Donkor *et al.* 2014; Samal *et al.* 2021). BLASTn digunakan untuk membandingkan sekuen nukleotida dengan basis data DNA. BLASTp digunakan untuk perbandingan sekuen protein antar organisme. BLASTx menerjemahkan sekuen nukleotida menjadi protein lalu mencocokkannya dengan database protein. tBLASTn dan tBLASTx digunakan untuk pencarian antar sekuen terjemahan nukleotida dan protein.

Job Title (10) - NP_000240:DNA mismatch repair protein Mh1...

RID HD0DKDP001S Search expires on 06-30-03-08 am Download All

Program PSI-BLAST iteration 2 Citation

Database refseq_protein See details

Query ID NP_000240.1

Description DNA mismatch repair protein Mh1 isoform 1 [Homo sapiens]

Molecule type amino acid

Query Length 756

Other reports Distance tree of results Multiple alignment MSA viewer

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

+ Add organism

Percent Identity E value PSI-BLAST incl. threshold

to to 0.005

Filter Reset

Run PSI-BLAST iteration 3

Number of sequences 500

Run

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments Download Manage Columns Show 500

74 sequences selected sequences newly added this iteration

Sequences with E-value BETTER than threshold

select all 19 sequences selected Skip to the first new sequence

PSI-BLAST iteration 2

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Per. Ident	Accession	Select for PSI blast	Used to build PSSM	Newly added
DNA mismatch repair protein Mh1 [Rattus norvegicus]	1298	1298	100%	0.0	86.94%	NP_112315.1			
DNA mismatch repair protein Mh1 [Mesocricetus auratus]	1298	1298	100%	0.0	86.13%	NP_001298542.1			
DNA mismatch repair protein Mh1 isoform 1 [Mus musculus]	1275	1275	100%	0.0	86.16%	NP_061086.2			
DNA mismatch repair protein Mh1 isoform 2 [Mus musculus]	902	902	68%	0.0	84.97%	NP_001311451.1			
mismatch repair endonuclease PMS2 [Mus musculus]	443	443	64%	1e-143	25.52%	NP_030912.2			
PMS1 protein homolog 1 [Rattus norvegicus]	401	401	49%	1e-126	26.49%	NP_001006535.1			
PMS1 protein homolog 1 [Mus musculus]	400	400	49%	2e-126	25.97%	NP_705786.1			
DNA mismatch repair protein Mh2 [Rattus norvegicus]	372	372	43%	4e-112	28.65%	NP_001101513.1			
DNA mismatch repair protein Mh2 [Mus musculus]	370	370	65%	1e-111	25.13%	NP_001291404.1			
collagen alpha-4(VI) chain encousoz [Rattus norvegicus]	117	153	11%	2e-26	24.42%	NP_001258111.1			
mismatch repair endonuclease PMS2 [Rattus norvegicus]	104	104	27%	5e-23	19.73%	NP_001093781.1			
collagen alpha-4(VI) chain encousoz [Mus musculus]	97.5	145	11%	4e-20	18.39%	NP_081039.2			
cerebral cavernous malformations 2 protein [Rattus norvegicus]	90.9	90.9	7%	9e-19	34.55%	NP_001119747.1			
cerebral cavernous malformations protein 2 homolog isoform 1 [Mus musculus]	90.6	90.6	7%	1e-18	34.55%	NP_666126.1			
cerebral cavernous malformations protein 2 homolog isoform 3 [Mus musculus]	82.5	82.5	6%	3e-16	33.33%	NP_001177273.1			
cerebral cavernous malformations protein 2 homolog isoform 2 [Mus musculus]	81.7	81.7	6%	6e-16	32.65%	NP_001177272.1			
ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 24 [Rattus norvegicus]	69.0	69.0	8%	2e-11	26.09%	NP_001298135.1			
ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 24 [Mus musculus]	65.9	65.9	8%	2e-10	24.64%	NP_890548.2			
cerebral cavernous malformations 2 protein-like [Mus musculus]	47.8	47.8	7%	4e-05	25.45%	NP_660311.2			

Run PSI-BLAST iteration 3 with max number of sequences 500 Run

Gambar 6. 2 Contoh Hasil BLAST
(Sumber : NCBI Insight 2019)

MegaBLAST merupakan varian BLAST yang dirancang untuk pencarian ultra cepat. Alat ini mengutamakan similaritas tinggi sehingga cocok untuk membandingkan antar strain atau spesies dekat. *Discontiguous* MegaBLAST lebih sensitif untuk sekuen divergen sehingga dapat digunakan pada studi evolusi. Pemilihan jenis BLAST harus disesuaikan dengan tujuan dan jenis input (Donkor *et al.* 2014; Samal *et al.* 2021). Kesalahan pemilihan varian dapat menghasilkan interpretasi keliru.

Tabel 6. 1 Perbandingan Varian BLAST

Varian BLAST	Jenis Input	Basis Perbandingan	Kelebihan	Kelemahan	Kegunaan Utama
BLASTn	DNA atau RNA	Nukleotida vs Nukleotida	Sensitif, cocok untuk analisis genom	Lebih lambat untuk dataset besar	Identifikasi gen homolog, DNA barcoding
BLASTp	Protein	Protein vs Protein	Cocok untuk anotasi fungsi protein	Membutuhkan database protein lengkap	Pemajuan studi proteomik
BLASTx	DNA tetapi diterjemahkan ke protein	Nukleotida vs Protein	Menemukan ORF dan homolog jauh	Eksekusi lebih berat	Prediksi protein dari sekuens genom mentah
tBLASTx	Translasi kedua sisi	Protein terjemahan vs protein terjemahan	Sensitivitas sangat tinggi	Waktu komputasi panjang	Studi evolusi dan divergensi tinggi
PSI BLAST	Protein	Iteratif berbasis PSSM	Deteksi homolog jauh yang tidak terdeteksi BLAST standar	Risiko false positive jika iterasi tidak dikontrol	Eksplorasi domain dan keluarga protein
MegaBLAST	DNA identitas tinggi	Alignment nukleotida cepat	Waktu komputasi tercepat	Tidak ideal untuk sekuens sangat berbeda	Perbandingan antar strain, identifikasi spesies

Sumber: NCBI Resource Coordinators 2015

Pada tingkat praktis, pemahaman ragam BLAST membantu menentukan prosedur analisis yang akurat (Christensen & Olsen 2018). Peneliti yang bekerja pada DNA barcoding biasanya menggunakan BLASTn karena sesuai dengan karakter data. Ahli proteomik lebih sering menerapkan BLASTp dan BLASTx untuk menemukan homolog protein. Dalam studi filogenetik awal kedua jenis ini

cukup membantu sebagai langkah screening. Variasi BLAST memberikan fleksibilitas aplikasi yang luas.

6.5 Basis Data untuk BLAST

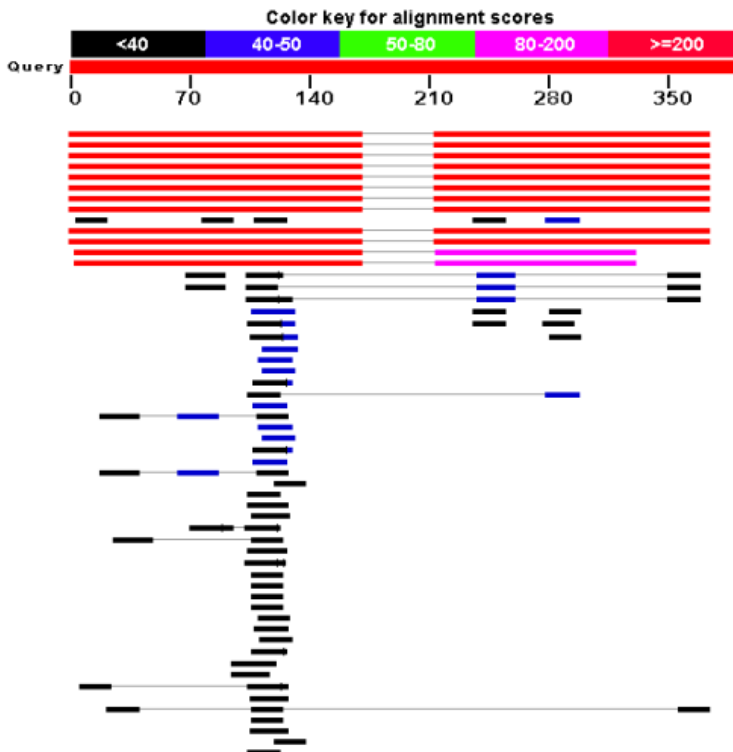
Basis data merupakan sumber utama referensi yang digunakan saat menjalankan BLAST (Samal *et al.* 2021). NCBI menyediakan *database* besar seperti *nt* untuk nukleotida dan *nr* untuk protein (NCBI Resource Coordinators 2015). Selain itu tersedia *database* khusus seperti RefSeq dan GenBank yang berisi sekuen teranotasi dengan baik (Pruitt *et al.* 2005). Pengguna dapat memilih *database* berdasarkan tingkat kurasi dan cakupan organisme. Pemilihan *database* yang tepat mempengaruhi kualitas identifikasi secara signifikan.

Tersedia pula basis data khusus gen, protein struktural, transkriptom, dan domain fungsional (NCBI Resource Coordinators 2015). *Database* ini digunakan untuk penelitian spesifik seperti analisis enzim atau faktor transkripsi. Beberapa basis data mendukung anotasi motif dan domain protein konservatif. Peneliti dapat meningkatkan presisi hasil dengan membandingkan lebih dari satu *database*. Semakin luas basis data maka semakin besar peluang menemukan homolog.

Pemilihan *database* harus mempertimbangkan tujuan analisis, ukuran data, dan kualitas anotasi (Samal *et al.* 2021). Untuk studi biodiversitas disarankan menggunakan *database* *nt* karena mencakup berbagai organisme. Pada penelitian struktural atau fungsi protein penggunaan *database* *nr* lebih relevan. Kombinasi *database* sering digunakan untuk menghindari hasil bias. Pengetahuan mengenai karakter *database* menjadi keterampilan penting dalam BLAST.

6.6 Interpretasi *Output*

Output BLAST menampilkan hasil *alignment* dan nilai statistik yang perlu ditafsirkan (Gambar 6.3). Nilai *bit score* menunjukkan kualitas *alignment* berdasarkan sistem penilaian algoritmik. Nilai *e value* menunjukkan probabilitas kemiripan terjadi secara acak (Kerfeld & Scott 2011). Persentase *identity* dan *query coverage* membantu mengevaluasi kekuatan biologi penemuan (Samal *et al.* 2021). Interpretasi angka angka ini memerlukan pemahaman mendasar agar tidak terjadi kesimpulan salah.



Gambar 6. 3Tampilan *alignment* hasil BLAST
(Sumber : CLC Workbenches 2012)

Hasil BLAST biasanya berupa tabel lengkap berisi urutan *hit* terbaik. Pengguna harus fokus pada *identity* tinggi, *coverage* luas, dan nilai *e value* rendah. Hasil dengan *e value* mendekati nol umumnya menunjukkan keselarasan biologis signifikan (Kerfeld & Scott 2011). BLAST juga menyediakan tampilan grafis yang membantu memahami distribusi *alignment*. Visualisasi ini memudahkan peneliti dalam memverifikasi kesamaan sekuen.

False hit dapat terjadi terutama pada sekuen pendek atau kontaminan laboratorium (Díaz-Arce & Rodríguez-Ezpeleta 2023). Oleh karena itu verifikasi silang diperlukan dengan *database* alternatif. Peneliti harus meninjau *domain* konservatif atau *open reading frame* untuk memastikan kebenaran. Interpretasi kombinasi parameter lebih baik dibanding melihat satu indikator saja. Pemahaman statistik BLAST menjadi faktor kunci keberhasilan analisis.

6.7 Aplikasi BLAST dalam Penelitian

BLAST digunakan untuk identifikasi spesies berdasarkan kesamaan sekuen nukleotida. Pada studi DNA *barcoding*, BLAST membantu menentukan spesies dari sampel biologis (Samal *et al.* 2021). BLAST juga digunakan untuk memvalidasi hasil sekuensing gen kontaminasi dapat terdeteksi melalui ketidaksesuaian *alignment*. Penelitian biodiversitas banyak memanfaatkan BLAST karena kecepatan analisisnya. Alat ini penting dalam pemetaan distribusi takson baru.

Pada studi genomik BLAST berperan dalam anotasi gen setelah perakitan sekuen (Cummings *et al.* 2002). Peneliti membandingkan *contig* hasil *assembly* dengan *database* referensi. Homolog dan ortolog dapat ditemukan menggunakan BLAST untuk analisis evolusioner. Identifikasi domain protein membantu memahami fungsi biologis suatu

gen. Banyak publikasi genom baru menjadikan BLAST tahap wajib dalam *pipeline* analisis.

Dalam proteomik BLAST berguna untuk menemukan homolog enzim dan karakter protein fungsional (Kitson *et al.* 2002). Peneliti dapat mencari domain konservatif seperti enzim kinase atau faktor transkripsi. BLAST mendukung pemetaan jalur metabolisme berdasarkan identifikasi protein. Aplikasi ini memberikan manfaat besar dalam bioteknologi dan kedokteran. Kemampuan BLAST mencakup berbagai disiplin riset molekuler.

6.8 Keterbatasan dan Tantangan

Meskipun sangat berguna BLAST memiliki keterbatasan dalam analisis genom besar (Stover & Cavalcanti 2017). Kecepatan dapat menurun ketika data *query* maupun *database* terlalu besar. Homologi jauh atau sekuen sangat divergen sering sulit terdeteksi. Pada kasus tertentu metode lain seperti HMMER memberikan sensitivitas lebih tinggi. Pemilihan strategi analisis perlu disesuaikan dengan karakter sampel biologis (Samal *et al.* 2021).

Interpretasi hasil yang keliru merupakan tantangan umum pada peneliti pemula (Stover & Cavalcanti 2017). Nilai *identity* tinggi tidak selalu menunjukkan hubungan filogenetik. *E value* sangat dipengaruhi panjang sekuen dan ukuran database. Kesalahpahaman ini dapat menyebabkan kesimpulan biologis yang salah. Oleh karena itu pemahaman metodologi dasar harus kuat.

Beberapa studi memerlukan BLAST yang dijalankan secara lokal untuk efisiensi (Stover & Cavalcanti 2017). Namun instalasi dan konfigurasi perangkat sering menjadi hambatan teknis. *Database* lokal memerlukan ruang penyimpanan besar dan pembaruan rutin. Pengguna harus memastikan kesesuaian versi agar tidak terjadi kompatibilitas

bermasalah. Faktor teknis ini perlu dikelola agar analisis berjalan optimal.

6.9 Praktik dan Panduan Teknis

Workflow umum analisis BLAST dimulai dari tahap penyiapan data sekuen yang akan digunakan sebagai *query* (Samal *et al.* 2021). Pada langkah ini, pengguna menyediakan sekuen DNA, RNA, atau protein dalam format FASTA dengan memastikan kualitasnya terlebih dahulu. Proses verifikasi diperlukan untuk menghilangkan karakter yang tidak valid dan mencegah kesalahan pembacaan yang dapat memengaruhi hasil *alignment*. Setelah data dipastikan bersih, sekuen dimasukkan ke sistem BLAST melalui antarmuka NCBI atau program BLAST+ pada komputer local (Gambar 6.4). Ketelitian pada tahap awal ini sangat menentukan akurasi output, karena sekuen berkualitas rendah dapat menghasilkan interpretasi yang bias (Stover & Cavalcanti 2017).

The image shows the NCBI BLAST web interface. The main heading is 'Align Sequences Protein BLAST'. Below this, there are two main sections: 'Enter Query Sequence' and 'Enter Subject Sequence'. The 'Enter Subject Sequence' section is highlighted with a blue box. It contains a text input field for 'Enter accession number(s), g(s), or FASTA sequence(s)', a 'Clear' button, and a 'Subject subrange' section with 'From' and 'To' input fields. Below the text input field, there is an 'Or, upload file' section with a 'Choose File' button and a 'No file chosen' status. The 'Program Selection' section at the bottom shows 'blastp (protein-protein BLAST)' selected as the algorithm. A 'BLAST' button is at the bottom left, and a link to 'Search protein sequence using Blastp (protein-protein BLAST)' is at the bottom right.

Gambar 6. 4 Tampilan Antamuka BLAST
(Sumber : James A. Zimble Learning Resource Center 2022)

Tahap berikutnya adalah pemilihan jenis BLAST yang paling sesuai dengan karakter data dan tujuan analisis (Stover & Cavalcanti 2017). Pengguna dapat memilih BLASTn untuk membandingkan sekuen nukleotida, BLASTp untuk protein, BLASTx untuk analisis translasi nukleotida terhadap *database* protein, atau PSI BLAST untuk pencarian homolog jauh berdasarkan profil iteratif. Pemilihan tipe BLAST yang tepat akan memengaruhi sensitivitas pencarian dan kesesuaian hasil dengan target biologis yang ingin dikaji. Perbedaan ini juga berdampak pada waktu proses komputasi, karena setiap varian memiliki strategi pencocokan dan fokus analisis berbeda. Dengan demikian, keputusan pada tahap ini berperan penting dalam kualitas interpretasi akhir.

Setelah jenis algoritma dipilih, sistem menjalankan proses pencarian dengan memulai *indexing* serta pencocokan unit kata pendek sebagai langkah awal. Fragmen yang memiliki kecocokan kemudian diperluas menjadi *alignment* lokal sehingga muncul segmen yang menunjukkan kesamaan nyata antara *query* dan *database* referensi. Penilaian kesesuaian dilakukan menggunakan *scoring matrix* yang mempertimbangkan substitusi asam amino atau nukleotida. Mekanisme kerja heuristik pada BLAST membuat proses ini berlangsung cepat meskipun basis data berukuran besar. Tahapan ini menjadi inti dari performa BLAST dalam menghasilkan daftar kemiripan sekuen secara efisien (Stover & Cavalcanti 2017).

Tahap terakhir adalah interpretasi hasil, di mana sistem menampilkan *output* berupa daftar *hit*, tingkat identitas, *query coverage*, skor *alignment*, dan nilai *E-value* sebagai indikator signifikansi statistik (Stover & Cavalcanti 2017). Hasil ini dapat digunakan untuk memprediksi identitas sekuen, menentukan kemungkinan homolog, serta memperkirakan fungsi gen yang belum diketahui. Pengguna kemudian menilai apakah kecocokan yang diperoleh representatif, kuat, atau hanya menunjukkan kesamaan parsial. Jika relevansi hasil

dinilai tinggi, analisis dapat dilanjutkan dengan anotasi gen, validasi eksperimental, atau integrasi ke studi komparasi yang lebih luas. Keseluruhan alur ini membentuk kerangka kerja BLAST sebagai metode analisis yang struktural, sistematis, dan informatif.

DAFTAR PUSTAKA

- Auch, A. F., Klenk, H. P., & Göker, M. (2010). Standard operating procedure for calculating genome-to-genome distances based on high-scoring segment pairs. *Standards in genomic sciences*, 2(1), 142-148.
- Christensen, H., & Olsen, J. E. (2018). Pairwise Alignment, Multiple Alignment, and BLAST. In *Introduction to Bioinformatics in Microbiology* (pp. 51-79). Cham: Springer International Publishing.
- CLC Workbenches. (2012). Explanation of the BLAST output. https://resources.qiagenbioinformatics.com/manuals/clcgenomicsworkbench/650/Explanation_BLAST_output.html
- Cummings, L., Riley, L., Black, L., Souvorov, A., Resenchuk, S., Dondoshansky, I., & Tatusova, T. (2002). Genomic BLAST: custom-defined virtual databases for complete and unfinished genomes. *FEMS Microbiology Letters*, 216(2), 133-138.
- Díaz-Arce, N., & Rodríguez-Ezpeleta, N. (2023). Best BLAST hit alone cannot be used as evidence of fraud. *Scientific Reports*, 13(1), 905.
- Donkor, E. S., Dayie, N. T., & Adiku, T. K. (2014). Bioinformatics with basic local alignment search tool (BLAST) and fast alignment (FASTA). *Journal of Bioinformatics and sequence analysis*, 6(1), 1-6.
- Faiza, M. (2015). Basic Concept of Multiple Sequence Alignment. <https://bioinformaticsreview.com/20151018/multiple-sequence-alignment/>

- Healy, M. D. (2007). Using BLAST for performing sequence alignment. *Current Protocols in Human Genetics*, 52(1), 6-8.
- James A. Zimble Learning Resource Center. (2022). BLAST Results.
<https://usuhs.libguides.com/c.php?g=468091&p=3260303>
- Kerfeld, C. A., & Scott, K. M. (2011). Using BLAST to teach “E-value-tionary” concepts. *PLoS biology*, 9(2), e1001014.
- Kitson, D. H., Badretdinov, A., Zhu, Z. Y., Velikanov, M., Edwards, D. J., Olszewski, K., ... & Yan, L. (2002). Functional annotation of proteomic sequences based on consensus of sequence and structural analysis. *Briefings in Bioinformatics*, 3(1), 32-44.
- Malendes, M. A., & Bunyamin, H. (2017). Analisa perbandingan dan implementasi algoritma DNA pairwise sequence alignment Needleman-Wunsch dan Lempel-Ziv. *Jurnal Teknik Informatika dan Sistem Informasi*, 3(1), 57-68.
- NCBI Insight. (2019). New BLAST results for specialized searches now available for testing.
<https://ncbiinsights.ncbi.nlm.nih.gov/2019/06/28/new-blast-results-for-specialized-searches-now-available-for-testing/>
- NCBI Resource Coordinators. (2015). Database resources of the national center for biotechnology information. *Nucleic acids research*, 43(D1), D6-D17.
- Pangsuma, N., & Hidayat, T. (2023). The Urgency Of Understanding Taxonomy In Learning Biology: (Urgensi Pemahaman Taksonomi Dalam Pembelajaran Biologi). *BIODIK*, 9(4), 95-110.
- Pruitt, K. D., Tatusova, T., & Maglott, D. R. (2005). NCBI Reference Sequence (RefSeq): a curated non-

redundant sequence database of genomes, transcripts and proteins. *Nucleic acids research*, 33(suppl_1), D501-D504.

- Samal, K. C., Sahoo, J. P., Behera, L., & Dash, T. (2021). Understanding the BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) program and a step-by-step guide for its use in life science research. *Bhartiya Krishi Anusandhan Patrika*, 36(1), 55-61.
- Stover, N. A., & Cavalcanti, A. R. (2017). Using NCBI BLAST. *Current Protocols Essential Laboratory Techniques*, 14(1), 11-1.
- Ye, J., McGinnis, S., & Madden, T. L. (2006). BLAST: improvements for better sequence analysis. *Nucleic acids research*, 34(suppl_2), W6-W9.

BAB 7

DNA PROBE

7.1 Konsep, Desain, dan Aplikasi Pelacak DNA (DNA Probe)

7.1.1 Konsep DNA Probe

Molekul biomarker adalah molekul yang erat kaitannya dengan keadaan fisiologis tertentu. Banyak molekul biomarker telah diidentifikasi sebagai target untuk diagnosis penyakit dan penyelidikan biologis. Saat ini, pengembangan probe yang sangat efisien untuk deteksi yang tepat terhadap biomarker telah menjadi bidang penyelidikan yang menarik dan sangat penting dalam studi biologis dan biokimia. Selama beberapa dekade terakhir, tidak hanya molekul probe kimia kecil tetapi juga biomakromolekul seperti enzim, antibodi, dan asam nukleat telah diperkenalkan untuk konstruksi platform biosensor guna mencapai deteksi biomarker secara spesifik dan efisien.

Biomarker dari suatu penyakit tertentu dapat meliputi suhu tubuh pasien, jumlah atau bentuk dari jenis sel dalam jaringan tertentu, mutasi tertentu pada genom, konsentrasi serangkaian molekul dalam darah atau urine, keberadaan bakteri atau virus tertentu, dan sebagainya. Biomarker molekuler termasuk karakter molekuler kimia dan biologis telah menarik perhatian yang intens sejak awal abad baru ini. Berkat perkembangan biologi molekuler dan biologi kimia, lebih mudah untuk

mengidentifikasi molekul-molekul khusus sebagai biomarker dari objek biologis tertentu saat ini.

a) DNA sebagai Blok Bangunan Biomolekul yang Serbaguna

DNA merupakan biomolekul genetik sentral dalam sistem hidup. Namun, dari perspektif alternatif, DNA juga dikenal sebagai blok bangunan molekuler (*molecular building block*) terdiri dari empat monomer deoksinukleotida yaitu sitosin (C), guanin (G), adenin (A), dan timin (T), yang memiliki banyak kegunaan untuk konstruksi material fungsional, khususnya biomaterial, karena atribut biologisnya yang intrinsik, kemampuan pengenalan molekul, programabilitas urutan, dan biokompatibilitasnya. Dalam beberapa dekade terakhir, DNA telah teridentifikasi sebagai jenis nanomaterial oleh para ilmuwan (Wang *et al*, 2022). Adapun beberapa sifat DNA yang mendukung fungsinya sebagai biomaterial antara lain sebagai berikut:

- 1) *Biokompatibilitas*: Biomakromolekul seperti DNA lebih mudah diterima oleh biosistem;
- 2) *Stabilitas*: Molekul DNA dapat mempertahankan strukturnya dalam kondisi asam atau basa relatif, dan dapat pulih dari proses denaturasi pada suhu 95°C setelah didinginkan;
- 3) *Spesifisitas*: Tidak hanya karena prinsip pasangan basa Watson-Crick tetapi juga karena pengenalan khusus antara aptamer DNA dan targetnya, yang dikembangkan baru-baru ini;
- 4) *Programmabilitas*: Sekuen dari rangkaian DNA sangat bebas dalam desainnya, dan konstruksi

struktur berbeda dapat dicapai melalui kontrol buatan.

Memanfaatkan keunggulan-keunggulan ini, banyak biosensor telah dibuat menggunakan DNA sebagai substratnya. Biosensor berbasis DNA telah digunakan secara luas untuk aplikasi kimia, biologis, dan medis.

b) Topologi Blok Bangunan (*Building Blocks*) DNA dan Konstruksi DNA Bercabang

Topologi dari blok bangunan DNA meliputi tipe linear, sirkular (melingkar), dan bercabang. DNA bercabang baru-baru ini banyak digunakan sebagai blok bangunan (*building blocks*) yang serbaguna untuk mensintesis biomaterial baru, dan berbagai aplikasi menjanjikan telah dieksplorasi khususnya sebagai probe DNA. Seeman *et al.* pada tahun 1982 pertama kali mengusulkan konstruksi sambungan bercabang DNA melalui pemasangan pasangan basa Watson-Crick, membuka era baru dalam nanoteknologi DNA. Selama beberapa dekade berikutnya, teknik ini berkembang pesat dan kini digunakan untuk membangun arsitektur mikro dan nano yang lebih kompleks, dengan aplikasi yang meluas dari diagnostik hingga rekayasa protein (Dong *et al.*, 2020).

Dalam beberapa dekade terakhir, nanoteknologi DNA telah menjadi bidang yang berkembang pesat dalam ilmu material dan teknik. DNA bercabang merupakan salah satu topologi utama rantai polimer DNA buatan yang digunakan sebagai blok bangunan molekuler untuk membangun material fungsional. DNA bercabang memiliki lebih banyak topologi yang kompleks dan modul fungsional sehingga dapat mengatasi

keterbatasan struktur dan aplikasi DNA linear serta DNA sirkular.

Menurut Dong *et al* (2020), DNA bercabang dapat dibagi menjadi tiga kategori utama berdasarkan metode konstruksinya, yaitu pasangan basa, ikatan kimia dan perluasan (ekstensi) enzimatis. Metode-metode ini memungkinkan pembuatan struktur geometris yang kaku dan berkontrol tinggi yang dapat berfungsi sebagai unit dasar untuk berbagai nanomaterial.

1) Pasangan Basa

Pasangan basa memanfaatkan pengenalan spesifik antara basa adenin (A) dengan timin (T) dan sitosin (C) dengan guanin (G), melalui ikatan hidrogen dan gaya penumpukan basa. Metode berbasis pasangan basa ini sederhana dan mudah dimanipulasi, terutama melalui perakitan sendiri atau *self-assembly* (Dong *et al.*, 2020).

Self-assembly merupakan proses umum pembentukan struktur teratur yang berlangsung secara spontan oleh unit-unit dasar dalam kondisi tertentu. Proses *self-assembly* biomakromolekuler bergantung pada gaya ikatan nonkovalen seperti gaya Coulomb, gaya van der Waals, gaya hidrofobik, gaya tumpukan, ikatan hidrogen, dan tumpukan basa. Teknologi *self-assembly* DNA melibatkan proses perbaikan diri secara berkelanjutan yang mengubah struktur dari yang sederhana menjadi kompleks, dari tidak teratur menjadi teratur, dan dari konvergensi multikomponen menjadi satu komponen tunggal (Liu *et al.*, 2021).

1) *Static Self-Assembly* (Perakitan Sendiri Statis)

DNA bercabang dapat dengan mudah diakses melalui perakitan sendiri statis dari untai oligonukleotida konstituen yang sebagian saling melengkapi. Setiap lengan biasanya mengandung daerah untai ganda dan ujung lengket yang diperpanjang. Daerah untai ganda digunakan untuk mengencangkan DNA untai tunggal atau *single-stranded* DNA (ssDNA) komplementer agar tetap mempertahankan kekakuan dan stabilitas struktur. Ujung lengket fleksibel memungkinkan DNA bercabang memperpanjang ke jaringan DNA atau menghubungkan beberapa elemen fungsional.

2) *Dynamic Self-Assembly* (Perakitan Sendiri Dinamis)

Metode ini melibatkan perakitan DNA bercabang dengan memanfaatkan perubahan konformasi dinamis yang dimediasi oleh interaksi non-kovalen, seperti ikatan hidrogen. Hal ini memungkinkan pembentukan struktur DNA yang lebih kompleks dan fungsional.

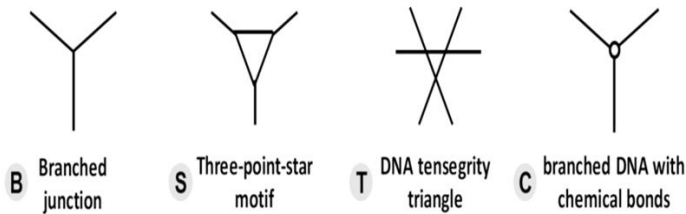
2) Ikatan Kimia

Metode berbasis ikatan kimia melibatkan penggunaan titik cabang nukleosida atau unit non-nukleosida. Dalam metode ini, ikatan kovalen diperkenalkan untuk menggantikan ikatan hidrogen guna membentuk DNA bercabang dengan stabilitas yang lebih tinggi.

Ikatan kimia memungkinkan pembentukan blok bangunan DNA bercabang yang lebih beragam dan kompleks, termasuk simpangan bercabang (*branched junction*), motif bintang titik tiga (*three-point-star motif*), segitiga tegang (DNA *tensegrity triangle*), dan DNA bercabang dengan ikatan kimia (Dong *et al.*, 2020).

- 1) Simpangan Bercabang (*Branched Junction*)
DNA bercabang jenis ini melibatkan percabangan pada titik spesifik dari beberapa helai DNA. Struktur ini mirip dengan persimpangan dengan tiga atau lebih helai DNA membentuk titik bercabang.
- 2) Motif Bintang Titik Tiga (*Three-Point-Star Motif*)
Motif ini terdiri dari tiga helai DNA yang bergabung pada satu titik pusat, membentuk struktur seperti bintang. Setiap helai dapat berinteraksi secara spesifik melalui pasangan basa komplementer, memungkinkan pembentukan struktur yang stabil dan spesifik.
- 3) Segitiga Tegang DNA (DNA *Tensegrity Triangle*)
Motif ini adalah struktur yang lebih kompleks tersusun dari helai DNA sedemikian rupa sehingga membentuk segitiga dengan ketegangan tertentu. Struktur ini biasanya digunakan dalam konstruksi nanoteknologi DNA karena stabilitas dan kemampuan *self-assembly* yang tinggi.
- 4) DNA Bercabang dengan Ikatan Kimia

Selain interaksi pasangan basa, DNA bercabang juga dapat dibentuk melalui ikatan kimia. Hal ini memungkinkan penyusunan DNA bercabang dengan cara-cara yang lebih stabil dan terkontrol.



Gambar 7. 1 Tipe DNA Bercabang Berdasarkan Blok Bangunannya (Dong *et al.*, 2020).

3) Perluasan (Ekstensi) Enzimatis

Perpanjangan enzimatis, khususnya reaksi rantai polimerase (PCR), digunakan untuk memperbanyak fragmen DNA dan menghasilkan produk DNA bercabang dengan fragmen besar. Metode ini memungkinkan konstruksi nanostruktur DNA yang lebih tahan panas dan berfungsi dalam berbagai aplikasi berbasis DNA.

Dalam keseluruhan proses konstruksi, desain sekuens oligonukleotida yang rasional sangat penting untuk memastikan keberhasilan perakitan. Prinsip desain termasuk kebutuhan energi pengikatan basa yang tinggi untuk mengatasi penghalang energi, menghindari pembentukan struktur sekunder yang stabil dari ssDNA, dan memastikan asimetri sekuens untuk mencegah migrasi titik cabang. Selain itu, kation dengan spesies dan konsentrasi yang tepat diperlukan untuk mengatasi tolakan

elektrostatik ssDNA, memastikan stabilitas DNA bercabang yang dihasilkan.

Melalui penggunaan berbagai spesies kimia seperti logam transisi, spesies disulfida dan molekul organik dan metode enzimatik, teknik pemasangan kimia memungkinkan konstruksi blok DNA bercabang yang kompleks dan fungsional untuk berbagai aplikasi biomedis dan bioteknologi.

Dalam merancang material fungsional berbasis DNA bercabang, Dong *et al.* (2020) mengemukakan beberapa strategi konstruksi yang dapat diaplikasikan, meliputi *tile-mediated assembly*, *DNA origami*, *dynamic assembly*, dan *hybrid assembly*, dijelaskan sebagai berikut:

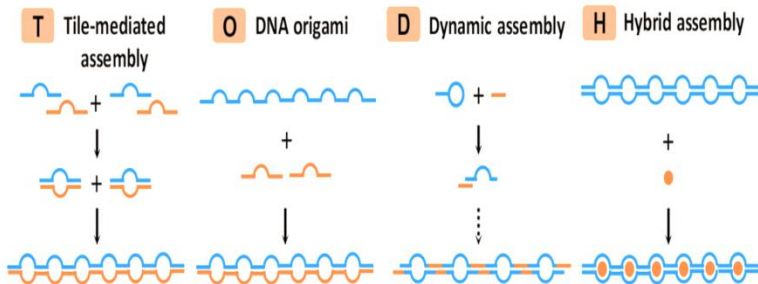
- 1) Teknik *Tile-Mediated Assembly*, menggunakan unit DNA berbentuk ubin untuk membangun struktur yang lebih besar dan kompleks. Teknik ini memanfaatkan interaksi pasangan basa yang spesifik untuk merakit struktur nano yang diinginkan.
- 2) Teknik *DNA Origami*, menggunakan teknik melipat DNA untuk menciptakan struktur nano yang kompleks dan spesifik. Teknik origami DNA memungkinkan pembentukan bentuk 2D dan 3D dengan presisi tinggi, seperti kotak atau kapsul nano.

DNA origami termasuk salah satu strategi *self-assembly* DNA yang menggabungkan untai panjang DNA dengan fragmen pendek secara komplementer untuk menciptakan

nanostruktur kompleks secara terkontrol. Konsep ini memungkinkan pembentukan pola simetris seperti persegi dan bintang dengan melipat untai DNA panjang berulang kali dan memperbaikinya dengan rantai pendek (*staple*). DNA origami memiliki keunggulan dalam akurasi perakitan, pembentukan struktur nanometer yang kompleks, kemudahan operasi, efisiensi tinggi, dan toleransi kesalahan yang baik dalam kondisi eksperimental standar (Liu *et al.*, 2021).

- 3) Teknik *Dynamic Assembly*, memanfaatkan sifat dinamis DNA untuk membentuk struktur yang dapat berubah sesuai dengan kondisi tertentu, seperti perubahan pH, suhu, atau adanya molekul target spesifik.
- 4) Teknik *Hybrid Assembly*, melibatkan kombinasi DNA dengan nanopartikel anorganik, molekul organik kecil, kompleks logam transisi-molekul organik, dan biomakromolekul misalnya peptida atau protein untuk membentuk struktur dengan fungsi unik yang sesuai untuk berbagai aplikasi, dapat dijelaskan sebagai berikut:
 - 1) *DNA-Inorganic Nanoparticles Hybrids*, merupakan kombinasi DNA dengan nanopartikel anorganik untuk aplikasi seperti deteksi optik atau katalisis.
 - 2) *DNA-Small Organic Molecules Hybrids*, yaitu integrasi DNA dengan molekul organik kecil untuk aplikasi diagnostik atau terapi.

- 3) *DNA-Organic Molecule/Transition Metal Hybrids*, yaitu penggabungan DNA dengan molekul organik dan logam transisi untuk membentuk struktur dengan fungsi unik.
- 4) *DNA-Peptide/Protein Hybrids*, merupakan kombinasi DNA dengan peptida atau protein untuk aplikasi dalam rekayasa protein atau pengiriman obat.



Gambar 7. 2 Tipe Konstruksi DNA Bercabang (Dong *et al.*, 2020).

c) Perkembangan DNA Probe

Biosensor berbasis DNA (DNA probe) telah berkembang pesat dalam dua dekade terakhir, menawarkan solusi untuk mendeteksi berbagai biomarker molekuler seperti asam nukleat, protein, lipid, ion kecil, dan lainnya. Dengan memanfaatkan program urutan yang rumit, modifikasi basa yang akurat, rekayasa enzim inovatif, dan nanoteknologi modern, biosensor ini telah diterapkan secara luas dalam berbagai bidang termasuk pemantauan lingkungan, keamanan pangan, diagnosis klinis, dan prognosis penyakit.

Wang *et al.* (2022) memberikan gambaran bahwa pengembangan biosensor ini akan selalu berorientasi pada dua arah utama yaitu membuat desain yang lebih umum atau desain yang lebih professional.

1) Desain Umum

Biosensor yang lebih umum dirancang agar mudah digunakan oleh masyarakat umum, bahkan di rumah. Faktor-faktor seperti proses yang sederhana, cepat, terjangkau, dan tidak tergantung pada peralatan khusus menjadi kunci keberhasilan. Misalnya, untuk deteksi SARS-CoV-19, assay aliran lateral lebih praktis dan dapat diakses secara global dibandingkan dengan RT-qPCR yang memerlukan waktu lebih lama dan peralatan khusus. Dengan penyederhanaan langkah-langkah kompleks, biosensor umum dapat memberikan hasil akhir secara cepat dan mudah dipahami oleh pengguna awam.

2) Desain Profesional

Biosensor profesional seringkali diperlukan oleh ahli biologi untuk pemantauan dan pemahaman proses biologi secara mendalam. Tantangannya termasuk meningkatkan permeabilitas biosensor, kinerja anti-interferensi, dan sensitivitas dalam sel hidup. Nanoteknologi DNA dan instrumen canggih menawarkan solusi untuk mengatasi tantangan ini, menjadikan biosensor lebih sensitif dan efisien dalam sistem biologi hidup.

Biosensor masa depan yang menggabungkan nanoteknologi DNA dan

peralatan canggih akan menjadi arah yang menjanjikan dalam pengembangan biosensor.

7.1.2 Desain DNA Probe

1. Metode Terkait Amplifikasi DNA

DNA probe sebagai sebuah biosensor yang memiliki kinerja tinggi, biasanya berkaitan dengan adanya peningkatan karakteristik berupa sensitivitas kerja yang lebih baik. Untuk meningkatkan sensitivitas kerja pada DNA probe, kita dapat melakukan inovasi dengan menemukan jalur-jalur yang mampu memperkuat sinyal sehingga akan memberikan kinerja tinggi pada sistem DNA probe tersebut. Dalam biosensor berbasis DNA atau DNA probe ini, substrat DNA merupakan elemen kunci yang biasanya diterapkan untuk amplifikasi. Dimulai dari teknik reaksi berantai polimerase atau *Polymerase Chain Reaction* (PCR), yang memenangkan Hadiah Nobel pada tahun 1993, menjadi awal perkembangan berbagai strategi alternatif untuk amplifikasi DNA (Wang *et al*, 2022).

1) Strategi Berbasis Enzim

a) PCR dan RT-qPCR

PCR adalah teknik amplifikasi DNA yang sangat kuat dan banyak digunakan. Teknik ini dapat menghasilkan produk sebanyak 10^6 kali lipat dari target dalam waktu 2 jam, memungkinkan deteksi target dengan konsentrasi serendah nanomolar. RT-qPCR, pengembangan dari PCR konvensional, memungkinkan pemantauan proses amplifikasi secara real-time, sehingga analisis menjadi lebih cepat dan presisi. Meskipun sangat efektif,

keterbatasan utama PCR adalah suhu tinggi yang diperlukan (hingga 95°C), yang dapat merusak biomarker molekuler.

b) Teknik Amplifikasi Isotermal

Untuk mengatasi keterbatasan suhu tinggi pada PCR, teknik amplifikasi isotermal dikembangkan. Teknik ini memungkinkan proses amplifikasi pada suhu yang lebih rendah dan stabil, sehingga lebih ramah terhadap biomarker molekuler. Metode amplifikasi eksponensial atau berantai menggabungkan beberapa siklus amplifikasi, di mana produk dari siklus pertama memulai siklus berikutnya, menghasilkan amplifikasi sinyal yang signifikan.

c) CRISPR/Cas9 dan Cas12a

Teknik CRISPR/Cas9 digunakan untuk pengenalan target yang akurat. Metode ini melibatkan penggunaan sistem CRISPR/Cas9 untuk mendekatkan dua untai DNA, membentuk template yang kemudian diterapkan untuk proses amplifikasi sinyal. Cas12a, anggota keluarga protein terkait CRISPR, menunjukkan aktivitas DNase unik yang memungkinkan deteksi target dengan spesifisitas tinggi. Kombinasi teknik CRISPR dengan metode amplifikasi DNA lainnya menghasilkan deteksi target yang lebih efisien.

d) Enzim Nicking

Enzim nicking adalah komponen kunci dalam beberapa strategi amplifikasi DNA. Enzim ini memotong salah satu untai DNA dalam struktur beruntai ganda tanpa memutuskan untai lainnya, menciptakan "*nick*" atau potongan kecil. Dalam aplikasi DNA walker, enzim nicking digunakan untuk memotong untai stator setelah hibridisasi dengan target DNA, menyebabkan struktur menjadi tidak stabil dan melepaskan bagian berlabel quencher. Ini memungkinkan untai target untuk bergerak dan hibridisasi dengan stator lain, menghasilkan amplifikasi sinyal yang signifikan.

e) **Desain Biosensor PARTIP**

Pendekatan desain biosensor yang efisien menghindari penggunaan bahan tambahan yang rumit. Konsep "*probe-amplifier-reporter trifunctional integrated platform*" (PARTIP) menggunakan satu untai DNA untuk mengintegrasikan fungsi probe, amplifikasi, dan pelaporan dalam satu sistem. Pendekatan ini menyederhanakan keseluruhan platform sensor dan meningkatkan efisiensi deteksi.

f) **DNA Walker dan Nanodevices Berbasis DNA**

DNA *walker* dan *nanodevices* berbasis DNA telah terbukti meningkatkan efisiensi deteksi biosensor. Contoh perangkat ini termasuk DNA *walker* berbasis DNA origami, yang dapat mendeteksi asam nukleat target dengan sensitif melalui

mekanisme hibridisasi dan pemotongan enzimatis. Selain itu, nanopartikel emas (AuNP) juga digunakan sebagai substrat untuk konstruksi DNA *walker*, memperluas aplikasi deteksi target termasuk asam nukleat dan protein.

2) Strategi yang Tidak Berbasis Enzim

Strategi amplifikasi DNA berbasis enzim memang menunjukkan potensi besar dalam desain platform deteksi berbasis DNA. Namun, dalam lingkungan yang kompleks, efisiensi enzim sering kali tidak dapat dikendalikan dengan baik. Tantangan lainnya adalah sulitnya enzim eksogen menembus barrier seluler dalam sistem hidup, serta risiko enzim tersebut dicerna oleh protease intraseluler atau memicu respons imun yang tidak diinginkan. Oleh karena itu, beberapa ilmuwan telah mengembangkan jalur amplifikasi DNA tanpa enzim untuk mengatasi masalah ini.

a) *Hybridization Chain Reaction (HCR)* dan *Catalytic Hairpins Assembly (CHA)*

Hybridization Chain Reaction (HCR) dan *Catalytic Hairpins Assembly (CHA)* adalah dua metode amplifikasi DNA tanpa enzim yang pertama kali diusulkan. Metode ini memungkinkan dua template DNA berbentuk hairpin untuk secara otomatis dirakit dengan kehadiran inisiator DNA untai tunggal. Strategi tanpa enzim ini menawarkan arah baru terhadap pengembangan desain biosensor. Selama beberapa tahun terakhir, berbagai platform biosensing berbasis CHA atau

HCR telah menunjukkan kinerja luar biasa dalam analisis berbagai biomarker molekuler baik secara ekstraseluler maupun intraseluler. Beberapa biosensor dirancang dengan HCR bercabang atau menggabungkan metode CHA/HCR untuk mencapai sensitivitas tinggi melalui beberapa siklus amplifikasi (Wang *et al*, 2022).

Baru-baru ini, model yang menggabungkan reaktan dalam ruang terbatas menunjukkan peningkatan laju reaksi perpindahan untai DNA melalui mekanisme konsentrasi lokal. Menginspirasi dari model ini, beberapa platform deteksi berbasis nanoteknologi DNA telah dikembangkan untuk deteksi biomarker intraseluler yang sangat efisien. Sebagai contoh, platform LCHA yang dibangun oleh Wei *et al* (2018). menggunakan interval hibridisasi dari pasangan probe DNA hairpin ke nanowire DNA yang dihasilkan oleh hibridisasi rantai bergantian, menunjukkan waktu respons yang lebih cepat dan sensitivitas yang lebih tinggi terhadap miRNA dalam sel hidup dibandingkan CHA konvensional.

b) DNAzyme sebagai Komponen Penting dalam Pemotongan DNA

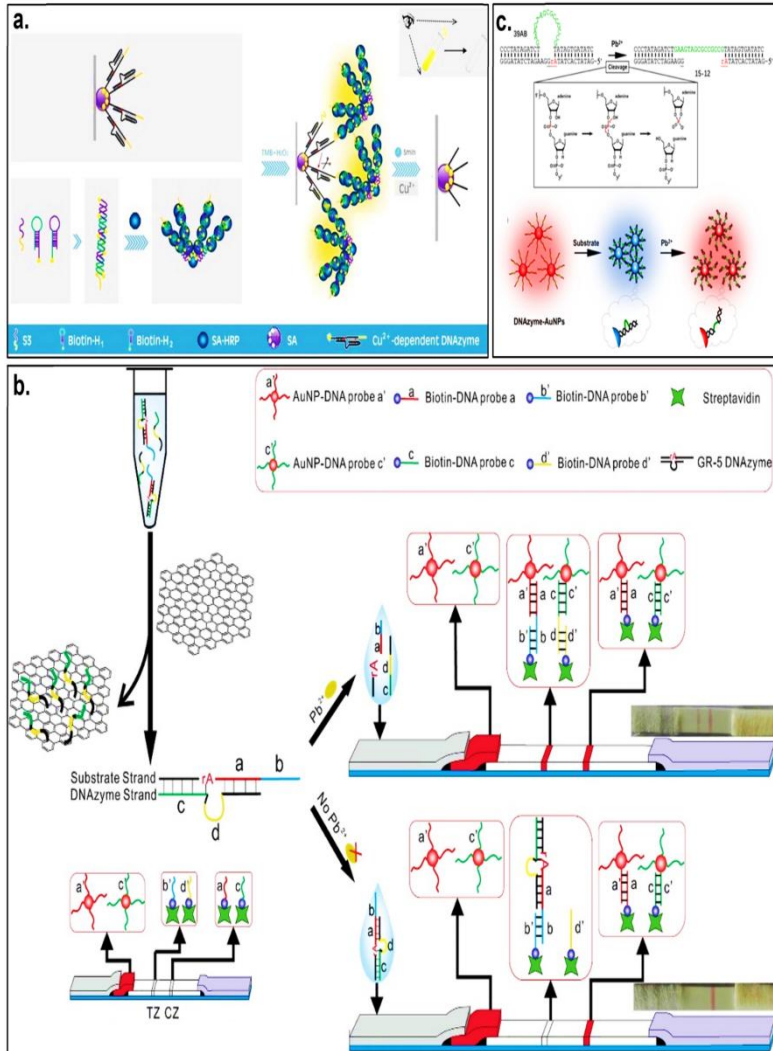
Jalur lain dalam desain biosensor adalah penggunaan Deoxyribozyme atau DNAzyme katalitik sebagai komponen kunci. DNAzyme adalah serangkaian DNA yang memiliki aktivitas katalitik untuk

memediasi berbagai reaksi kimia, termasuk pemotongan DNA dan RNA, ligasi, dan fosforilasi (Khan *et al.*, 2021). DNAzyme dapat pula didefinisikan sebagai oligonukleotida fungsional yang dapat berfungsi sebagai elemen pengenalan molekuler dalam biosensor, memiliki spesifisitas tinggi terhadap analit target, atau sebagai pelapor yang mampu mentransduksi sinyal yang dapat dideteksi. Aktivitas katalitik DNAzyme bergantung pada keberadaan molekul spesifik, dibedakan menjadi tiga komponen, meliputi 1) untai DNA katalitik dengan urutan unik, 2) untai substrat yang dapat dipotong biasanya mengandung satu situs ribonukleotida, dan 3) ion khusus yang dapat dikenali secara selektif oleh untai katalitik sehingga dapat menginisiasi pemotongan.

Sistem DNAzyme memungkinkan pemotongan DNA tanpa bantuan enzim protein eksogen, sehingga sistem deteksi yang dibangun berdasarkan DNAzyme dapat mencapai amplifikasi sinyal yang efisien (Gambar 7.3) (Khan *et al.*, 2021). DNAzyme dapat bekerja secara sinergis dengan metode hibridisasi untai untuk menciptakan platform deteksi dengan amplifikasi eksponensial tanpa enzim.

Penggabungan DNAzyme dengan nanoteknologi DNA merupakan pendekatan menjanjikan untuk desain biosensor berbasis DNA. Sistem DNA walker menggunakan DNAzyme sebagai

kekuatan pemicu telah diperkenalkan untuk deteksi miRNA dalam sel hidup. Struktur ini terdiri dari nanopartikel emas yang dilengkapi dengan banyak template DNAzyme terkunci, yang dapat membuka dan bekerja sebagai "*walker*" untuk memotong banyak substrat satu per satu, sehingga mencapai amplifikasi sinyal tanpa penambahan bahan eksternal. Model ini telah menginspirasi pengembangan motor DNAzyme untuk deteksi berbagai biomarker molekuler baik *in vitro* maupun *in vivo* (Wang *et al*, 2022).



Gambar 7. 3 Deteksi Ion Logam Menggunakan Platform Biosensing Berbasis DNAzyme. (a) Sistem Deteksi Rantai Hibridisasi dengan Horseradish Peroxidase (HRP) Concatemer untuk Deteksi Cu^{2+} ; (b) Strip Uji Aliran Lateral Berbasis Nanopartikel untuk Deteksi Pb^{2+} ; (c) Nanopartikel Emas untuk Deteksi Plasmonik Ion Pb^{2+} (Khan *et al.*, 2021)

2. Metode Tidak Terkait Amplifikasi DNA

Metode amplifikasi DNA telah menunjukkan potensi besar dalam meningkatkan kinerja biosensor berbasis DNA. Namun, beberapa ilmuwan berpendapat bahwa pendekatan tanpa amplifikasi DNA lebih baik karena lebih sederhana, cepat, dan mengurangi biaya serta risiko kehilangan spesifisitas. Deteksi tanpa amplifikasi memungkinkan deteksi langsung dan cepat terhadap molekul target. Sejak tahun 1970-an, teknik seperti *Southern blot* dan *Northern blot* telah digunakan untuk deteksi DNA dan RNA, meskipun sensitivitasnya masih menjadi tantangan.

Selama perkembangan biologi molekuler dan biokimia, kemampuan untuk mensintesis dan memodifikasi untai DNA dengan transduser sinyal unik telah meningkat, sehingga memungkinkan perbaikan kinerja sensor tanpa perlu amplifikasi DNA. Teknologi seperti *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) telah menginspirasi pengembangan platform sensor berbasis DNA yang menggunakan DNA yang dimodifikasi sebagai pengganti antibodi konvensional (Wang *et al*, 2022).

a) Desain Sensor Elektronik Berbasis DNA

Li *et al* (2016). mengusulkan sensor elektronik berbasis DNA dengan memodifikasi probe DNA berbentuk hairpin di permukaan elektroda emas (Au). Probe ini dapat membentuk struktur Y yang stabil dengan DNA target dan untai DNA pelapor yang mengandung modifikasi biotin sehingga dapat berikatan dengan streptavidin (SA) yang terhubung dengan horseradish peroxidase (HRP). HRP kemudian dapat mengkatalisis

oksidasi 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine (TMB) di hadapan H_2O_2 , menghasilkan perubahan sinyal elektronik. Desain serupa telah dilaporkan berfokus pada probe DNA yang dimodifikasi dipasang di permukaan berbagai jenis elektroda, dan target dapat membawa bahan yang bertindak sebagai mediator transduksi elektronik melalui interaksi dengan probe DNA.

b) DNA Alosterik

Pendekatan lain menggunakan DNA alosterik juga menjanjikan untuk konstruksi biosensor tanpa amplifikasi. DNA dengan urutan khusus dapat melipat menjadi struktur tiga dimensi unik seperti G-quadruplex (Gq) dan i-Motif (iM). Perubahan konformasi ini dapat dimanfaatkan untuk menghasilkan sinyal. Struktur DNA yang unik ini semakin banyak digunakan dalam desain biosensor tanpa amplifikasi dengan karakter alosteriknya.

c) Aptamer

Bahan DNA menarik lainnya yang menunjukkan pengikatan alosterik terhadap molekul target tertentu adalah aptamer. Pada tahun 1990, Tuerk dan Gold memperkenalkan serangkaian oligo DNA pendek yang diseleksi melalui teknik SELEX (*Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment*). Mirip dengan antibodi, aptamer dapat mengenali dan berikatan dengan molekul target khusus, membentuk kompleks yang stabil dengan konfigurasi tertentu.

Aptamer dapat didefinisikan sebagai oligonukleotida pendek yang diseleksi secara khusus dari pustaka DNA, berdasarkan kemampuan spesifiknya dalam mengikat target tertentu berupa molekul kecil, asam amino, peptida, dan protein yang menyusun sel hidup. Aptamer berikatan dengan targetnya melalui interaksi non-kovalen dan memiliki kelebihan seperti dapat disintesis secara otomatis, mudah dimodifikasi, berukuran lebih kecil, rendah imunogenisitas, dan cepat menembus jaringan (Huang *et al.*, 2021).

Saat ini, biosensor berbasis DNA dengan aptamer sebagai komponen utama telah banyak dikembangkan. Dalam sebagian besar desain, aptamer bekerja sebagai probe target serta pelapor sinyal karena pengenalan alosteriknya (Wang *et al.*, 2022). Sebagai contoh, Lin *et al.* (2020) melaporkan probe mitokondria yang responsif terhadap ATP yang dapat memantau tingkat ATP dalam sel hidup. Mereka menggabungkan untai peptide nucleic acid (PNA) yang dimodifikasi dengan fluorofoor dan triphenylphosphonium (TPP) serta untai aptamer ATP yang dimodifikasi dengan quencher. Pengenalan dan pengikatan ATP dengan untai aptamer akan melepaskan untai PNA, sehingga sinyal fluoresen dapat diamati karena pemisahan antara fluorofoor dan quencher.

Pengembangan SELEX telah menyaring aptamer yang menargetkan lebih banyak jenis molekul dengan efisiensi lebih tinggi, sehingga mendorong aplikasi biosensor terkait aptamer

dalam berbagai penanda biologis (Yu *et al.*, 2021).

7.1.3 Aplikasi DNA Probe

Dong *et al* (2020) mengidentifikasi bahwa material fungsional biosensor berbasis DNA (DNA probe) termasuk diantaranya DNA bercabang memiliki berbagai aplikasi yang luas, misalnya dalam diagnostik, rekayasa protein, pengiriman obat dan gen, terapi, dan rekayasa sel. Dalam bidang diagnostik, teknik seperti *sandwich-based assay*, *target-induced polymerization*, *target recycling strategy*, dan *multiplexed diagnostic* digunakan untuk deteksi spesifik dan sensitif berbagai molekul target.

- 1) *Sandwich-based assay*, merupakan teknik diagnostik menggunakan lapisan DNA yang membentuk "sandwich" dengan molekul target, memungkinkan deteksi spesifik dan sensitif.
- 2) *Target-induced polymerization*, yaitu metode deteksi berdasarkan polimerisasi yang diinduksi oleh target, meningkatkan sinyal deteksi.
- 3) *Target recycling strategy*, dikenal sebagai strategi diagnostik yang memanfaatkan daur ulang target untuk meningkatkan sensitivitas.
- 4) *Multiplexed diagnostic*, yaitu diagnostik yang dapat mendeteksi banyak target secara simultan, memungkinkan analisis kompleks dalam satu langkah.

Dalam rekayasa protein, DNA bercabang digunakan untuk merekayasa protein baru dengan fungsi spesifik, memungkinkan pembuatan enzim atau protein terapi yang lebih efektif. Selain itu, DNA bercabang juga diaplikasikan dalam proses pengiriman obat dan gen mencakup teknik *drug delivery* untuk mengantarkan obat

secara tepat ke target, meningkatkan efikasi dan mengurangi efek samping, dan *gene delivery* untuk terapi gen yang memungkinkan pengenalan gen terapeutik ke sel target.

Penggunaan DNA bercabang dalam terapi, dapat berupa kombinasi *chemo-gene therapy* dan *immunotherapy*. *Chemo-gene therapy* merupakan kombinasi terapi gen dan kemoterapi menggunakan DNA bercabang untuk meningkatkan efektivitas pengobatan, sedangkan *Immunotherapy* merupakan terapi imun dengan bantuan struktur DNA bercabang untuk memodulasi respons imun tubuh terhadap penyakit.

Selain itu, aplikasi DNA bercabang secara khusus juga digunakan dalam rekayasa sel untuk merekayasa sel dengan fungsi yang diinginkan, seperti sel-sel dengan kemampuan regeneratif atau fungsi imun yang ditingkatkan.

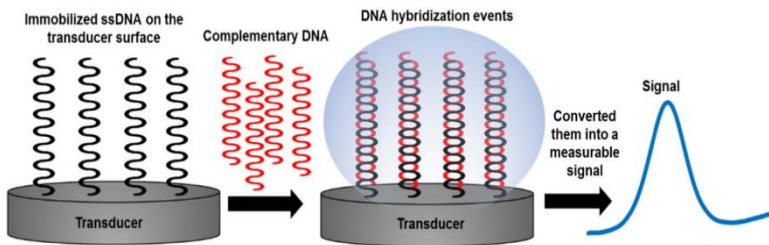
1. Teknik Labeling dan Deteksi dalam Hibridisasi dan Microarray

1) Prinsip Kerja Biosensor DNA dan Aplikasinya

Biosensor DNA (juga disebut genosensor) dan microarray DNA (umumnya disebut gene chips, DNA chips, atau biochips) memanfaatkan preferensi pengikatan urutan asam nukleat untai tunggal komplementer. Sistem ini biasanya bergantung pada imobilisasi probe DNA untai tunggal (ssDNA) pada permukaan untuk mengenali urutan target DNA komplementernya melalui hibridisasi. Transduksi hibridisasi DNA dapat diukur secara optik, elektrokimia, atau menggunakan perangkat yang sensitif terhadap massa. Pada kasus biosensor DNA, berbeda dengan microarray DNA, imobilisasi probe DNA

dilakukan langsung pada permukaan transduser (Sassolas *et al.*, 2008).

Hibridisasi DNA telah menjadi prinsip utama dalam konstruksi perangkat biosensor DNA. Proses ini melibatkan lapisan probe DNA beruntai tunggal atau *single-stranded DNA* (ssDNA) yang diimobilisasi pada permukaan transduser untuk mengenali target DNA komplementernya dan membentuk heliks ganda DNA (Gambar 7.4). Aktivitas hibridisasi ini dapat dikonversi menjadi sinyal terukur oleh transduser dalam bentuk optik, elektrokimia, piezoelektrik, dan termal untuk deteksi. Transduser elektrokimia mendapatkan perhatian khusus untuk deteksi hibridisasi DNA karena kesederhanaannya dan kemampuan langsung untuk mengonversi peristiwa hibridisasi menjadi sinyal listrik (Rashid & Yusof, 2017).



Gambar 7. 4 Skema Desain Umum Biosensor DNA untuk Hibridisasi (Rashid & Yusof, 2017).

Aplikasi metode elektrokimia untuk deteksi hibridisasi DNA pertama kali diperkenalkan oleh Millan dan Mikkelsen. Sejak saat itu, banyak penyelidikan telah mendokumentasikan pengembangan biosensor DNA elektrokimia untuk berbagai deteksi,

terutama dalam penyakit menular seperti HIV/AIDS, tuberkulosis, infeksi *Salmonella*, penyakit bawaan makanan, *Vibrio cholera*, infeksi *E. coli*, sifilis, leptospirosis, demam berdarah, dan penyakit menular seksual (Rashid & Yusof, 2017).

Untuk memastikan proses hibridisasi berjalan dengan baik, transduser DNA elektrokimia seringkali menggunakan sistem tiga elektroda konvensional, yang terdiri dari elektroda referensi, elektroda lawan, dan elektroda kerja. Adapun permukaan elektroda kerja biasanya terdiri dari DNA beruntai tunggal pendek yang diimobilisasi (probe ssDNA) (15–30 kb) yang memungkinkan terjadinya hibridisasi DNA. Oleh karena itu, sifat elektroda kerja dalam hal jenis material, modifikasi permukaan, dan luas permukaan dapat sangat mempengaruhi efisiensi hibridisasi DNA pada permukaan elektroda kerja. Sejauh ini, berbagai jenis elektroda kerja telah digunakan dalam penginderaan DNA elektrokimia meliputi elektroda merkuri, elektroda karbon, elektroda emas, indium tin oksida (ITO), dan elektroda yang dimodifikasi secara kimia (Rashid & Yusof, 2017).

Dalam penginderaan DNA elektrokimia, perubahan sinyal elektrokimia dengan atau tanpa target DNA merupakan parameter analitik penting dalam deteksi hibridisasi DNA. Rashid & Yusof (2017) mendeskripsikan beberapa pendekatan dalam pengukuran sinyal DNA elektrokimia yang dapat diterapkan antara lain, yaitu: 1) pengukuran arus pada variasi potensial (voltammetri) atau potensial tetap

(amperometri) sebagai hasil dari aktivitas redoks pada elektroda kerja, 2) pengukuran potensial muatan pada arus tetap (potensiometri), dan 3) perubahan konduktivitas elektroda kerja pada variasi frekuensi (konduktometri). Pendekatan voltammetri seperti voltammetri siklik (CV), voltammetri pulsa berbeda (DPV), dan voltammetri gelombang persegi (SWV) biasanya digunakan dalam penginderaan DNA elektrokimia disebabkan metode yang sederhana dan instrumen yang murah.

2) Strategi Imobilisasi Probe DNA

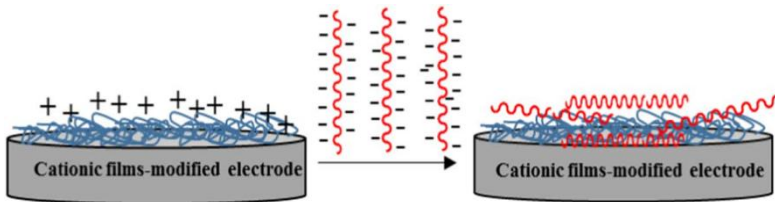
Bergantung pada aplikasinya, pemilihan teknik imobilisasi sangat penting. Untuk mengembangkan microarray, teknik imobilisasi umumnya menggunakan dua strategi utama: penempatan probe DNA yang sudah jadi ke permukaan substrat yang diaktifkan secara kimiawi atau sintesis in situ oligo deoksiribonukleotida (ODN) langsung pada substrat.

Imobilisasi probe DNA pada permukaan elektroda kerja untuk mengenali target DNA komplementernya melalui hibridisasi merupakan langkah penting dalam konstruksi sensor DNA. Teknik imobilisasi probe DNA yang baik akan mendorong reaktivitas tinggi dan orientasi yang baik dari probe DNA yang diimobilisasi untuk melakukan hibridisasi dengan target DNA komplementernya. Beberapa teknik imobilisasi probe DNA dapat diterapkan dalam penginderaan DNA elektrokimia, seperti metode adsorpsi, ikatan kovalen, dan interaksi (strept-)avidin-biotin (Rashid & Yusof, 2017).

a) Metode Adsorpsi

Metode adsorpsi adalah teknik paling sederhana untuk imobilisasi probe DNA pada permukaan elektroda kerja, tanpa memerlukan reagen kimia atau modifikasi probe DNA. Dalam metode ini, probe DNA diimobilisasi melalui adsorpsi elektrostatik antara gugus fosfat DNA yang bermuatan negatif dan film elektroda yang bermuatan positif. Penggunaan kitosan dan film polimer kationik seperti poli-L-lisin (PLL), polipirrol (PPy), polianilin, dan polietilenimin telah terbukti efektif membantu proses imobilisasi probe DNA (Rashid & Yusof, 2017).

Sebagai contoh, strategi imobilisasi probe DNA dapat dilakukan melalui modifikasi elektroda kaca karbon dengan kitosan sebelum direndam dalam larutan probe DNA ($3,1 \text{ mg/mL}^{-1}$) dalam buffer TE selama 2 jam. Dengan adanya gugus amina bebas (NH_3) dari polimer kitosan pada permukaan elektroda, dapat memungkinkan pengikatan elektrostatik dengan gugus fosfat bermuatan negatif dari probe DNA. Selain itu, penggunaan film polimer kationik juga dapat bertindak sebagai matriks DNA dalam proses imobilisasi melalui adsorpsi elektrostatik. Dasar adsorpsi elektrostatik untuk imobilisasi probe DNA ditunjukkan pada Gambar 7.5.



Gambar 7. 5 Skema Imobilisasi Probe DNA Melalui Adsorpsi Elektrostatis

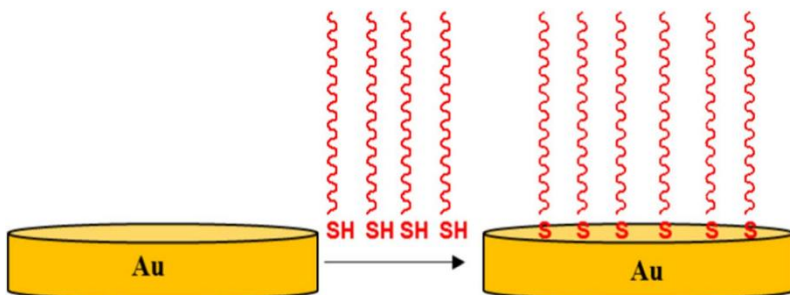
Dalam studi yang lain, imobilisasi probe DNA dapat berlangsung secara lebih efektif dengan menggabungkan adsorpsi elektrostatis dan elektrokimia pada elektroda emas yang dilapisi dengan film polipirrol (PPy). Interaksi elektrostatis antara PPy bermuatan positif dan gugus fosfat DNA bermuatan negatif menjadi lebih kuat dan stabil ketika potensial tetap sebesar 0,8 V diterapkan selama 10 menit. Meskipun teknik imobilisasi ini menawarkan langkah-langkah yang cepat, sederhana, dan penggunaan reagen kimia yang minimal, namun ada beberapa keterbatasan dalam teknik ini, yaitu 1) adsorpsi elektrostatis rentan terhadap desorpsi di bawah pengaruh pH buffer, kekuatan ionik, dan suhu, dan 2) orientasi acak probe DNA pada permukaan elektroda dapat mempengaruhi efisiensi hibridisasi DNA (Rashid & Yusof, 2017).

b) Ikatan Kovalen

Berbeda dengan metode adsorpsi, teknik imobilisasi probe DNA melalui ikatan kovalen menawarkan stabilitas yang baik, fleksibilitas, kekuatan ikatan yang tinggi, dan mencegah desorpsi monolayer probe DNA dari permukaan elektroda. Teknik ini juga memberikan orientasi vertikal yang baik,

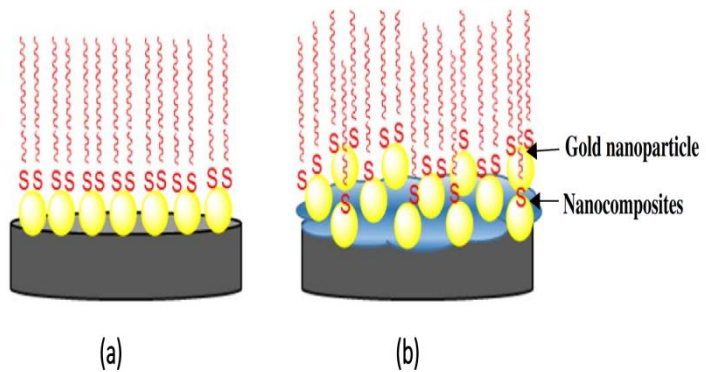
dengan ujung probe DNA terikat pada permukaan elektroda, sehingga meningkatkan efisiensi hibridisasi DNA. Dalam teknik ini, probe DNA yang disintesis biasanya dikaitkan dengan gugus tiol (SeH) atau amina (NH₂) di ujung 3' atau 5' untuk mengikat secara kovalen ke permukaan logam atau gugus fungsional khusus pada permukaan elektroda.

Teknik kemisorpsi (*chemisorption*) sering digunakan untuk imobilisasi probe DNA secara kovalen, terutama antara probe DNA yang dimodifikasi tiol dan permukaan emas (Au), membentuk lapisan monolayer sendiri (*self-assembled monolayer* (SAM)) pada permukaan elektroda emas (Gambar 6). Hal ini disebabkan interaksi afinitas yang kuat antara gugus tiol dan permukaan emas membentuk ikatan kovalen Au-S. Teknik ini memungkinkan pembuatan biosensor DNA elektrokimia yang kuat, mudah dipersiapkan, sangat stabil, dan dapat direproduksi (Rashid & Yusof, 2017).



Gambar 7. 6 Skema Imobilisasi Probe DNA pada Elektroda Emas Melalui Teknik Kemisorpsi (Rashid & Yusof, 2017).

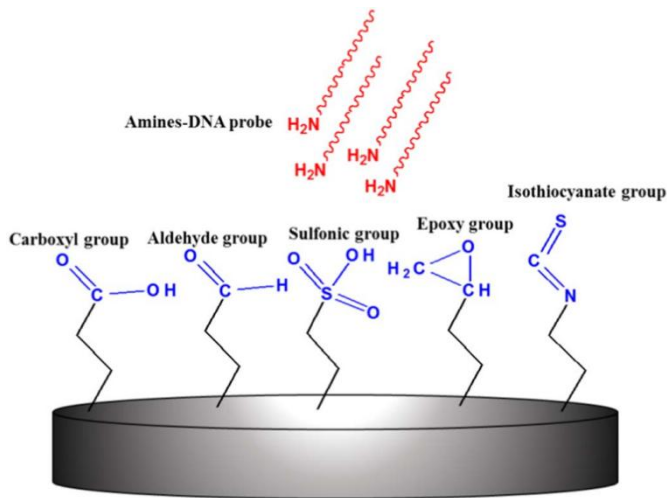
Penyelidikan sebelumnya menunjukkan bahwa elektroda emas dapat dimodifikasi dengan nanopartikel emas (AuNP) untuk meningkatkan area permukaan dan jumlah probe DNA yang diimobilisasi. Kombinasi AuNP dengan nanokomposit lainnya juga menjanjikan dalam amplifikasi sinyal elektrokimia untuk deteksi DNA yang sangat sensitif di masa depan (Gambar 7.7) (Rashid & Yusof, 2017).



Gambar 7. 7 Imobilisasi Probe DNA Pada Permukaan, a) AuNP, dan b) Nanokomposit/AuNP Menggunakan Teknik Kemisorpsi (Rashid & Yusof, 2017).

Selain kemisorpsi, teknik ikatan kovalen juga memanfaatkan gugus fungsional lain seperti karboksil, aldehida, sulfonat, epoksi, dan isosianat pada permukaan elektroda yang dimodifikasi untuk mengikat probe DNA yang berujung amina (NH_2) (Gambar 7.8) (Rashid & Yusof, 2017). Reagen karbodiimida seperti NHS (N-hydroxysuccinimide) dan EDC (1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide) sering digunakan untuk mengaktifkan gugus karboksil agar dapat mengikat gugus amina dari probe

DNA. Misalnya, dalam sebuah studi dilakukan modifikasi elektroda kaca karbon dengan graphene oxide dan nanotube karbon tunggal, kemudian gugus karboksil diaktifkan dengan mengaplikasikan reagen EDC/NHS sebelum imobilisasi probe DNA berujung amina (Yang *et al.*, 2015).



Gambar 7. 8 Metode imobilisasi Kovalen dari Probe DNA yang Berujung Amina Pada Elektroda yang Dimodifikasi dengan Berbagai Gugus Fungsional (Rashid & Yusof, 2017).

Teknik lain melibatkan penggunaan linker bifungsional seperti glutaraldehida untuk menghubungkan elektroda yang dimodifikasi dengan amina dan probe DNA berujung amina, sehingga membentuk ikatan amida. Penggunaan chitosan yang diketahui memiliki gugus amina yang melimpah dapat menjadi kandidat ideal sebagai matriks probe DNA. Reagen organosilane seperti APTES (3-

aminopropyltriethoxysilane) juga digunakan untuk menyediakan lapisan terminasi NH_2 pada permukaan elektroda untuk fungsionalisasi probe DNA melalui linker glutaraldehida.

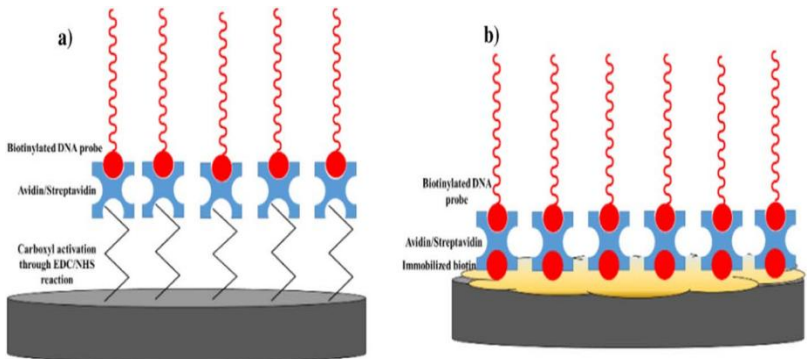
Ikatan kovalen antara gugus karboksil dan amina juga dapat dilakukan tanpa reaksi penghubung EDC/NHS, misalnya melalui reaksi basa Schiff (*Schiff base reaction*) menggunakan aldehida sebagai *cross-linker*. Pendekatan ini memungkinkan fungsionalisasi permukaan elektroda dengan berbagai gugus fungsional yang berbeda, menjadikan teknik ini sangat fleksibel dalam pembuatan biosensor DNA (Rashid & Yusof, 2017).

c) Interaksi Avidin/Streptavidin-Biotin

Strategi lain untuk imobilisasi non-kovalen dari probe DNA pada permukaan elektroda adalah berdasarkan pembentukan kompleks avidin (atau streptavidin)-biotin. Hal ini disebabkan oleh fakta bahwa molekul biotin kecil (berat molekul = 2,44,31 g/mol) dapat berinteraksi dengan situs pengikatan avidin/streptavidin dengan afinitas sangat tinggi ($K_a = 1 \times 10^{-15} \text{M}$) hampir setara dengan ikatan kovalen. Akibatnya, ikatan antara avidin/streptavidin dengan molekul biotin sangat stabil dan tahan terhadap suhu ekstrem, pH, deterjen denaturasi, dan pelarut organik. Selain itu, avidin/streptavidin adalah protein tetramer besar (70 kDa) yang dapat menyediakan empat situs pengikatan untuk molekul biotin, dan interaksi tetramerik ini dapat dimanfaatkan untuk mengimobilisasi probe DNA pada permukaan elektroda padat.

Ini dapat dilakukan dengan memodifikasi ujung 3' atau 5' dari urutan probe DNA dengan molekul biotin dan kemudian memperkenalkannya ke elektroda yang dimodifikasi avidin/streptavidin.

Berbagai metode permukaan elektroda yang dimodifikasi avidin/streptavidin telah dikembangkan untuk imobilisasi probe DNA berbiotin dalam aplikasi sensor DNA elektrokimia. Metode imobilisasi yang paling umum digunakan adalah reaksi kopling EDC/NHS antara gugus karboksil yang diaktifkan dan avidin/streptavidin. Dalam sebuah penyelidikan, ditemukan bahwa pembentukan *Self-Assembled Monolayer* (SAM) dari gugus karboksil asam merkaptoasetat yang dimodifikasi pada permukaan elektroda emas yang diaktifkan dalam larutan EDC/NHS 30 mM selama 2 jam, diikuti dengan perendaman dalam larutan avidin 200 µg/mL untuk mengkonjugasi avidin pada permukaan elektroda emas sebelum imobilisasi probe DNA berbiotin. Selain itu, imobilisasi probe DNA berbiotin pada permukaan nanotube karbon yang difungsikan dengan avidin dapat dilakukan menggunakan reaksi kopling EDC/NHS. Rashid & Yusof (2017) telah melakukan pengkajian ilmiah dan menemukan bahwa imobilisasi streptavidin pada permukaan elektroda emas dan karbon dalam sebuah polimer baru yang dielektropolimerisasi (dikenal sebagai scopoletin (7-hydroxy-6-methoxy-coumarin)) dapat memediasi reaksi konjugasi dengan probe DNA berbiotin (Gambar 7.9).



Gambar 7. 9 Skema Strategi Imobilisasi Probe DNA Berbiotin; a) Elektroda yang Difungsikan Dengan Avidin/Streptavidin Melalui Aktivasi Gugus Karboksil; b) Teknik Sandwich Biotin/Avidin (Streptavidin)/Biotin (Rashid & Yusof, 2017).

Beberapa studi sebelumnya menggunakan strategi sandwich biotin/avidin (streptavidin)/biotin, yang diawali dengan imobilisasi molekul biotin pada permukaan elektroda untuk mempersiapkan lapisan avidin sehingga mendukung imobilisasi probe DNA berbiotin. Dalam strategi ini, lapisan avidin bertindak sebagai 'jembatan' antara elektroda yang dimodifikasi biotin dan probe DNA berbiotin karena avidin dapat menyediakan empat situs pengikatan biotin. Misalnya, penggunaan film poly(pyrrole-biotin) pada permukaan elektroda untuk mengikat lapisan avidin yang memediasi imobilisasi probe DNA berbiotin telah dilaporkan sebelumnya. Film poly(pyrrole-biotin) ini dapat disintesis pada elektroda kuarsa dengan menerapkan potensial antara $-0,4$ V hingga $0,9$ V pada 50 mV/s dalam larutan asetonitril yang mengandung 5 mM

monomer pirrol. Proses ini diikuti dengan perendaman elektroda yang dimodifikasi poly(pyrrole-biotin) dalam larutan avidin untuk membentuk elektroda yang dimodifikasi avidin/poly(pyrrole-biotin) sehingga dapat memungkinkan interaksi probe DNA berbiotin-avidin. Penempelan molekul biotin fotoreaktif pada chip poly (dimethylsiloxane) (PDMS) di bawah iradiasi UV dapat dilakukan menggunakan teknik fotolitografi. Probe DNA berbiotin berhasil diimobilisasi pada permukaan PDMS melalui strategi sandwich biotin-avidin-biotin (Rashid & Yusof, 2017).

3) Deteksi DNA Probe

Deteksi hibridisasi asam nukleat adalah teknik yang digunakan untuk mengidentifikasi interaksi antara dua untai DNA yang komplementer. Dalam metode ini, satu untai DNA yang dikenal sebagai probe diimmobilisasi pada suatu permukaan, dan hibridisasinya dengan untai DNA target yang komplementer diukur menggunakan berbagai teknik transduksi. Deteksi hibridisasi asam nukleat dapat dilakukan melalui teknik optik, elektrokimia, atau gravimetrik.

a) Deteksi DNA Optik

Deteksi hibridisasi DNA dapat dilakukan menggunakan beberapa teknik optik meliputi fluoresensi, *surface plasmon resonance* (SPR), kemiluminesensi, kolorimetri, interferometri, dan spektroskopi *surface-enhanced Raman scattering* (SERS).

1) Fluoresensi

Deteksi fluoresensi adalah metode umum dalam teknologi chip DNA untuk mendeteksi hibridisasi DNA. Metode ini menggunakan fluorofoor sebagai label yang memancarkan cahaya saat tereksitasi oleh sumber cahaya. Deteksi fluoresensi melibatkan pelabelan target DNA dengan pewarna fluorofoor seperti *fluorescein isothiocyanate* (FITC). Dalam teknik ini, probe atau target DNA dilabeli dengan fluorofoor akan berpendar ketika terstimulasi oleh sumber cahaya. Hibridisasi dengan probe dapat diukur menggunakan alat pencitraan fluoresensi. Teknik ini memiliki sensitivitas tinggi yang memungkinkan deteksi pada konsentrasi sangat rendah. Beberapa aplikasi utama deteksi fluoresensi dalam teknologi DNA antara lain sebagai berikut:

1. Imobilisasi dan Pelabelan

Oligonukleotida termodifikasi amino diimobilisasi pada gel poliakrilamida yang telah difungsionalisasi dengan aldehida. Selain itu, chip DNA juga dibuat dengan memasukkan probe DNA yang dibiotinilasi ke dalam mikroreaktor manik. Dalam kedua kasus tersebut, DNA target berlabel fluorofoor digunakan untuk hibridisasi dengan untai tangkap yang komplementer.

2. Array cDNA untuk Analisis Ekspresi Gen

mRNA dari sel atau jaringan diisolasi dan kemudian ditranskripsi balik menjadi cDNA yang dilabeli dengan nukleotida fluoresen. cDNA yang berlabel ini dihibridisasi pada mikroarray dan dianalisis menggunakan pemindai laser atau kamera CCD untuk mengukur

intensitas fluoresensi setiap "spot" cDNA, yang mencerminkan tingkat ekspresi gen.

3. Deteksi Mutasi dan Polimorfisme

Platform genotipik seperti *Arrayed Primer Extension* (APEX) menggunakan oligonukleotida yang diimobilisasi pada permukaan kaca yang difungsionalisasi dengan epoksilana. DNA pasien diperbanyak menggunakan PCR, dicerna enzimatis, dan dihibridisasi dengan primer yang diimobilisasi. Perubahan warna pada situs primer menunjukkan adanya mutasi. Teknik APEX ini efektif untuk analisis mutasi dan polimorfisme, termasuk deteksi mutasi pada gen penekan tumor TP53.

Deteksi fluoresensi memiliki keunggulan dalam hal sensitivitas tinggi dan kemampuan untuk melakukan multiplexing, menjadikannya pilihan utama dalam berbagai aplikasi diagnostik dan penelitian genetik.

2) *Surface Plasmon Resonance* (SPR)

Surface Plasmon Resonance (SPR) merupakan teknik optik yang digunakan untuk menginvestigasi perubahan pada antarmuka prisma yang dilapisi dengan logam tipis saat berinteraksi dengan larutan. Teknik ini digunakan untuk menentukan perubahan indeks bias pada permukaan. Ketika cahaya mengenai sisi prisma pada sudut resonansi tertentu, terjadi penurunan intensitas pantulan cahaya yang mencapai titik minimum. Sensitivitas teknik ini terhadap perubahan sudut resonansi sangat dipengaruhi oleh kehadiran biomolekul pada permukaan logam

emas. Variasi reflektivitas yang terjadi memberikan sinyal yang terkait secara proporsional dengan massa biomolekul yang terikat pada permukaan.

SPR digunakan secara luas dalam pengembangan biosensor karena kemampuannya mendeteksi pengikatan analit pada permukaan tanpa memerlukan penanda tambahan. Salah satu aplikasi utamanya adalah dalam deteksi hibridisasi DNA. Untuk mendeteksi satu molekul, seperti target DNA, ligan (misalnya, probe DNA) diimobilisasi pada permukaan. Ketika analit berikatan dengan ligan, terjadi peningkatan massa dan indeks bias. Berbagai pendekatan imobilisasi seperti lapisan biomolekul *Self-Assembled Monolayer* (SAM) yang terdiri dari molekul thiol berujung COOH atau probe DNA bercabang yang mengandung bagian *single-stranded* DNA (ssDNA) dan *double-stranded* DNA (dsDNA); dan teknik fotolitografi telah berhasil dikembangkan untuk mendukung biosensor SPR berbasis DNA.

Selain itu, teknik pencitraan seperti *Surface Plasmon Microscopy* (SPM) dan *Surface Plasmon Field-Enhanced Fluorescence Microscopy* (SPFM) digunakan untuk mendeteksi reaksi hibridisasi antara target yang diberi label dengan probe oligonukleotida. SPFM, misalnya, memungkinkan deteksi dengan menggunakan pewarna organik atau *quantum dots* semikonduktor yang terikat pada probe yang diimobilisasi secara elektrokimia. Metode deteksi ini memungkinkan pengamatan hibridisasi oligonukleotida antara target berlabel dengan probe komplementer yang

diimobilisasi melalui lapisan streptavidin-SH yang teradsorpsi secara kimia pada permukaan emas. Metode ini memungkinkan observasi yang sensitif terhadap hibridisasi oligonukleotida, memperluas aplikasi SPR dalam analisis biologis dan diagnostik molekuler.

3) Kemiluminesensi

Teknik ini menggunakan reaksi kimia yang menghasilkan cahaya untuk mendeteksi hibridisasi DNA. Misalnya, pemanfaatan struktur G-quadruplex dengan hemin yang bertindak sebagai biokatalis untuk reaksi kemiluminesensi.

4) Kolorimetri (*Colorimetry*)

Deteksi kolorimetri melibatkan perubahan warna yang dihasilkan dalam reaksi hibridisasi DNA. Teknik ini mudah dan murah, tetapi mungkin kurang sensitif dibandingkan metode lain.

5) Interferometri

Deteksi hibridisasi DNA dilakukan melalui pengukuran perubahan fase cahaya yang dipantulkan dari permukaan sensor setelah hibridisasi. Teknik ini mengukur perubahan dalam pola interferensi cahaya akibat perubahan ketebalan lapisan DNA pada permukaan sensor. Interferometri dapat mendeteksi hibridisasi DNA dengan sensitivitas tinggi dan tidak memerlukan pelabelan.

6) Spektroskopi *Surface-Enhanced Raman Scattering* (SERS)

SERS dapat mendeteksi hibridisasi DNA dengan memperkuat sinyal Raman dari molekul DNA yang teradsorpsi melalui interaksi dengan

permukaan logam nanostruktur secara khusus yang memungkinkan deteksi DNA dapat dilakukan pada konsentrasi sangat rendah.

b) Deteksi DNA Elektrokimia

Deteksi elektrokimia hibridisasi DNA umumnya bergantung pada perubahan perilaku elektrokimia dengan atau tanpa keberadaan target DNA komplemen. Deteksi hibridisasi ini dapat dipantau berdasarkan arus puncak redoks untuk basa DNA yang elektroaktif, arus puncak redoks dari indikator hibridisasi, sinyal elektrokimia setelah hibridisasi dengan enzim yang ditandai dengan probe DNA, atau nanopartikel yang ditandai dengan probe DNA. Dua metode deteksi hibridisasi DNA yang sering digunakan adalah: a) Metode DNA elektrokimia tanpa label yang didasarkan pada modifikasi sifat/perilaku seperti kapasitansi atau respons elektrokimia DNA, dan b) Metode DNA elektrokimia berbasis label, misalnya pelabelan langsung menggunakan probe DNA yang diimobilisasi pada permukaan transduser berikatan langsung dengan target DNA yang telah diberi label, dan kompleks ternary tipe sandwich dilengkapi dengan probe DNA yang diimobilisasi berikatan dengan sebagian target DNA, sedangkan bagian lain dari target DNA berikatan dengan urutan DNA sinyal yang diberi label (Rashid & Yusof, 2017; Sassolas *et al.*, 2008).

Metode pelabelan tradisional menggunakan radioaktivitas, meskipun sangat sensitif, memiliki kelemahan serius karena penggunaan radioisotop seperti ^{32}P atau ^{125}I

yang berbahaya. Teknik optik dan elektrokimia telah dikembangkan sebagai alternatif, menggunakan pewarna fluoresen atau titik kuantum (*Quantum Dots* (QDs)) yaitu nanopartikel semikonduktor yang menghasilkan sinyal fluoresen lebih terang dan stabil untuk deteksi optik dan menggunakan enzim, indikator aktif redoks seperti ferosen (Fc), kompleks logam kationik dan senyawa organik interkalasi seperti metilen blue, atau label nanopartikel lainnya untuk deteksi elektrokimia (Sassolas *et al.*, 2008).

1) Deteksi DNA Elektrokimia Tanpa Label

Deteksi DNA elektrokimia tanpa label berdasarkan perubahan sifat redoks basa elektroaktif DNA merupakan pendekatan yang umum digunakan saat ini. Basa elektroaktif DNA, seperti guanin dan adenin, dapat mengalami reaksi reduksi dan oksidasi setelah hibridisasi dengan target DNA. Prinsip utama deteksi ini tergantung pada interaksi basa guanin dan adenin dari probe DNA dengan basa timin dan sitosin dari target DNA selama hibridisasi, yang mengakibatkan pengurangan sinyal arus reduksi/oksidasi guanin dan adenin setelah hibridisasi.

Teknik sederhana deteksi ini telah dikembangkan dengan cara meng-elektrodeposisi probe DNA pada elektroda yang dimodifikasi dengan tabung nanotube karbon, kemudian menginkubasi elektroda dengan larutan DNA target untuk hibridisasi. Hibridisasi ini dipantau

menggunakan teknik *adsorptive stripping voltammetry* (AdSV), dengan mendeteksi sinyal oksidasi guanin pada potensial tertentu. Misalnya, elektroda yang dimodifikasi dengan nanotube karbon dideposisikan dengan probe DNA lalu direndam dalam larutan PBS yang mengandung DNA target untuk reaksi hibridisasi. Hibridisasi ini dipantau melalui sinyal oksidasi guanin yang dapat dideteksi pada potensial sekitar +0.85 V. Selain itu, sinyal oksidasi guanin dan adenin juga dapat diperoleh pada nilai potensial sekitar +1.0 V dan +1.3 V, secara berturut-turut.

Beberapa penyelidikan juga menggunakan mediator redoks seperti $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ untuk meningkatkan sensitivitas deteksi melalui peningkatan transfer elektron antara guanin dan elektroda. Mediator ini teroksidasi terlebih dahulu menjadi $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{3+}$ di bawah potensial tertentu, kemudian direduksi oleh keberadaan guanin dalam target DNA sebelum akhirnya teroksidasi kembali di elektroda, membentuk siklus elektrokatalitik. Sinyal arus oksidasi $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ yang diperoleh dapat mencerminkan jumlah guanin yang tersedia dalam target DNA.

Keuntungan utama dari metode ini adalah prosedur yang sederhana dan cepat, tanpa memerlukan penggunaan indikator hibridisasi. Namun, terdapat tantangan tersendiri diantaranya

kebutuhan akan potensial tinggi untuk mendeteksi sinyal oksidasi guanin dan kemungkinan adanya sinyal latar belakang yang tinggi karena adsorpsi non-spesifik dari target DNA (Rashid & Yusof, 2017).

2) Deteksi DNA Elektrokimia Berbasis Label

Metode tidak langsung atau berbasis label untuk deteksi hibridisasi DNA umumnya didasarkan pada inkorporasi indikator yang aktif secara redoks, enzim, atau nanopartikel ke dalam urutan DNA atau DNA yang telah terhibridisasi untuk menghasilkan sinyal elektrokimia.

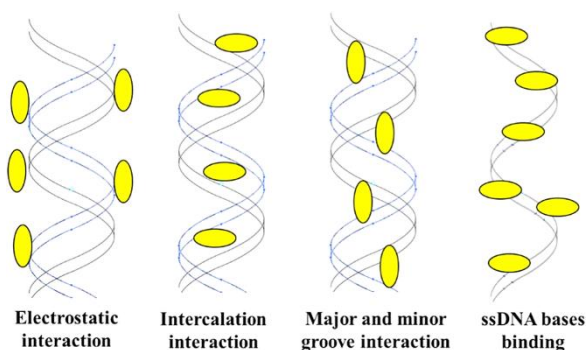
1) Deteksi Elektrokimia Berbasis Indikator Aktif Redoks

Penggunaan indikator aktif redoks pada permukaan DNA adalah cara paling umum untuk memonitor hibridisasi DNA melalui metode elektrokimia. Strategi deteksi ini melibatkan perendaman elektroda yang dimodifikasi dengan DNA terhibridisasi ke dalam larutan penyangga yang mengandung indikator aktif redoks untuk jangka waktu tertentu, sehingga memungkinkan interaksi antara DNA dan molekul indikator redoks. Akumulasi yang lebih tinggi dari indikator redoks pada permukaan DNA, baik probe DNA maupun target, akan menghasilkan respons elektrokimia yang tinggi. Perubahan dalam respons elektrokimia antara

probe DNA dan target menjadi kunci dalam deteksi DNA elektrokimia berbasis label.

Penting untuk dicatat bahwa indikator aktif redoks yang berkualitas baik harus mampu berinteraksi dengan afinitas yang berbeda terhadap DNA untai tunggal (ssDNA) dan DNA untai ganda (dsDNA), yang pada gilirannya menghasilkan variasi sinyal elektrokimia sebelum dan setelah hibridisasi. Selain itu, indikator aktif redoks harus memiliki reversibilitas tinggi dalam transfer elektron pada potensial rendah yang kompatibel dengan respons voltametri, serta memiliki selektivitas dan sensitivitas yang tinggi.

Molekul-molekul aktif redoks dapat terikat pada permukaan DNA melalui berbagai mode interaksi, seperti elektrostatik, interkalasi, ikatan alur, dan afinitas khusus terhadap urutan DNA tertentu (Gambar 7.10) (Rashid & Yusof, 2017). Contohnya, kompleks logam kationik $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ berinteraksi dengan tulang punggung fosfat DNA terhibridisasi melalui interaksi elektrostatik, mencerminkan jumlah DNA pada elektroda. Di sisi lain, indikator redoks seperti $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ menunjukkan respons elektrokimia yang lebih tinggi pada elektroda tanpa DNA dan lebih rendah setelah hibridisasi, karena tolakan elektrostatik antara fosfat DNA dan $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$.



Gambar 7. 10 Tipe Pengikatan Indikator Redoks Pada Permukaan DNA (Rashid & Yusof, 2017).

Indikator hibridisasi seperti daunomisin, doxorubicin, $\text{Os}(\text{bpy})_2\text{Cl}_2$, $\text{Co}(\text{phen})_3^{3+}$, dan etidium bromida menunjukkan afinitas tinggi terhadap struktur dsDNA melalui interkalasi atau ikatan dengan pasangan basa G-C. Beberapa indikator, seperti hoechst 33258 dan ferrocene, mengikat pada alur minor dan mayor dsDNA. Namun, beberapa interkalator redoks yang umum memiliki toksisitas tinggi dan biaya mahal, mendorong pengembangan interkalator baru yang lebih ramah lingkungan dan ekonomis, diantaranya yaitu kompleks tembaga polipiridil sintetis ($\text{Cu}(\text{bpy})(\text{MBZ})_2(\text{H}_2\text{O})$) (Rashid & Yusof, 2017).

Studi terbaru menunjukkan bahwa pengembangan interkalator baru berupa derivatif antrakuinon, menawarkan stabilitas kimia dan diskriminasi yang baik antara DNA komplementer dan tidak

komplementer, menjanjikan untuk aplikasi biosensor DNA elektrokimia yang lebih efektif.

Baru-baru ini, penggunaan metilen blue (MB), pewarna fenotiazin menjadi pilihan alternatif yang cukup populer sebagai indikator hibridisasi redoks untuk deteksi DNA elektrokimia (Rashid & Yusof, 2017). Penggunaan MB ini memiliki beberapa keunggulan, meliputi diskriminasi tinggi terhadap afinitas pengikatan antara ssDNA dan dsDNA, potensial yang diperlukan rendah sekitar 0.1 – 0.4 V, sintesis MB yang murah, dan ramah lingkungan. Penggunaan MB sebagai indikator hibridisasi redoks telah berhasil ditunjukkan oleh Erdem *et al.* (2000), yang menyoroti bahwa respons arus MB akan lebih tinggi pada elektroda pasta karbon (*Carbon Paste Electrode*) atau CPE yang dimodifikasi dengan ssDNA dibandingkan dengan CPE yang dimodifikasi dengan dsDNA. Dalam hal ini, disimpulkan bahwa MB menunjukkan afinitas tinggi terhadap basa guanin bebas pada ssDNA daripada basa guanin setelah hibridisasi disebabkan pembentukan DNA duplikat menimbulkan respons arus yang rendah. Selain interaksi MB-guanin, MB dapat mengikat permukaan DNA terhibridisasi melalui interaksi elektrostatik dengan kelompok fosfat bermuatan negatif dari DNA atau interaksi interkalatif antara pasangan basa G-C (Rashid & Yusof, 2017).

Metode indikator aktif redoks lainnya adalah penggunaan probe DNA yang dilabeli dengan redoks ditandai dengan adanya perubahan konformasi MB atau ferrocene yang dapat mempengaruhi efisiensi transfer elektron ke dan dari permukaan elektroda selama proses hibridisasi DNA. Salah satu contoh pendekatan ini telah ditunjukkan oleh Kang *et al.* (2009) yang berhasil mengimobilisasi probe DNA dengan 32 basa tiol pada permukaan elektroda emas melalui teknik SAM. Pada kondisi tanpa target DNA, jarak label MB memiliki kedekatan cukup tinggi dengan permukaan elektroda emas yang mengarah pada efisiensi transfer elektron yang tinggi. Namun, pembentukan DNA duplikat selama hibridisasi mengakibatkan peningkatan jarak antara label MB dan permukaan elektroda emas sehingga mengurangi respons elektrokimia. Hal ini dapat digunakan sebagai acuan dalam mendeteksi DNA. Dengan demikian, dapat dikatakan bahwa penggunaan probe sinyal molekuler berlabel redoks cukup efektif memudahkan proses deteksi DNA secara elektrokimia.

3) Deteksi Elektrokimia Berbasis Label Enzim

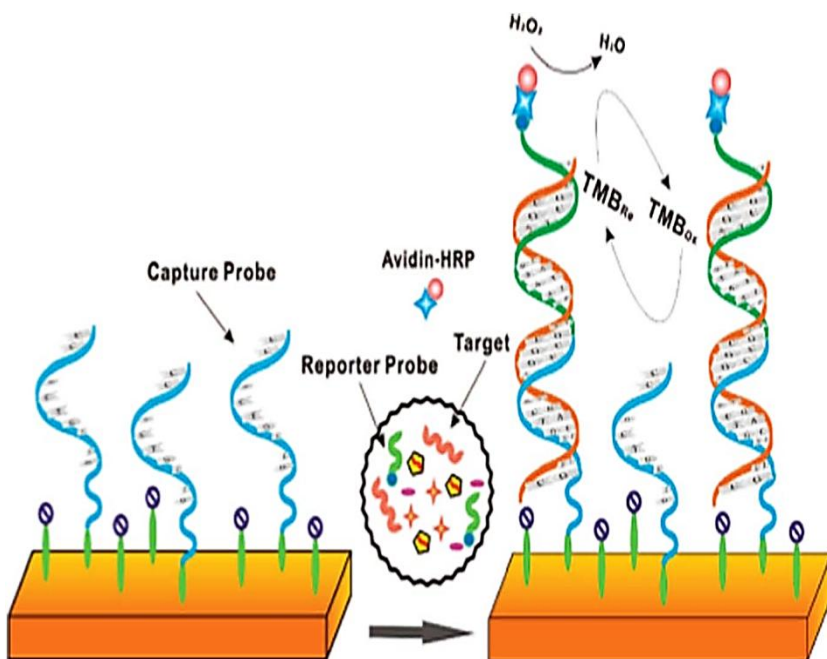
Penggunaan enzim sebagai label dalam deteksi DNA secara elektrokimia sangat populer karena mampu memperkuat sinyal elektrokimia, sehingga meningkatkan sensitivitas biosensor DNA.

Dalam pendekatan ini, probe DNA atau target biasanya diikat dengan enzim yang aktif secara redoks seperti horseradish peroxidase (HRP), alkaline phosphatase (AP), dan glucose oxidase (GOD). Ikatan antara enzim dan label dilakukan melalui interaksi biotin-avidin/streptavidin, ikatan kovalen, atau interaksi antibodi/anti-antibodi.

Metode deteksi hibridisasi DNA sandwich sering digunakan, biasanya ditandai adanya reaksi ko-hibridisasi antara target DNA dengan probe DNA yang diimobilisasi dan probe enzim pelapor (reporter). Kehadiran enzim aktif redoks pada permukaan elektroda memungkinkan enzim mengkatalisis substrat spesifik yang tidak aktif secara elektro menjadi produk yang aktif secara elektro, menghasilkan sinyal elektrokimia. Sebaliknya, tanpa target DNA, sinyal elektrokimia teredam karena tidak adanya enzim aktif redoks pada permukaan elektroda.

Sebagai contoh, penggunaan probe DNA yang ditioalkan dengan oligo (ethylene glycol) (OEG) yang dirakit sendiri pada permukaan elektroda emas, diikuti inkubasi dengan campuran target DNA dan probe pelapor yang dilabeli biotin dapat membentuk hibridisasi sandwich. Kehadiran label biotin pada permukaan elektroda memungkinkan fungsionalisasi dengan HRP melalui ikatan biotin-avidin yang kuat. Sinyal elektrokimia selanjutnya

dihasilkan dari reaksi katalitik HRP yang mengurangi H_2O_2 dengan adanya 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) sebagai mediator redoks (Gambar 7.11).



Gambar 7. 11 Hibridisasi Sandwich Berbasis Label HRP dalam Deteksi Elektrokimia (Rashid & Yusof, 2017).

Penggunaan Pt/Pd *nanowires* sebagai *nanocarriers* untuk probe sekunder, HRP, dan thionine (Thi) juga diketahui dapat meningkatkan sinyal elektrokatalitik. Setelah hibridisasi, biokonjugat ini berko-hibridisasi dengan urutan target DNA bebas, dan Pt/Pd NWs meningkatkan reaksi redoks thionine.

Penyelidikan lain menemukan bahwa pemanfaatan nanotube karbon yang ditandai dengan HRP dapat memediasi deteksi ultrasensitif gen kanker leukemia. Penambahan substrat baru yang mengandung 3-indoxyl phosphate (3-IP) dan ion perak mampu meningkatkan reaksi enzimatik yang dikatalisis oleh alkaline phosphatase dan menghasilkan sebuah produk berupa produk biru indigo. Produk ini selanjutnya akan mengurangi ion perak menjadi perak logam (metalik) yang diukur secara elektrokimia dengan anodic stripping voltammetry (ASV).

Penggunaan GOD (Glucose oxidase) sebagai label enzim dalam studi lain, menggabungkan polimer redoks osmium bipyridine untuk meningkatkan oksidasi elektrokatalitik glukosa menggunakan probe DNA berbentuk loop yang dilabeli dengan HRP dan digoxigenin (DIG) untuk mendeteksi DNA elektrokimia. Tanpa target DNA, probe DNA berbentuk loop berada dalam konfigurasi 'tertutup' untuk berinteraksi dengan konjugat anti-DIG-HRP, sementara kehadiran target DNA menginduksi konfigurasi loop terbuka, memperkuat respons elektrokimia.

Namun, biaya produksi enzim yang tinggi dan masalah stabilisasi enzim dalam sistem elektrokimia merupakan kelemahan dari pendekatan deteksi ini (Rashid & Yusof, 2017).

4) Deteksi Elektrokimia Berbasis Label Nanopartikel

Deteksi DNA berbasis label nanopartikel secara elektrokimia dapat dilakukan melalui dua strategi utama, meliputi oksidasi langsung nanopartikel pada permukaan elektroda dan pelarutan nanopartikel dengan perlakuan oksidatif diikuti oleh pengukuran *anodic stripping voltammetry* (ASV). Nanopartikel emas (Au) dan perak (Ag) sering digunakan dalam pendekatan ini.

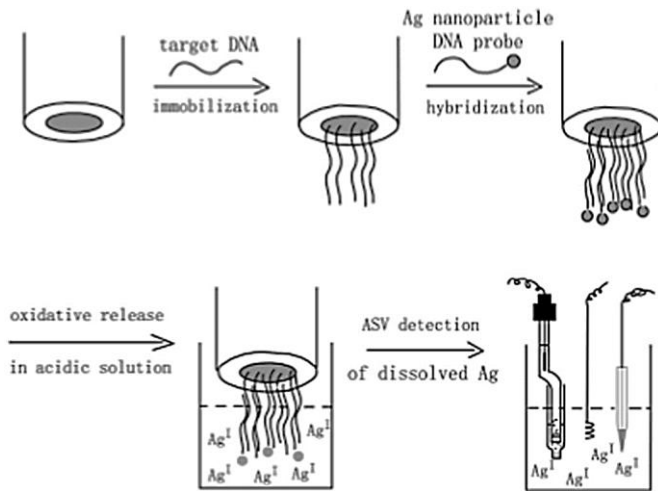
Dalam sebuah penyelidikan, imobilisasi target DNA dilakukan terhadap elektroda grafit pensil (*pencil graphite electrode* (PGE)) melalui ikatan amida, kemudian dilanjutkan proses hibridisasi probe DNA melalui pelabelan nanopartikel Au. Kehadiran target DNA komplementer akan menghasilkan sinyal oksidasi pada +1.20 V dalam buffer TBS, dan tidak ada sinyal oksidasi yang terdeteksi pada target DNA non-komplementer. Selain Au, nanopartikel Ag juga dapat diaplikasikan sebagai label pelapor dalam hibridisasi DNA sandwich. Pembentukan sandwich hibridisasi DNA dengan nanopartikel Ag yang terlokalisasi pada permukaan elektroda menghasilkan kinetika transfer muatan yang baik, dengan puncak oksidasi muncul pada +0.24 V dalam buffer fosfat.

Untuk meningkatkan sensitivitas deteksi berbasis nanopartikel Ag, label agregasi nanopartikel Ag dikembangkan

untuk meningkatkan jumlah nanopartikel yang termuat pada permukaan elektroda. Penggunaan label agregat nanopartikel Ag menghasilkan sinyal puncak oksidasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan penggunaan satu nanopartikel Ag.

Selain Au dan Ag, nanopartikel magnetik aktif secara elektrik (*electrically active magnetic* (EAM)) juga dieksplorasi untuk deteksi hibridisasi DNA gen tertentu. Kehadiran DNA komplementer menyebabkan nanopartikel ini mengalami reaksi redoks pada potensial tertentu, menghasilkan puncak yang terdefinisi dengan baik.

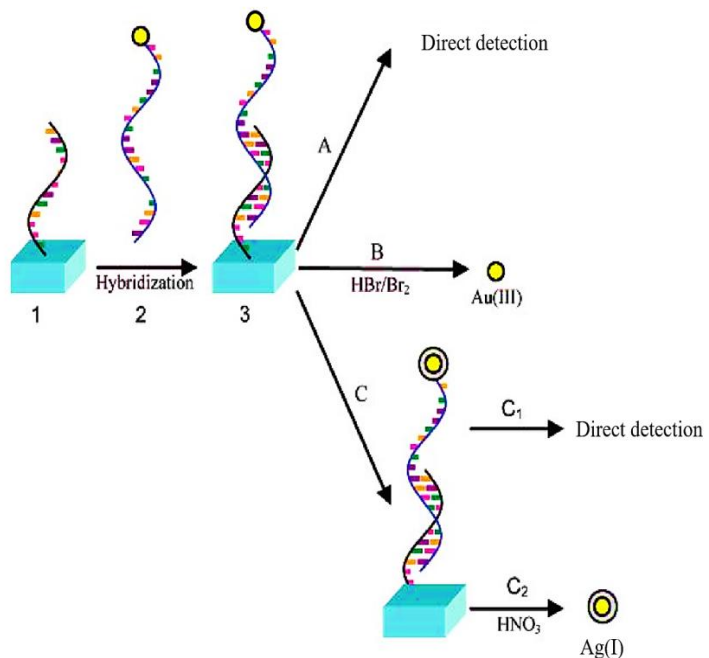
Pendekatan lain menunjukkan deteksi label nanopartikel tidak langsung melalui pengukuran ASV dari pelarutan nanopartikel yang terikat pada DNA terhibridisasi. Dalam metode ini, elektroda kaca karbon yang difungsionalisasi target DNA direndam dalam larutan yang mengandung probe DNA berlabel nanopartikel Ag untuk hibridisasi, diikuti dengan perlakuan asam nitrat (HNO_3) untuk melarutkan ion Ag ke dalam larutan yang kemudian dideteksi secara elektrokimia oleh ASV. Tanpa target DNA, tidak ada sinyal ASV yang teramati karena tidak terjadi pelarutan nanopartikel. Hasilnya menunjukkan bahwa sinyal ASV dari ion Ag yang larut dari label nanopartikel Ag lebih tinggi dibandingkan dengan penggunaan label nanopartikel Au (Gambar 7.12) (Rashid & Yusof, 2017).



Gambar 7. 12 Deteksi Tidak Langsung dari Hibridisasi DNA Melalui Teknik ASV Berbasis Label Nanopartikel Ag (Rashid & Yusof, 2017).

Baru-baru ini, pendeteksian DNA genomik juga berhasil dilakukan melalui ASV menggunakan nanopartikel Au yang terkonjugasi dengan nanomaterial lain. Dalam metode ini, DNA yang terhibridisasi dan terkonjugasi dengan mikrosfer lateks nanopartikel Au diberi perlakuan dengan larutan tertentu misalnya larutan HBr/ Br_2 untuk mengoksidasi nanopartikel Au menjadi ion Au^{3+} . Hal ini sejalan dengan yang dikemukakan oleh Sassolas *et al.* (2008) bahwa hibridisasi dapat dilakukan antara untai DNA yang diimobilisasi dengan target DNA yang telah diberi label nanopartikel Au, dapat menghasilkan dupleks DNA berlabel Au kemudian dideteksi menggunakan beberapa strategi seperti deteksi langsung nanopartikel Au

pada elektroda tanpa pelapis, pelarutan nanopartikel Au menggunakan perlakuan HBr/Br_2 diikuti dengan deteksi menggunakan teknik stripping, dan peningkatan sinyal Ag misalnya deteksi langsung nanopartikel yang dilapisi dengan Ag, dan nanopartikel Au yang dilapisi Ag dilarutkan dengan perlakuan HNO_3 , kemudian dideteksi menggunakan teknik stripping potensiometrik dan voltammetrik (Gambar 7.13).



Gambar 7. 13 Deteksi Elektrokimia DNA Menggunakan Label Nanopartikel Au (Sassolas *et al.*, 2008).

Namun, pendekatan ini memiliki kelemahan seperti langkah uji yang rumit, masalah reproduksibilitas dan ketahanan, serta potensi kerusakan sampel. Secara garis besar, teknik imobilisasi probe DNA untuk deteksi DNA secara elektrokimia akan bervariasi tergantung pada matriks imobilisasi DNA yang digunakan. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 7.1 berikut.

Tabel 7. 1 Teknik Imobilisasi Probe DNA untuk Deteksi DNA Secara Elektrokimia

DNA immobilization matrix	DNA probe immobilization technique	Chemical Interaction	DNA probes modification	
Chitosan	Adsorption	Electrostatic adsorption	No modification	
Poly-L-lysine (PLL)				
Polypyrrole (PPy)				
Polyaniline				
Polyethyleneimine	Covalent	Electrochemical adsorption	Thiol group Amines group	
Bare electrode				
Polypyrrole (PPy)				
Bare gold electrode				
Graphene oxide/CNT		Au-S bond		
PEDOT-PSS/AgNPs		Amide bond		
PICA/ZnO				
Gold electrode				
Chitosan				
Graphene oxide/Fe ₃ O ₄ /chitosan				
Fe ₃ O ₄ /chitosan				
Nanoporous SnO ₂ film				
4-Aminobenzenesulfonic				
Poly (m-aminobenzenesulfonic acid)/TiO ₂ nanosheet membranes				
Eriochrome black T (pEBT)				
Silicon nitride nanopores				
Morpholino/silicon chip				
Gold electrode	Non-covalent: avidin/streptavidin-biotin	Avidin-Biotin interaction	Biotin-modified DNA probes	
CNT				
Poly (pyrrole-biotin)		Streptavidin-biotin interaction		
Scopoletin				

7.2 Deteksi DNA Gravimetrik

1) Sensor *Quartz Crystal Microbalance* (QCM)

QCM adalah sensor yang sensitif terhadap perubahan massa pada permukaan sensor. QCM terdiri dari sebuah cakram kuarsa tipis yang diapit di antara sepasang elektroda. Kuarsa adalah bahan piezoelektrik yang berubah bentuk ketika medan listrik diaplikasikan di antara elektroda. Kristal kuarsa memiliki frekuensi resonansi yang bergantung pada total massa yang berosilasi. Frekuensi ini meningkat seiring dengan peningkatan material pada permukaan QCM. Selain deteksi elektrokimia dan optik DNA, sensor massa juga mampu mendeteksi ODN tanpa label. Teknik ini memungkinkan deteksi hibridisasi DNA tanpa pelabelan dengan mengukur perubahan frekuensi resonansi dari kristal kuarsa akibat penambahan massa DNA.

2) Sensor Mikrokantilever

Sensor mikrokantilever mendeteksi perubahan defleksi dari mikrokantilever akibat penambahan massa DNA pada permukaannya. Teknik ini memungkinkan deteksi tanpa label dengan sensitivitas tinggi. Sensor mikrokantilever menawarkan banyak keunggulan dibandingkan sensor konvensional, seperti deteksi tanpa label, presisi tinggi, keandalan, ukuran yang kecil, kemudahan pembuatan sensor multielemen, dan massa termal yang kecil. Sensor ini bekerja dengan mendeteksi perubahan stres permukaan atau penambahan massa. Interaksi antara ligan yang diimobilisasi (misalnya, probe DNA) dan analit (misalnya, DNA target) menyebabkan perubahan stres permukaan kantilever dan dapat dideteksi sebagai perubahan defleksi kantilever (Δx).

3) Teknologi Mikroarray DNA dan Implikasinya

Teknologi mikroarray DNA telah berkembang pesat, mengarah pada peningkatan deteksi sinyal dengan pengenalan target DNA komplementer serta metodologi yang lebih cepat dan murah. Pelacakan sinyal berbasis teknik pencitraan memungkinkan pengembangan spektroskopi, fotonik, dan nanofotonik, meningkatkan sensitivitas, presisi, dan akurasi deteksi DNA. Sintesis oligonukleotida padat menggunakan fotoresist semikonduktor memungkinkan deteksi DNA target berlabel fluoresensi, menunjukkan pemetaan akurat dari hotspot fluoresensi (Bracamonte, 2022).

Mikroarray DNA didefinisikan sebagai sebuah instrumen bioteknologi yang digunakan untuk mendeteksi perubahan pada DNA genomik dan mRNA serta memantau gen dan ekspresinya yang berkaitan dengan berbagai fungsi khususnya berkaitan dengan penerapannya secara luas dalam berbagai industri dan penelitian. Teknologi mikroarray DNA ini memungkinkan pemantauan ekspresi banyak gen secara kuantitatif dan simultan yang lebih signifikan (Berhanu & Dula, 2020).

Mikroarray DNA terbuat dari kaca, plastik, atau substrat silikon dan terdiri dari puluhan hingga ribuan zona reaksi berukuran 10-100 μm dengan urutan oligonukleotida individu yang telah diimobilisasi. Jumlah pasti probe DNA bervariasi sesuai dengan aplikasi. Berbeda dengan biosensor DNA yang memungkinkan pengukuran tunggal, mikroarray DNA memungkinkan deteksi paralel ganda dan analisis pola ekspresi ribuan gen dalam satu eksperimen (Sassolas *et al.*, 2008).

Sejak awal pengembangan teknologi ini, ada diskusi tentang implikasi dan masa depannya dalam ilmu kehidupan. Ini berpotensi berdampak besar pada

kesehatan manusia melalui akuisisi materi genomik yang akurat untuk aplikasi kedokteran presisi. Penggunaan mikroarray dengan kepadatan tinggi untuk menghibridisasi untaian DNA target dievaluasi untuk mengidentifikasi modifikasi basa individu. Proyek genom manusia didasarkan pada berbagai metodologi sekuensing. Awalnya, metode yang memakan waktu lama dikembangkan oleh Gilbert dan Maxam, kemudian Sanger mengembangkan teknik yang lebih cepat dan efisien. Teknik mikroarray DNA yang dikembangkan Sanger ini melibatkan enzim DNA polimerase yang dimurnikan untuk mensintesis rantai DNA dengan panjang yang bervariasi, dikombinasikan dengan elektroforesis tabung kapiler untuk pemisahan dengan resolusi nukleotida tunggal. Metode ini menggunakan dideoksinukleotida trifosfat (ddNTP) yang menghambat perpanjangan rantai lebih lanjut ketika dimasukkan ke dalam rantai yang sedang tumbuh.

Bracamonte (2022) mengemukakan bahwa meskipun teknologi mikroarray menawarkan banyak keuntungan, adapula beberapa keterbatasan yang perlu diperhatikan antara lain sebagai berikut:

1. Pembentukan pustaka DNA representatif yang masih sulit
2. Keberadaan sinyal non linear yang dapat mempengaruhi kuantifikasi
3. Agregasi oligonukleotida yang mengganggu deteksi
4. Spesifisitas hibridisasi
5. Kesulitan dalam merekam dan menginterpretasikan sinyal
6. Tidak dapat mendeteksi urutan yang tidak tergraft pada permukaan mikroarray

Meskipun memiliki beberapa keterbatasan di atas, namun banyak perbaikan yang telah dilakukan melalui pendekatan baru dalam fabrikasi array. Kombinasi teknologi nanofotonik dan spektroskopi yang maju terus meningkatkan resolusi pencitraan dan sensitivitas deteksi DNA, menjadikan teknologi ini tetap relevan dan penting dalam berbagai aplikasi ilmiah dan medis. Berbagai aplikasi teknologi mikroarray DNA meliputi diagnosis penyakit, penemuan dan pengembangan obat, penelitian toksikologi, imunologi, deteksi dan identifikasi mikroba, genomik komparatif, pengetikan mikroba, dan penentuan faktor virulensi.

a) Prinsip Dasar dan Langkah-langkah Teknik Mikroarray DNA

Prinsip dasar mikroarray DNA adalah hibridisasi untaian asam nukleat. Asam nukleat komplementer berikatan satu sama lain melalui ikatan hidrogen antara pasangan basa nukleotida komplementer. Dalam proses ini, sampel diwarnai menggunakan pewarna fluoresen, dan setidaknya dua sampel ditempatkan pada chip. Urutan asam nukleat komplementer antara sampel dan probe yang dihibridisasi pada chip akan berpasangan melalui ikatan hidrogen. Urutan yang tidak berikatan secara spesifik akan tetap tidak terikat dan dihilangkan selama langkah pencucian dalam proses ini. Urutan target yang diberi label fluoresen akan berikatan dengan urutan probe dan menghasilkan sinyal. Sinyal tersebut bergantung pada kondisi hibridisasi (misalnya, suhu) dan pencucian setelah hibridisasi, sementara kekuatan total sinyal bergantung pada jumlah sampel target yang ada (Berhanu & Dula, 2020).

Prosedur umum meliputi pengumpulan sampel, isolasi mRNA, pembuatan cDNA berlabel, hibridisasi, serta pengumpulan dan analisis data. Bahan yang dibutuhkan antara lain chip DNA, sampel target (berlabel

fluoresen), pewarna fluoresen, probe, dan pemindai. Penjelasan lebih lanjut mengenai langkah-langkah dasar dalam teknik mikroarray DNA didasarkan pada teori konseptual yang dikemukakan oleh Berhanu & Dula (2020), antara lain sebagai berikut:

1. *Pengumpulan Sampel.* Mengumpulkan sampel biologis yang akan dianalisis.
2. *Isolasi mRNA.* Mengisolasi mRNA dari sampel untuk fokus pada ekspresi gen.
3. *Pembuatan cDNA Berlabel.* Menggunakan enzim reverse transcriptase untuk mengubah mRNA menjadi cDNA, yang kemudian diberi label dengan pewarna fluoresen.
4. *Hibridisasi.* cDNA berlabel ini kemudian ditempatkan pada chip DNA yang mengandung probe spesifik. Untaian cDNA akan berikatan dengan probe komplementer pada chip.
5. *Pencucian.* Setelah hibridisasi, chip dicuci untuk menghilangkan untaian yang tidak berikatan secara spesifik.
6. *Pengumpulan dan Analisis Data.* Chip kemudian dipindai menggunakan pemindai fluoresen untuk mendeteksi sinyal yang dihasilkan dari hibridisasi. Sinyal ini dianalisis untuk menentukan jumlah dan jenis gen yang diekspresikan dalam sampel.

Melalui pengaplikasian teknik mikroarray DNA tersebut, memungkinkan para ilmuwan untuk menganalisis ekspresi ribuan gen secara simultan, memberikan wawasan penting dalam berbagai bidang penelitian, termasuk diagnosis penyakit, penemuan obat, dan studi genetika.

b) Jenis-jenis Mikroarray DNA

Terdapat dua jenis mikroarray DNA, yaitu mikroarray oligonukleotida dan mikroarray DNA komplementer (complementary cDNA (cDNA)). Kedua jenis mikroarray ini bergantung pada pemasangan atau komplementaritas basa dan menunjukkan kelimpahan transkrip. Selalu ada dua sampel mRNA yang disiapkan, yaitu sampel kontrol dan sampel eksperimental. Sampel mRNA ini diubah menjadi cDNA dengan menggunakan enzim reverse transcriptase dan diberi label dengan fluorofor, perak, atau kemiluminesensi (Berhanu & Dula, 2020). Mikroarray DNA bergantung pada hibridisasi (penggabungan) dan pemasangan untai DNA melalui ikatan hidrogen yang kuat. Sinyal akhir bergantung pada urutan tingkatan yang membentuk interaksi ikatan yang kuat.

1) Mikroarray cDNA

Mikroarray cDNA memiliki fragmen DNA panjang (dari 100 hingga ribuan pasangan basa). Mikroarray cDNA dibentuk dengan cara menempatkan sampel klon cDNA yang dipilih secara robotik pada penyangga padat. Beberapa prinsip dasar dalam persiapan mikroarray cDNA meliputi:

1. *Pemilihan Target.* Memilih target yang akan ditempelkan pada array dari basis data seperti Gene Bank, dbEST, dan UniGene atau dari perpustakaan gen yang diinginkan.
2. *Penataan cDNA.* Menempatkan target cDNA yang dipilih pada lokasi tertentu pada slide mikroskop kaca yang dilapisi menggunakan robot berkecepatan tinggi berbasis komputer.
3. *Pelabelan Fluoresen.* Melabeli total RNA dari sampel uji dan sampel kontrol menggunakan

pewarna fluoresen dalam satu putaran transkripsi balik.

4. *Hibridisasi*. Menggabungkan target fluoresen untuk hibridisasi di bawah kondisi yang ketat.
5. *Pengukuran Sinyal*. Mengukur target yang terinkorporasi dengan laser menggunakan mikroskop laser konfokal pemindai.
6. *Analisis Gambar*. Menganalisis gambar dari pemindai dengan mengimpor ke perangkat lunak di mana gambar tersebut diwarnai semu dan digabungkan.

Secara umum, dapat dikatakan bahwa pada mikroarray cDNA, setelah sampel RNA dari berbagai sumber (misalnya, sampel uji dan kontrol) dikonversi menjadi cDNA dan diberi label dengan pewarna fluoresen, kedua sampel ini kemudian dicampur bersama. Campuran ini kemudian ditempatkan pada mikroarray, yang telah dilengkapi dengan probe DNA untuk berikatan dengan urutan komplementer dari cDNA yang ada dalam campuran. Dengan demikian, mikroarray memungkinkan untuk melihat seberapa banyak jenis gen yang diekspresikan dalam sampel tersebut, didasarkan pada sinyal fluoresen yang dihasilkan dari hibridisasi antara cDNA yang berlabel dan probe pada chip (Berhanu & Dula, 2020).

➤ Proses Persiapan dan Pencetakan

Assay mikroarray cDNA umumnya dibuat di atas bahan padat, misalnya slide mikroskop kaca. Untuk meningkatkan penempelan probe dan mengurangi latar belakang berupa sinyal atau fluoresensi yang muncul di luar sinyal yang diinginkan dari proses hibridisasi antara cDNA

yang berlabel dengan probe pada chip mikroarray, serta membatasi penyebaran tetesan (droplet) larutan selama proses pencetakan, maka slide perlu dilapisi terlebih dahulu dengan bahan seperti polilisin atau amino silan untuk meningkatkan sensitivitas dan ketepatan dalam mendeteksi sinyal yang berasal dari hibridisasi spesifik antara cDNA yang berlabel dengan probe yang terpasang pada mikroarray. Teknik pencetakan yang dapat digunakan dalam mikroarray cDNA diantaranya yaitu pencetakan kontak dan pencetakan non-kontak.

Dalam teknik pencetakan kontak, baik pin padat maupun pin dengan ujung yang terbagi, keduanya dicelupkan ke dalam larutan DNA kemudian tetesan mikro ditempatkan pada permukaan padat array. Metode ini menggunakan sistem kontrol gerak yang menempatkan atau mencetak jumlah probe sampel secara akurat pada banyak permukaan dalam satu operasi. Teknik ini biasanya digunakan untuk membuat tetesan sub-nanoliter dengan jarak 100-250 mm (Berhanu & Dula, 2020).

➤ Persiapan Probe

Produksi mikroarray cDNA dimulai dengan pemilihan probe yang sesuai untuk digunakan. Secara umum, probe fluoresen dibuat untuk menempel pada mikroarray. Probe ini dapat diperoleh dari mRNA yang diekstraksi dari sel atau jaringan yang akan diteliti. Berdasarkan karakter kunci, mRNA yang dibutuhkan dapat dipisahkan dan diperoleh dari sel atau jaringan

yang diminati. mRNA yang diperoleh ini kemudian digunakan untuk membuat DNA komplementer (cDNA) dengan menggunakan enzim yang dikenal sebagai reverse transcriptase.

Setelah cDNA disintesis, cDNA tersebut diberi label dengan memasukkan nukleotida fluoresen atau radioaktif ke dalam DNA. Dua sampel dengan perilaku yang berbeda diberi warna atau label yang berbeda menggunakan pewarna fluoresen, misalnya, Cy3 (merah) atau Cy5 (hijau). Selanjutnya, campuran cDNA yang telah diberi label ini ditempelkan pada slide kaca mikroarray atau chip DNA. Campuran cDNA yang diberi label berbeda memungkinkan pengukuran rasio fluoresensi, yang membantu mengatasi sebagian besar masalah kinetika hibridisasi serta memungkinkan analisis ekspresi gen secara akurat dan efisien (Berhanu & Dula, 2020).

2) Mikroarray Oligonukleotida

Mikroarray oligonukleotida atau chip DNA adalah perangkat analitik paralel kecil yang mengandung pustaka oligonukleotida yang dipasang secara robotik atau disintesis in situ pada penyangga padat (kaca, kaca berlapis, silikon, atau plastik) sedemikian rupa sehingga karakteristik setiap oligonukleotida ditentukan oleh posisinya. Mikroarray oligonukleotida memiliki fragmen DNA pendek, biasanya terdiri dari 25 pasangan basa. Salah satu mikroarray oligonukleotida komersial yang ada adalah Gene Chips yang dibuat oleh perusahaan seperti Affymetrix. Secara tradisional, *Affymetrix Gene Chip Arrays* dibuat sebagai satu

array yang ditempatkan dalam cartridge dengan substrat kaca.

Teknologi oligonukleotida yang dipelopori oleh Affymetrix Gene Chips berbeda dari mikroarray cDNA dalam dua aspek utama. Pertama, probe terdiri dari serangkaian 20-25 oligonukleotida pendek yang spesifik untuk setiap gen atau ekson, termasuk oligonukleotida dengan satu kesalahan basa yang ditempatkan di posisi tengah setiap oligonukleotida. Oligonukleotida ini disintesis *in situ* pada setiap chip silikon menggunakan informasi urutan genom untuk mengarahkan deposisi fotolitografik. Kedua, array ini terhubung dengan satu sampel RNA teramplifikasi yang diberi label biotin, dan kekuatan sinyal untuk setiap gen ditentukan oleh perbedaan antara pengukuran yang sesuai (*match*) dan yang tidak sesuai (*mismatch*), serta rata-rata pengukuran di setiap oligonukleotida yang dihitung secara komprehensif (Berhanu & Dula, 2020).

c) Desain DNA Mikroarray

Desain DNA mikroarray merupakan tantangan kombinatorial yang kompleks dalam mengatur probe untuk meminimalkan kemungkinan cacat dan mengurangi kompleksitas penggunaan penanda (*marker*) selama produksi. DNA mikroarray dapat diproduksi dengan mencetak probe pada substrat kaca atau plastik. Awalnya, mikroarray memiliki titik-titik kosong dengan probe yang dicetak melalui penambahan nukleobasa satu per satu hingga semua probe terbentuk. Meskipun satu probe sebenarnya terdiri dari banyak salinan molekul DNA untai tunggal yang sama pada satu titik tertentu, lebih mudah membayangkan probe sebagai satu molekul DNA untai tunggal.

Marker fotolitografi digunakan untuk memilih titik-titik tempat nukleobasa yang diinginkan akan ditambahkan. Dengan satu marker, hanya satu jenis nukleobasa sitosin (C), guanin (G), adenin (A), atau timin (T) yang dapat ditempatkan pada titik-titik yang tidak tertutup marker. Pada titik lainnya di mikroarray, nukleobasa tidak ditempatkan. Proses ini dilanjutkan dengan menggunakan marker yang tepat dalam urutan yang benar hingga semua probe selesai.

Uji DNA mikroarray memerlukan array komersial atau array yang dirancang khusus dan sintesis cDNA berlabel dari setiap sampel RNA. Setelah sampel cDNA ditempatkan pada array, perangkat pemindai (*scanner*) mengambil gambar dan mengukur tingkat fluoresensi dari mikroarray (Berhanu & Dula, 2020).

d) Keterbatasan DNA Mikroarray

Meskipun DNA mikroarray memungkinkan peneliti untuk memeriksa secara serentak ekspresi berbagai jenis gen, teknologi ini memiliki beberapa keterbatasan yang signifikan. Studi telah menunjukkan bahwa meskipun teknologi ini dapat memantau keberadaan dan arah perubahan ekspresi gen dengan baik untuk transkrip yang relatif melimpah, namun sulit untuk mengukur dengan akurat tingkat ekspresi penuh dan mengenali gen dengan kelimpahan rendah. Salah satu masalah utama terletak pada desain atau pemilihan probe yang mungkin tidak optimal, serta anotasi dan persiapan probe yang tidak tepat.

Selain itu, pengaturan translasi gen oleh pengawasan pasca-transkripsi dan modifikasi protein pasca-translasi seperti glikosilasi, asetilasi, proteolisis, dan fosforilasi tidak dapat terdeteksi oleh teknologi ini, yang mengandalkan analisis asam nukleat. Demikian pula, RNA non-koding yang belum diprediksi sebagai

bagian RNA yang diekspresikan biasanya tidak terwakili dalam array, dan array yang dirancang menggunakan informasi genom dari strain referensi dapat melewatkan gen-gen yang signifikan dalam isolat lain dari spesies yang sama, seperti yang terjadi pada *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* yang dapat memiliki perbedaan genetik mencapai 20% antara isolat yang berbeda (Berhanu & Dula, 2020).

DAFTAR PUSTAKA

- Berhanu, G. & Dula, T.I., 2020. Types, importance and limitations of DNA microarray. *Global Journal of Biotechnology & Biochemistry*. 15(2), 25-31.
- Bracamonte, A.G., 2022. Microarrays towards nanoarrays and the future Next Generation of Sequencing methodologies (NGS). *Sensing and Bio-Sensing Research*. 37, 100503.
- Dong, Y., Yao, C., Zhu, Y., Yang, L., Luo, D., Yang, D. 2020. DNA functional materials assembled from branched DNA: design, synthesis, and applications. *Chemical Reviews*. 120 (17), 9420-9481.
- Erdem, A., Kerman, K., Meric, B., Akarca, U.S., Ozsoz, M., 2000. Novel hybridization indicator methylene blue for the electrochemical detection of short DNA sequences related to the hepatitis B virus. *Analytica Chimica Acta*. 422(2), 139-149.
- Huang, Z., Qiu, L., Zhang, T., Tan, W., 2021. Integrating DNA nanotechnology with aptamers for biological and biomedical applications. *Matter*. 4(2), 461-489.
- Li, C., Wu, D., Hu, X.L., Xiang, Y., Shu, Y.Q., Li, G.X., 2016. One-step modification of electrode surface for ultrasensitive and highly selective detection of nucleic acids with practical applications. *Anal. Chem*. 88 (15), 7583–7590.
- Lin, L., Yi, L., Zhao, F., Wu, Z., Zheng, Y., Li, N., Lin, J.-M., Sun, J., 2020. ATP-responsive mitochondrial probes for monitoring metabolic processes of glioma stem cells in a 3D model. *Chem. Sci*. 11 (10), 2744–2749.
- Liu, W., Duan, H., Zhang, D., Zhang, X., Luo, Q., Xie, T., Yan, H., Peng, L., Hu, Y., Liang, L., Zhao, G., 2021. Concepts and

- Application of DNA Origami and DNA Self-Assembly: A Systematic Review. *Applied Bionics and Biomechanics*. 2021(1), 9112407.
- Kang, D., Zuo, X., Yang, R., Xia, F., Plaxco, K.W., White, R.J., 2009. Comparing the properties of electrochemical-based DNA sensors employing different redox tags. *Analytical chemistry*. 81(21), 9109-9113.
- Khan, S., Burciu, B., Filipe, C.D., Li, Y., Dellinger, K., Didar, T.F., 2021. DNAzyme-based biosensors: Immobilization strategies, applications, and future prospective. *Acs Nano*. 15(9), 13943-13969.
- Rashid, J.I.A. and Yusof, N.A., 2017. The strategies of DNA immobilization and hybridization detection mechanism in the construction of electrochemical DNA sensor: A review. *Sensing and bio-sensing research*. 16, 19-31.
- Sassolas, A., Leca-Bouvier, B.D., Blum, L.J., 2008. DNA biosensors and microarrays. *Chemical reviews*. 108(1), 109-139.
- Wei, Q., Huang, J., Li, J., Wang, J., Yang, X., Liu, J., Wang, K., 2018. A DNA nanowire based localized catalytic hairpin assembly reaction for microRNA imaging in live cells. *Chem. Sci*. 9 (40), 7802-7808.
- Wang, Q., Wang, J., Huang, Y., Du, Y., Zhang, Y., Cui, Y., Kong, D. M., 2022. Development of the DNA-based biosensors for high performance in detection of molecular biomarkers: More rapid, sensitive, and universal. *Biosensors and Bioelectronics*. 197, 113739.
- Yang, L., Li, X., Yan, S., Wang, M., Liu, P., Dong, Y. Zhang, C., 2015. Single-walled carbon nanotubes-carboxyl-functionalized graphene oxide-based electrochemical DNA biosensor for thermolabile hemolysin gene detection. *Analytical Methods*. 7(12), 5303-5310.

Yu, H., Alkhamis, O., Canoura, J., Liu, Y. and Xiao, Y., 2021. Advances and challenges in small-molecule DNA aptamer isolation, characterization, and sensor development. *Angewandte Chemie International Edition*. 60(31), 16800-16823.

BAB 8

PENAMBATAN MOLEKULER (*MOLECULAR DOCKING*)

8.1 Konsep penambatan molekuler

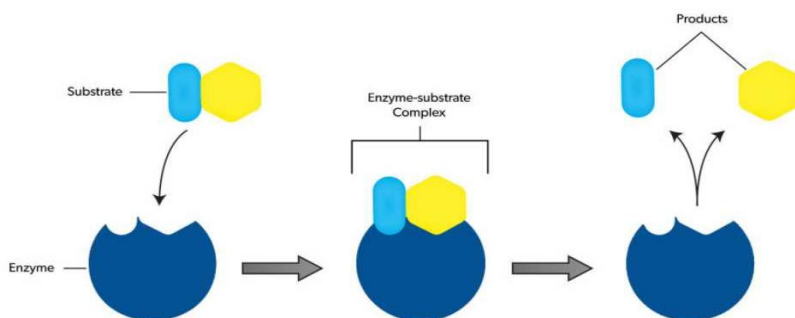
Penambatan molekuler (*molecular docking*) merupakan teknik fundamental dalam bidang kimia komputasi, bioinformatika, dan penemuan obat berbasis struktur. Penambatan molekuler mengintegrasikan pendekatan yang menggabungkan prinsip biokimia, fisika molekuler, dan informatika untuk memahami mekanisme pengikatana, memprediksikan aktivitas biologis, dan merancang kandidat obat yang lebih efektif.

Konsep penambatan molekuler muncul pada era 1970-an ketika ilmuwan memodelkan interaksi protein -ligand menggunakan mekanika molekuler. Tahun 1982, Kuntz memperkenalkan program DOCK yang melakukan pencarian ruang binding berdasarkan celah geometri (shape matching) (A & Va, 2018). Tahun 1990-an, berkembang fungsi penilaian yang lebih akurat memungkinkan docking menjadi lebih efektif dalam prediksi afinitas ikatan, seperti GLICE, AUTODOCK, dan lainnya. Tahun-tahun selanjutnya dalam dekade terakhir terus berkembang program-program docking guna mempermudah dalam perkembangan dunia riset.

8.2 Konsep Pengikatan

Pengikatan protein – ligand bersifat dinamis yang dipengaruhi oleh fleksibilitas ligand dan protein target. Model utama yang sering digunakan untuk menggambarkan mekanisme pengenalan molekuler diantaranya model *lock – key*, *induced fit*, dan *conformational selection*.

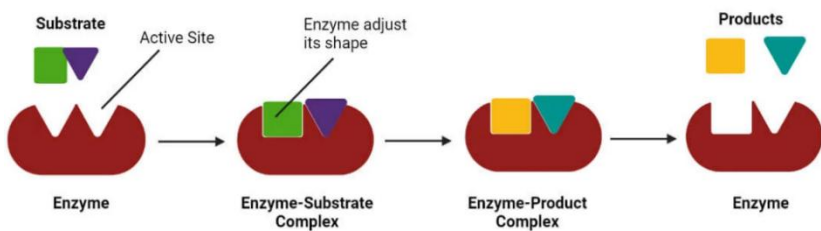
Model lock-key atau dikenal teori gembok kunci, dalam penambatan molekuler pertama kali diusulkan oleh Emil Fischer pada tahun 1890 untuk mengilustrasikan interaksi spesifik antara enzim dan substrat. Dalam model ini bentuk substrat dan enzim harus sama, seperti halnya kunci dan gembok (Gambar 8.2). Model lock-key bersifat kaku, membatasi kemampuan dalam menjelaskan fenomena penghambatan kompetitif atau non-kompetitif, maupun penghambatan allosterik (Kolodziej *et al.*, 2017; Salih Istifli, 2023; Tiwari & Prakash, 2024). Namun, seiring kemajuan dalam pemahaman dinamika molekuler, model "kunci dan gembok" berkembang menjadi fleksibel yang didasari bahwa protein dan ligan selama proses interaksi mengalami perubahan konformasi, sehingga merepresentasikan interaksi biologis yang lebih akurat dan komprehensif (A & Va, 2018).



Gambar 8. 1 Model Lock-key

(Sumber : <https://techschems.com/enzyme-lock-and-key-diagram>)

Tahun 1958, Daniel Koshland memperkenalkan model induced fit yang didasarkan pada teori kecocokan pengikatan ligan dan protein, fleksibilitas ikatan ligan dan protein (Aguiar & Camps, 2024; Astalakshmi *et al.*, 2022). Teori kecocokan terinduksi ini menyempurnakan pemahaman interaksi ligan-reseptor dengan memperhitungkan sifat dinamis struktur protein selama pengikatan (Chen *et al.*, 2023). Algoritma docking awal memperlakukan ligan dan reseptor sebagai entitas rigid, selaras dengan model lock-key, teori induced fit membuka jalan bagi metode komputasi yang lebih canggih yang memperhitungkan fleksibilitas reseptor selama pengikatan ligan (Danao *et al.*, 2023; Göksu *et al.*, 2024). Oleh karena itu, simulasi docking molekuler modern sering kali menggabungkan model ligan fleksibel dan reseptor rigid karena keterbatasan sumber daya komputasi, upaya pengembangan docking diarahkan untuk mengatasi fleksibilitas reseptor guna meningkatkan akurasi dalam prediksi (Feyza Maden *et al.*, 2023). Perkembangan pemahaman ini telah berdampak signifikan pada penemuan obat berbasis struktur, beralih dari representasi statis ke model dinamis yang lebih akurat yang mencerminkan kompleksitas sistem biologis (Azad, 2023).



Gambar 8.2 Model Induced fit

(Sumber : <https://microbenotes.com/enzymes/>)

Model *conformational selection* menyatakan bahwa pada dasarnya ligan memilih konformasi yang paling komplementer (fit) dari serangkaian keadaan yang telah ada sebelumnya, sehingga menggeser kesetimbangan ke arah

kompleks yang terikat (Danao *et al.*, 2023; Mashiach *et al.*, 2010). Mekanisme pemodelan ini berbeda dengan induced-fit, protein tidak mengalami perubahan konformasi baru setelah pengikatan ligan, namun protein native yang distabilkan. Contoh kasus pada model ini yaitu pengikatan glukosa dengan hexokinase, glukosa menginduksi perubahan konformasi enzim untuk mengikat substrat (Feixas *et al.*, 2014).

8.3 Jenis *Docking* Berdasarkan Flexibilitas

Flexibilitas protein dan ligan merupakan faktor penting dalam proses pengikatan biologis. Aplikasi penambatan molekuler berusaha memprediksi orientasi dan afinitas ligan ketika berikatan dengan protein. Namun, representasi flexibilitas struktur berpengaruh terhadap akurasi prediksi. Berdasarkan flexibilitas, docking dibagi menjadi tiga, yaitu rigid, semi-flexible, dan flexible docking (Durrant & McCammon, 2010).

Rigid docking diasumsikan bahwa protein dan ligan bersifat kaku, tidak ada rotasi internal, perubahan konformasi atau flexibilitas sisi protein. Atom penyusun ligan dan protein dianggap dalam posisi tetap, ligan hanya dapat bertranslasi dan berotasi secara keseluruhan, dan sisi pengikatan tidak berubah bentuk. Rigid docking cocok untuk struktur protein yang rigid seperti enzim dengan sisi aktif sempit, skrining senyawa, dan terbatas sumber daya komputasi. Namun demikian, rigid docking memiliki kelemahan yaitu tidak mempertimbangkan perubahan residu pada daerah pengikatan (Aguiar & Camps, 2024; Bitencourt-Ferreira & de Azevedo, 2019).

Semi flexible docking merupakan docking dengan pendekatan ligan flexible dan protein bersifat rigid. Prinsip docking semi flexible yaitu ligan dapat berputar pada ikatan tunggal (*rotatable bond*), bentuk ligan dapat berubah

menyesuaikan sisi protein, residu asam amino tetap pada posisi aslinya. Flexible docking didasari pada kemungkinan perubahan konformasi ligan dan protein selama proses docking, jenis docking ini bersifat dinamis. Fleksibilitas docking diterapkan pada sisi aktif residu protein, backbone protein, *ensemble docking*, dan *induced-fit docking*. Docking jenis flexible sangat cocok untuk studi mekanisme obat terhadap protein target.

8.4 Perangkat Lunak untuk *Docking*

Adapun perangkat lunak yang dapat digunakan pada tabel 8.4.

Tabel 8. 1Perangkat Lunak untuk Penambatan Molekuler

Software	Jenis	Link Resmi
AutoDock 4	Protein-ligand	https://autodock.scripps.edu
AutoDock Vina	Protein-ligand	https://vina.scripps.edu
AutoDock-GPU	Protein-ligand	https://github.com/ccsb-scripps/AutoDock-GPU
DOCK 6	Protein-ligand	https://dock.compbio.ucsf.edu
rDock	Protein-ligand & RNA/DNA	https://github.com/rxdock/rxdock
LeDock	Protein-ligand	http://www.lephar.com
Smina	Protein-ligand	https://sourceforge.net/projects/smina

Software	Jenis	Link Resmi
RosettaLigand	Protein-ligand	https://www.rosettacommons.org
MGLTools	Persiapan docking	https://ccsb.scripps.edu/mgltools
Hex	Protein-protein / Protein-ligand	https://hex.loria.fr
PyRx	GUI Docking (Vina/Sm in)	https://pyrx.sourceforge.io
Schrödinger Glide	Protein-ligand	https://www.schrodinger.com/glide
GOLD (CCDC)	Protein-ligand	https://www.ccdc.cam.ac.uk/solutions/software/gold
MOE (CCG)	SBDD suite	https://www.chemcomp.com
ICM-Pro (Molsoft)	Protein-ligand	https://www.molsoft.com/products.html
Discovery Studio (BIOVIA)	Protein-ligand & PPI	https://www.3ds.com/products-services/biovia
LeadIT (BioSolveIT)	Protein-ligand	https://www.biosolveit.de/LeadIT
Molegro Virtual	Protein-ligand	https://molexus.io/molegro-virtual-docker

Software	Jenis	Link Resmi
Docker (MVD)		
Software	Jenis	Link Resmi
SwissDock	Protein-ligand	http://www.swissdock.ch
DockThor	Protein-ligand	https://dockthor.lncc.br
CB-Dock / CB-Dock2	Protein-ligand	http://cao.labshare.cn/cb-dock
Webina	Protein-ligand	https://durrantlab.pitt.edu/webina
HDOCK	Protein-protein & protein-ligand	http://hdock.phys.hust.edu.cn
ClusPro	Protein-protein	https://cluspro.bu.edu
PatchDock	Protein-protein	https://patchdock.yoramlab.com
ZDOCK Server	Protein-protein	http://zdock.umassmed.edu
GalaxyPep Dock	Peptide-protein	http://galaxy.seoklab.org
ROSIE (Rosetta Online)	Multi docking	https://rosie.rosettacommons.org

Software	Jenis	Link Resmi
Schrödinger LiveDesign Cloud	Protein- ligand (Glide)	https://www.schrodinger.com/livedesign
SeeSAR Cloud (BioSolveIT)	Protein- ligand	https://www.biosolveit.de/SeeSAR
MOEsaas	SBDD cloud	https://www.chemcomp.com/cloud
Molsoft ICM Cloud	Protein- ligand	https://www.molsoft.com/cloud.html
Cresset Flare Cloud	Field- based docking	https://www.cresset-group.com/flare

8.5 Fungsi Penilaian (*Skoring*)

Penilaian atau *skoring docking* merupakan komponen inti dalam docking yang memperkirakan energi bebas pengikatan antara ligan dan protein. Dalam proses docking, algoritma pencarian menghasilkan berbagai orientasi ligan dan pengikatan dan skoring menilai pose ligan yang paling stabil. Fungsi penilaian merupakan model matematis yang memprediksi kuat lemahnya ikatan ligan dengan protein. Penilaian docking dibagi menjadi empat, force-field based scoring, empirical scoring, knowledge-based scoring, dan machine learning – based scoring (Danao *et al.*, 2023; Feyza Maden *et al.*, 2023).

Force-Field Based Scoring menggunakan prinsip mekanika molekuler untuk menghitung energi interaksi. Energi total berdasarkan prinsip force-field based scoring merupakan penjumlahan dari gaya van der Waals, elektrostatik, energi torsi ligan, energi ikatan dan sudut. Keunggulan skoring ini yaitu didasarkan pada hukum fisika dan mampu menangkap fenomena interaksi non-kovalen. Namun, prinsip force-field based scoring membutuhkan kalkulasi yang lebih lama, tidak mempertimbangkan efek pelarut, dan kurang akurat dalam prediksi entropi.

Empirical scoring menggunakan parameter yang diturunkan dari data eksperimen, terdiri dari jumlah ikatan hidrogen, luas permukaan hidrofobik, rotasi, torsi, dan kontribusi elektrostatik. Prinsip ini cepat dan efisien, cocok untuk virtual skrining dan dapat kalibrasi untuk target tertentu.

Knowledge based scoring menggunakan statistik dari database struktur protein-ligan seperti PDB untuk menghitung probabilitas potensi interaksi protein dengan ligan. Machine learning-based scoring merupakan pendekatan skoring terbaru dengan artificial intelligence (kecerdasan buatan). Skoring ini didasarkan pada fitur fisik protein – ligan, fitur geometrik, grid based, dan deep learning.

8.6 Jenis Ikatan pada Kompleks Ligand-Protein

Interaksi antara protein dengan ligan merupakan dasar pengenalan molekuler yang menentukan kestabilan ikatan antara ligan dengan residu asam amino protein target. Penambatan molekuler memprediksi interaksi ligan dengan residu asam amino pada sisi aktif pengikatan dengan berbagai jenis ikatan seperti ikatan hidrogen, gaya van der Waals, gaya elektrostatik, interaksi hidrofobik, dan interaksi aromatik.

8.6.1 Ikatan Hidrogen

Ikatan Hidrogen (H-Bond) merupakan ikatan yang terjadi antara atom hidrogen yang terikat pada atom elektronegatif (donor) dan pasangan elektron bebas pada elektronegatif akseptor. Ikatan hidrogen berkontribusi terhadap orientasi ligan spesifik dalam sisi pengikatan dan penstabilan kompleks ligand dengan protein. Dalam docking, ikatan hidrogen dikaitkan dengan peningkatan afinitas energi. Ikatan hidrogen berperan penting dalam interaksi enzim substrat, inhibitor kinase, dan senyawa dengan enzim, maupun dengan protein transmembran. Selain itu, adanya ikatan hidrogen pada kompleks senyawa dengan protein target dapat menstabilkan interaksi senyawa dalam mekanisme penghambatan protein ligand- ligand reseptor, seperti delphinidin - 3 - O- glukosida dan peonidin -3-O-glukosida dalam penghambatan interaksi TNF- α dengan reseptor TNF α (D. Sari *et al.*, 2019).

8.6.2 Interaksi Hidrofobik

Interaksi hidrofobik melibatkan residu non-polar seperti residu valin, fenilalanin, isoleusin, dan leusin. Interaksi hidrofobik berpengaruh terhadap stabilitas ikatan ligand dengan protein melalui efek entropi. Ketika ligan hidrofobik berikatan dengan protein pada sisi hidrofobik, air yang terperangkap akan dikeluarkan dan menghasilkan entropi dalam pembentukan kompleks. Selain itu, kontribusi interaksi hidrofobik dalam kompleks yaitu skor afinitas yang banyak ditemukan pada interaksi ligand dengan protein transmembran (Irfandi *et al.*, 2022; D. R. T. Sari *et al.*, 2020; D. R. T. Sari & Krisnamurti, 2022).

8.6.3 Gaya Van der Waals

Gaya van der Waals merupakan interaksi yang lemah, berasal dari fluktuasi distribusi elektron. Meskipun gaya van der Waals lemah, namun berkontribusi terhadap afinitas kompleks ligan dan protein. Perhitungan skor docking yang memperhitungkan interaksi gaya van der Waals melalui potensi Lennard – Jones (Istvan & Deisenhofer, 2001).

8.6.4 Gaya Elektrostatik

Gaya elektrostatik terjadi antara muatan positif dan negatif atau dipol. Interaksi ini bersifat kuat dan berkontribusi pada pengikatan jangka panjang. Residu bermuatan seperti lisin, arginin, aspartat dan glutamat sering ditemukan berinteraksi dengan gaya elektrostatik. Perhitungan kontribusi gaya elektrostatik dalam afinitas menggunakan metode Coulombic atau Poisson-Boltzmann.

8.6.5 Interaksi Aromatik

Interaksi aromatik, diantaranya π - π stacking, π -cation,, dan *salt-bridge*. Interaksi π - π stacking terjadi antara cincin aromatik ligan dan residu seperti fenilalanin, tyrosin dan triptofan. Interaksi ini berperan dalam stabilitas obat terhadap target reseptor aromatik. Interaksi π -cation terjadi karena adanya ikatan antara muatan positif seperti arginin atau lisin dan cincin aromatik ligan. Interaksi ini merupakan salah satu interaksi non-kovalen terkuat dan penting dalam pengikatan neurotransmitter dan ligan G-protein coupled receptor (GPCR). Salt bridge merupakan interaksi antara residu bermuatan berlawanan seperti lisin dan asparagin. Salt bridge meningkatkan orientasi ligan dan sering ditemukan pada interaksi dengan enzim, reseptor, dan protein struktural.

DAFTAR PUSTAKA

- A, T., & Va, B. (2018). Molecular Docking: From Lock and Key to Combination Lock. *Journal of Molecular Medicine and Clinical Applications*, 2(1).
<https://doi.org/10.16966/2575-0305.106>
- Aguiar, C., & Camps, I. (2024). *Molecular Docking in Drug Discovery: Techniques, Applications, and Advancements*. Chemistry. <https://doi.org/10.26434/chemrxiv-2024-gmhtx>
- Astalakshmi, Dr. N., T, G., K B, G. S., M, N., M R, H. H. S., S, G., Latha, Dr. S. T., & Kumar, Dr. M. S. (2022). Over View on Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure Based Drug Discovery. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 77(2).
<https://doi.org/10.47583/ijpsrr.2022.v77i02.029>
- Azad, I. (2023). Molecular Docking in the Study of Ligand-Protein Recognition: An Overview. In E. Salih Istifli (Ed.), *Biomedical Engineering* (Vol. 15). IntechOpen.
<https://doi.org/10.5772/intechopen.106583>
- Bitencourt-Ferreira, G., & de Azevedo, W. F. (2019). Molegro Virtual Docker for Docking. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 2053, 149–167.
https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9752-7_10
- Chen, T., Shu, X., Zhou, H., Beckford, F. A., & Misir, M. (2023). Algorithm selection for protein–ligand docking: Strategies and analysis on ACE. *Scientific Reports*, 13(1), 8219. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-35132-5>
- Danao, K., Nandurkar, D., Rokde, V., Shivhare, R., & Mahajan, U. (2023). Molecular Docking: Metamorphosis in Drug Discovery. In E. Salih Istifli (Ed.), *Biomedical*

- Engineering* (Vol. 15). IntechOpen.
<https://doi.org/10.5772/intechopen.105972>
- Durrant, J. D., & McCammon, J. A. (2010). Computer-aided drug-discovery techniques that account for receptor flexibility. *Current Opinion in Pharmacology*, 10(6), 770–774.
<https://doi.org/10.1016/j.coph.2010.09.001>
- Feixas, F., Lindert, S., Sinko, W., & McCammon, J. A. (2014). Exploring the role of receptor flexibility in structure-based drug discovery. *Biophysical Chemistry*, 186, 31–45. <https://doi.org/10.1016/j.bpc.2013.10.007>
- Feyza Maden, S., Sezer, S., & Ece Acuner, S. (2023). Fundamentals of Molecular Docking and Comparative Analysis of Protein–Small-Molecule Docking Approaches. In E. Salih Istifli (Ed.), *Biomedical Engineering* (Vol. 15). IntechOpen.
<https://doi.org/10.5772/intechopen.105815>
- Göksu, S., Naderi, A., Çağan, A., & Akıncioğlu, A. (2024). Synthesis of novel sulfamides derived from dopamine analogues with their in silico studies against hyperprolactinemia. *Organic Communications*, 4, 205–217. <https://doi.org/10.25135/acg.oc.176.2411.3361>
- Irfandi, R., Santi, S., Raya, I., Ahmad, A., Ahmad Fudholi, Sari, D. R. T., & Prihantono. (2022). Study of new Zn(II)Prolinedithiocarbamate as a potential agent for breast cancer: Characterization and molecular docking. *Journal of Molecular Structure*, 1252, 132101.
<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.132101>
- Istvan, E. S., & Deisenhofer, J. (2001). Structural Mechanism for Statin Inhibition of HMG-CoA Reductase. *Science*, 292(5519), 1160–1164.
<https://doi.org/10.1126/science.1059344>

- Kolodziej, J., González-Vélez, H., & Karatza, H. D. (2017). High-performance modelling and simulation for big data applications. *Simulation Modelling Practice and Theory*, 76, 1–2. <https://doi.org/10.1016/j.simpat.2017.04.003>
- Mashiach, E., Nussinov, R., & Wolfson, H. J. (2010). FiberDock: Flexible induced-fit backbone refinement in molecular docking. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 78(6), 1503–1519. <https://doi.org/10.1002/prot.22668>
- Salih Istifli, E. (Ed.). (2023). *Molecular Docking Recent Advances* (Vol. 15). IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.100665>
- Sari, D., Cairns, J., Safitri, A., & Fatchiyah, F. (2019). Virtual Prediction of the Delphinidin-3-O-glucoside and Peonidin-3-O-glucoside as Anti-inflammatory of TNF- and #945; Signaling. *Acta Informatica Medica*, 27(3), 152. <https://doi.org/10.5455/aim.2019.27.152-157>
- Sari, D. R. T., & Krisnamurti, G. C. (2022). In Silico Repositioning Strategies of Theobromine and Caffeine for Psychiatric and Neurological Disorders. *Proceeding International Conference on Religion, Science and Education*, 2022(1), 685–692.
- Sari, D. R. T., Safitri, A., Cairns, J., & Fatchiyah, F. (2020). Anti-Apoptotic Activity of Anthocyanins has Potential to inhibit Caspase-3 Signaling. *Journal of Tropical Life Science*, 10(1). <https://doi.org/10.11594/jtls.10.01.03>
- Tiwari, S., & Prakash, K. (2024). Unrevealing The Complex Interplay: Molecular Docking: A Comprehensive Review On Current Scenario, Upcoming Difficulties, Forthcoming Initiatives, And Viewpoints. *International Journal of Chemistry Research*, 1–9. <https://doi.org/10.22159/ijcr.2024v8i1.226>

BIODATA PENULIS



Dr. Rizky Dwi Satrio, S.Si., M.Si.

Dosen Program Studi Biologi

Fakultas MIPA Militer Universitas Pertahanan RI

Penulis lahir di Kediri pada tanggal 6 Desember 1992. Penulis menempuh pendidikan S-1 pada Program Studi Biologi dan melanjutkan pendidikan S-2 dan S-3 pada Program Studi Biologi Tumbuhan di Institut Pertanian Bogor (IPB). Selama studi, penulis juga pernah menjalani program *special research student* di *Nara Institute of Science and Technology* (NAIST), Jepang pada tahun 2017–2018. Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi Biologi, Fakultas MIPA Militer, Universitas Pertahanan RI. Pada bidang pengajaran, penulis mengampu beberapa mata kuliah, yaitu: Genetika, Biologi Molekuler, Biokimia, Biostatistika, Bioinformatika, Analisis dan Komputasi Data Biologi, Fisiologi Tumbuhan, Pertumbuhan dan Perkembangan Tumbuhan, Metode Penelitian, dan Dasar-Dasar Teknologi Omik. Penulis memiliki minat penelitian pada bidang Genetika, khususnya terkait topik genetika molekuler, genetika populasi, genetika kuantitatif, sitogenetik, genomik, dan bioinformatika. Penelitian

genetika tersebut berfokus pada penemuan dan karakterisasi gen fungsional, melalui eksplorasi gen-gen baru dan berharga pada kelompok Fabaceae asli Indonesia. Penulis memiliki pengalaman dalam menganalisis data sekuensing berluaran tinggi menggunakan analisis bioinformatika berbasis Linux dan pemrograman R. Penulis juga memiliki pengalaman dalam pemetaan genetik, pengembangan marka molekuler, perakitan dan anotasi genom, serta analisis fungsional genom. Beberapa artikel hasil penelitian telah dihasilkan dan diterbitkan penulis pada jurnal ilmiah internasional bereputasi dan terindeks global.

BIODATA PENULIS**Irfan Martiansyah, M.Si**

Peneliti di Pusat Riset Botani Terapan - Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN)

Irfan Martiansyah, M.Si. dilahirkan di Bogor pada tanggal 3 Maret 1985. Pendidikan sarjana dan pascasarjana ditempuh pada Program Studi Biologi dan Program Studi Pemuliaan dan Bioteknologi Tanaman, IPB University pada tahun 2008 dan tahun 2018. Pada tahun 2016, penulis dianugerahi beasiswa oleh Kementerian Luar Negeri India untuk melanjutkan pelatihan dan mengikuti kursus dua bulan yang berfokus pada manajemen agribisnis pertanian. Penulis juga pernah menjadi narasumber pada kuliah umum yang diselenggarakan di Universitas Islam Indonesia Yogyakarta. Saat ini penulis bekerja sebagai periset di Pusat Riset Botani Terapan, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN). Penulis juga menjabat sebagai sekretaris Komunitas Genetik dan Keanekaragaman Hayati Indonesia (IGBC), sebuah organisasi ilmiah yang mengkhususkan diri pada konservasi genetik dan molekuler. Selain itu, penulis aktif berkontribusi pada jurnal nasional dan internasional, dengan fokus pada topik seperti genetika dan

bioteknologi tanaman dll
(<https://scholar.google.com/citations?user=9OhlBuIAAAAJ&hl=en>). Buku-buku yang pernah penulis terbitkan antara lain, *Dasar-Dasar Konservasi, Pendidikan Lingkungan Hidup, Botani, Biologi Lingkungan, Fisiologi Tumbuhan, Bioteknologi*, dll. Selain buku nasional penulis juga telah menulis dua chapter di Buku Springer Internasional.

BIODATA PENULIS**Riko Irwanto, S.Pd., M.Sc.**

Dosen Program Studi Biologi Universitas Bangka Belitung

Penulis lahir di Bengkulu Tengah tanggal 17 Maret 1992. Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi Biologi, Universitas Bangka Belitung. Menyelesaikan pendidikan S1 pada Program Studi Pendidikan Biologi (Universitas Bengkulu) dan pendidikan S2 pada Program studi Magister Biologi (Universitas Gadjah Mada). Penulis menekuni bidang Biologi (Biokimia/sel, Fisiologi hewan). Penulis merupakan dosen Profesional yang sudah tersertifikasi sejak tahun 2020 dan aktif menjalankan Tri Dharma Perguruan Tinggi. Berpengalaman sebagai tim Ahli Biodiversity Surveillance, riset (biokimia, kultur sel hewan), penulis artikel di media massa, Artikel Jurnal, dan Buku.

BIODATA PENULIS



Dr. Dessy Arisanty, M.Sc

Penulis lahir di Padang, pada 12 Januari 1979. Ia tercatat sebagai lulusan Sarjana FMIPA Universitas Andalas, jenjang Master (S2) di Biomedical Department of Medical Faculty and Health Sciences Universiti Putra Malaysia dibidang *Medical Biochemistry*. Selanjutnya studi Doktor pada Program Doktor Ilmu Biomedis dengan kajian *Molecular Cancer of Epigenetic*. Wanita yang kerap disapa Dessy ini adalah anak dari pasangan Anwar Manan (ayah) dan Dasmiaty (ibu). Penulis sebagai staf pengajar di Departmen Biokimia Fakultas Kedokteran Univeristas Andalas (UNAND). Dan saat menulis ini, penulis menjabat sebagai Ketua Program Studi Ilmu Biomedis Program Sarjana, Fakultas Kedokteran UNAND. Penulis bukanlah orang baru di dunia Pendidikan. Berbagai kegiatan ilmiah dan banyak artikel yang sudah dipublikasikan. Penghargaan yang pernah diraih adalah sebagai lulusan terbaik Fakultas MIPA, Medali Perak pada ITEX exhibition Malaysia. Medali emas pada Inovation Technology 2023.

BIODATA PENULIS**Fandi Tuju, S.Pd., M.Si.**

Dosen Program Studi Biologi

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Palangka Raya

Penulis lahir di Taraitak tanggal 27 Juni 1991. Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Palangka Raya. Penulis menyelesaikan pendidikan S1 pada Pendidikan Biologi FMIPA Universitas Negeri Manado dan melanjutkan S2 pada Program Studi S2 Biologi Universitas Negeri Manado. Penulis menekuni bidang Taksonomi Hewan dengan pendekatan molekuler dan Perkembangan Hewan.

BIODATA PENULIS



Muhammad Rifqi Hariri, S.Si., M.Si.

Peneliti Pusat Riset Biosistematika dan Evolusi

Badan Riset dan Inovasi Nasional

Penulis merupakan staf peneliti di Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN). Beberapa penelitian yang dilakukannya bersama kolega telah diterbitkan di beberapa jurnal nasional dan internasional yang berkaitan dengan konservasi tumbuhan, *alien flora*, identifikasi dan verifikasi jenis tumbuhan berbasis DNA *barcoding*, dan analisis keragaman genetik tumbuhan langka. Sebelum bekerja, penulis menyelesaikan studi sarjana di Jurusan Biologi Universitas Negeri Malang dan melanjutkan ke jenjang Magister bidang Biologi Tumbuhan di Departemen Biologi Institut Pertanian Bogor. Selain bekerja sebagai peneliti, juga aktif mengajar sebagai dosen praktisi di Universitas melalui skema *team teaching* maupun Praktisi Mengajar KEMDIKBUDRISTEK.

BIODATA PENULIS**Mulia Safrida Sari**

Penulis lahir di Meulaboh, Aceh Barat, 17 September 1990. Meraih gelar Sarjana Pendidikan di Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Samudra pada tahun 2013. Kemudian, melanjutkan studi Magister Biologi di Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati (SITH) Institut Teknologi Bandung dan lulus pada tahun 2017. Pada tahun 2019, ia kembali ke Universitas Samudra dan bertugas sebagai staf pengajar di Program Studi Biologi Fakultas Teknik Universitas Samudra hingga saat ini.

Mengampu mata kuliah biologi dasar, bioinformatika, biologi sel dan molekuler, fisiologi hewan, bioteknologi tumbuhan, bioproses, dan beberapa mata kuliah yang terkonsentrasi di bidang zoologi. Ia juga aktif membimbing mahasiswa dalam kegiatan akademik dan melakukan penelitian di bidang Fisiologi Hewan dan Bioteknologi Tumbuhan. Karya-karyanya berupa artikel ilmiah yang telah dipublikasikan dalam beberapa jurnal nasional dan jurnal internasional, serta sejumlah buku referensi dan monograf

yang telah dipublikasikan pada beberapa penerbit nasional ternama.

BIODATA PENULIS



Dr. Dewi Ratih Tirto Sari, M.Si

Dosen Program Studi Farmasi

Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Ibrahimy

Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Ibrahimy, Situbondo. Penulis menyelesaikan studi S1-S3 pada jurusan biologi Universitas Brawijaya dan menekuni bidang kepenulisan sejak menginjak Pendidikan tinggi. Penulis aktif melakukan penelitian dan kepenulisan yang diterbitkan di beberapa jurnal internasional, nasional, dan buku.