

LAPORAN TUGAS AKHIR
OPTIMASI AMPLIFIKASI DNA MENGGUNAKAN METODE
***POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)* UNTUK**
KARAKTERISASI GEN *LIGHT CHAIN (LC) TRASTUZUMAB*
DALAM SEL *CHINESE HAMSTER OVARY (CHO)*

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh derajat
Ahli Madya (A.Md.Si) Analisis Kimia Program D III Analisis
Kimia



Disusun Oleh :
Royan Zahara Putri
NIM : 17231080

PROGRAM STUDI DIPLOMA III ANALISIS KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
2020

LAPORAN TUGAS AKHIR

**OPTIMASI AMPLIFIKASI DNA MENGGUNAKAN METODE
POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) UNTUK
KARAKTERISASI GEN *LIGHT CHAIN (LC) TRASTUZUMAB*
DALAM SEL *CHINESE HAMSTER OVARY (CHO)***

**OPTIMIZATION OF DNA AMPLIFICATION USING
POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) METHOD FOR
CHARACTERIZING OF TRASTUZUMAB LIGHT CHAIN
(LC) GENES IN CHINESE HAMSTER OVARY (CHO) CELLS**



Disusun Oleh :

Royan Zahara Putri

NIM : 17231080

**PROGRAM STUDI DIPLOMA III ANALISIS KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA**

2020

HALAMAN PENGESAHAN
LAPORAN TUGAS AKHIR
OPTIMASI AMPLIFIKASI DNA MENGGUNAKAN METODE
POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) UNTUK
KARAKTERISASI GEN *LIGHT CHAIN (LC) TRASTUZUMAB*
DALAM SEL *CHINESE HAMSTER OVARY (CHO)*

Dipersiapkan dan disusun oleh :

Royan Zahara Putri

NIM : 17231080

Telah disetujui oleh Dosen Pembimbing Tugas Akhir
Program Studi D III Analisis Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam
Indonesia pada tanggal 30 April 2020



UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA

Menyetujui,

Ketua Program Studi



Tri Esti Purbaningtias, S.Si., M.Si.
NIK. 132311102

Pembimbing



Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D.
NIK. 006120101

HALAMAN PENGESAHAN

LAPORAN TUGAS AKHIR

**OPTIMASI AMPLIFIKASI DNA MENGGUNAKAN METODE
POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) UNTUK
KARAKTERISASI GEN *LIGHT CHAIN (LC) TRASTUZUMAB*
DALAM SEL *CHINESE HAMSTER OVARY (CHO)***

Dipersiapkan dan disusun oleh :

Royan Zahara Putri
NIM : 17231080

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji pada tanggal 12 Juni 2020

Susunan Tim Penguji

Pembimbing/Penguji



Prof. Riyanto, Ph.D.

NIK. 006120101

Penguji I



Tri Esti Purbaningtias, M.Si.

NIK. 132311102

Penguji II

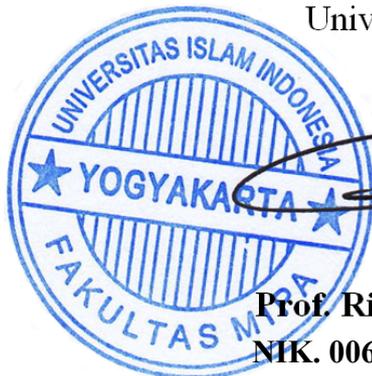


Bayu Wiyantoko, M.Sc.

NIK. 132311101

Mengetahui,

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia



Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D.
NIK. 006120101

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa Laporan Tugas Akhir dengan judul Optimasi Amplifikasi DNA Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) Untuk Karakterisasi Gen *Light Chain* (LC) *Trastuzumab* Dalam Sel *Chinese Hamster Ovary* (CHO) tidak terdapat bagian yang pernah digunakan untuk memperoleh gelar Ahli Madya atau gelar lainnya di suatu Perguruan Tinggi dan sepengetahuan saya tidak terdapat bagian yang pernah ditulis dan diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, 25 April 2020



Royan Zahara Putri

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'alamin, puji syukur kepada Allah SWT atas izin dan karunia-Nya telah diberikan kelancaran, kemudahan, dan kebarohan selama proses pembuatan hingga penyelesaian Laporan Tugas Akhir tepat pada waktunya.

Terima kasih yang tak terhingga untuk Ibu Endang Winarti dan Bapak Gaya Kembar Suripno yang sudah banyak memberikan dukungan, doa, tenaga, usaha, pikiran dan hal-hal lain yang tidak bisa disebutkan satu per satu. Terima kasih banyak Ibu dan Bapak selalu mendampingi Ira sejak kecil hingga dewasa ini. Mohon maaf Ira belum bisa sepenuhnya menggantikan apa yang sudah Ibu dan Bapak berikan tetapi izinkan Ira memberikan hadiah kecil ini untuk Ibu dan Bapak. Terima kasih juga untuk Malika Husni Aulia, Alfiena May Syafa'ati dan Muhammad Delo Kartiko yang selalu berusaha memahami dan mengerti kondisi Ira. Terima kasih sudah mau belajar bersama hingga saat ini.

Terima kasih untuk Bapak Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D., selaku pembimbing, Ketua Program Studi DIII Analisis Kimia dan Para Dosen DIII Analisis Kimia yang selalu membimbing dan mengajarkan ilmu-ilmu pengetahuan hingga pelajaran hidup yang sangat berharga untuk bekal kehidupan yang akan mendatang.

Terimakasih untuk sahabat terbaik Ira, Pradifqi Yuan Kurnia, Amaniyya Dhiya Fitriyani, Nia Desmayanti, Jasmine Saraswati, Ahmad Safruddin, Muhammad Haikal Mubarak, Bagus Dwi Setiawan, Muhammad Raffi Akhyari, Yahya Maulana, Aziz Barunda, Restuningsih, Agung Rio Buditama atas segala kebaikannya dan sudah banyak memberikan dukungan dan doa selama ini. Terimakasih untuk teman-teman Analisis Kimia khususnya angkatan 17 yang sudah banyak memberikan warna-warna indah selama berproses di kampus.

Semoga Allah mengganti kebaikan-kebaikan yang kalian berikan dengan kebaikan yang lebih lagi. Semoga diberikan kelancaran, kemudahan, kebarokahan, kesehatan dan kebahagiaan untuk kita semua. Aamiin.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warohmatullahi Wabarokatuh.

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya, shalawat serta salam senantiasa tercurah kepada Nabi junjungan Nabi Muhammad SAW. Berkat rahmat dan pertolongan Allah SWT penulis dapat menyelesaikan Laporan Tugas Akhir tentang Optimasi Amplifikasi DNA Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) Untuk Karakterisasi Gen *Light Chain* (LC) *Trastuzumab* Dalam Sel *Chinese Hamster Ovary* (CHO) di PT Bio Farma Persero Bandung.

Laporan Tugas Akhir ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh derajat Ahli Madya (A.Md.Si) DIII Analisis Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia Yogyakarta. Selama proses penyusunan laporan ini penulis telah mendapatkan bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak, untuk itu pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D., selaku Dekan Fakultas MIPA UII dan Dosen Pembimbing Praktik Kerja Lapangan.
2. Ibu Tri Esti Purbaningtias, M.Si., selaku Ketua Program Studi DIII Analisis Kimia.
3. Ibu Neni Nurainy, Apt., selaku Kepala Bagian Matriks Riset PIM 1 dan Bapak Dicky Mahardhika, S.Si., M.Biomed., selaku *Research Coordinator*.
4. Bapak Faisal Assegaf, S.Si., selaku pembimbing instansi dan Ibu Nur Amalia L. yang telah mengajarkan pengetahuan-pengetahuan baru dan memberikan kesempatan ikut berkontribusi dalam kegiatan laboratorium di PT Bio Farma Persero Bandung.
5. Staff, karyawan dan teman-teman magang di Laboratorium Matriks Riset yang sudah banyak mengajarkan pengetahuan baru, berbagi ilmu, memberikan bantuan dan dukungan selama proses Praktik Kerja Lapangan dan penelitian.

6. Bapak dan Ibu dosen serta staff dan karyawan Program Studi DIII Analisis Kimia yang selalu membimbing dan mengarahkan selama proses perkuliahan.
7. Teman-teman angkatan 2017 DIII Analisis Kimia yang telah memberikan dukungan, doa dan bantuan selama proses belajar di kampus.

Penulis menyadari bahwa laporan ini masih banyak yang perlu diperbaiki, oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat penulis tunggu dan harapkan demi kesempurnaan laporan ini. Akhir kata penulis memohon maaf sebesar-besarnya apabila dalam menyusun laporan ini terdapat banyak kekurangan. Semoga laporan ini dapat memberikan manfaat khususnya bagi penulis dan umumnya bagi para pembaca.

Wassalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarokatuh.

Yogyakarta, 30 April 2020

Royan Zahara Putri

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
INTISARI	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB II DASAR TEORI	4
2.1 Profil Perusahaan PT Bio Farma Persero Bandung	4
2.1.1 Sejarah PT. Bio Farma Persero Bandung	5
2.1.2 Visi dan Misi Perusahaan	7
2.1.3 Nilai-nilai dan Kebijakan Perusahaan	8
2.1.4 Logo Perusahaan	9
2.1.5 Struktur Perusahaan	10
2.1.6 Jenis Produk PT. Bio Farma Persero	10
2.1.6.1 Vaksin Kombinasi	11
2.1.6.2 Vaksin Virus	12
2.1.6.3 Vaksin Bakteri	16
2.1.6.4 Antisera	18
2.1.6.5 Diagnostik	20

2.2 <i>Deoxyribonucleic Acid</i> (DNA)	21
2.3 Gen <i>Light Chain</i> (LC)	25
2.4 <i>Trastuzumab</i>	27
2.5 Sel <i>Chinese Hamster Ovary</i> (CHO)	28
2.6 Metode <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	29
2.7 Elektroforesis Menggunakan Gel Agarosa	32
BAB III METODOLOGI	35
3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian	35
3.2 Bahan	35
3.3 Alat	35
3.4 Prosedur Kerja	36
3.4.1 Isolasi DNA Metode <i>Wizard Genomic DNA Purification Kit</i> (Promega 2010)	36
3.4.2 Pengukuran Konsentrasi dan Kemurnian DNA	37
3.4.3 Pembuatan Gel Agarosa	37
3.4.4 Optimasi Suhu <i>Annealing</i> Menggunakan Metode <i>Polymerase Chain</i> <i>Reaction</i> (PCR)	38
3.4.5 Elektroforesis Menggunakan Gel Agarosa	41
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	42
4.1 Isolasi DNA	42
4.2 Optimasi Suhu <i>Annealing</i> Menggunakan Metode <i>Polymerase Chain</i> <i>Reaction</i> (PCR)	48
4.3 Elektroforesis Menggunakan Gel Agarosa	53
BAB V PENUTUP	56
5.1 Kesimpulan	56
5.2 Saran	56
DAFTAR PUSTAKA	57
LAMPIRAN	61

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Gedung Biofarma	4
Gambar 2.2 Logo Perusahaan	9
Gambar 2.3 Struktur Organisasi PT. Bio Farma Persero	10
Gambar 2.4 Vaksin Pentabio	11
Gambar 2.5 Vaksin DTP-HB	12
Gambar 2.6 Vaksin Polio	13
Gambar 2.7 Vaksin mOPV	13
Gambar 2.8 Vaksin Hepatitis B Rekombinan	14
Gambar 2.9 Flubio Vaksin Influenza HA	15
Gambar 2.10 Vaksin Campak	15
Gambar 2.11 Vaksin BCG (Beku Kering)	16
Gambar 2.12 Vaksin Jerap DT	16
Gambar 2.13 Vaksin TT	17
Gambar 2.14 Vaksin Bio-TD	18
Gambar 2.15 Anti-Tetanus	18
Gambar 2.16 Anti-Bisa Ular Polivalen	19
Gambar 2.17 Anti-Difteri	20
Gambar 2.18 Tabungrculin PPD RT 23 SSI	20
Gambar 2.19 Struktur DNA Model Watson-Crick (A) dan nukleotida (B)	22
Gambar 2.20 Struktur DNA (A) dan struktur ATGC (B)	24
Gambar 2.21 Struktur Antibodi	27
Gambar 2.22 Proses PCR	31
Gambar 2.23 Proses Elektroforesis Gel Agarosa	34
Gambar 4.1 Alat <i>Nano Drop Photometer Plan</i> (A) dan tempat sampel (B)	47
Gambar 4.2 Gel Agarosa (A) dan Seperangkat Alat Elektroforesis (B)	54
Gambar 4.3 Ban DNA Optimasi Pertama (A) dan Pita Optimasi Kedua (B)	55

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1. Perhitungan Reagen PCR	38
Tabel 3.2 Peta Optimasi Pertama	41
Tabel 3.3 Peta Optimasi Kedua	41
Tabel 4.1 Hasil Gambar Proses Isolasi DNA	45
Tabel 4.2 Hasil Pengukuran <i>Nano Drop</i>	48
Tabel 4.3 Proses dan Hasil PCR	49

**OPTIMASI AMPLIFIKASI DNA MENGGUNAKAN METODE
POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) UNTUK
KARAKTERISASI GEN *LIGHT CHAIN (LC) TRASTUZUMAB*
DALAM SEL *CHINESE HAMSTER OVARY (CHO)***

Royan Zahara Putri

17231080

Program Studi DIII Analisis Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia

Jl. Kaliurang KM 14,5 Sleman, Yogyakarta 55571

Email : royanzahara@gmail.com

INTI SARI

Telah dilakukan pengujian optimasi amplifikasi DNA menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction (PCR)* untuk karakterisasi gen *light chain (LC) trastuzumab* dalam sel *Chinese Hamster Ovary (CHO)* di laboratorium matriks riset PT. Bio Farma Persero Bandung. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui sepasang primer yang sudah ditentukan dapat menempel secara sempurna atau tidak pada cetakan DNA gen *light chain* berdasarkan optimasi suhu *annealing* yang divariasikan. Adapun tahapan-tahapan pengujian yang dilakukan adalah melakukan isolasi DNA dalam sampel sel CHO menggunakan metode *Wizard Genomic Purification Kit*, menentukan optimasi suhu *annealing* (penempelan) menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction (PCR)* dan menentukan hasil optimasi suhu *annealing* menggunakan metode elektroforesis gel agarosa. Konsentrasi setiap sampel hasil isolasi DNA dalam sel CHO menggunakan metode *Wizard Genomic Purification Kit* diperoleh sebesar 228,00; 262,32 dan 315,47 ng/ μ L dengan kemurnian diperoleh sebesar 1,891; 1,915 dan 1,937. Optimasi suhu *annealing* pertama menggunakan variasi suhu 61,0; 62,5; 64,0; 65,5; 67,0 dan 68,5 °C dan optimasi suhu *annealing* kedua menggunakan suhu 62,5 °C yang merupakan suhu optimum. Ukuran pita DNA gen *light chain* diperoleh sebesar 1063 bp (*base pair*/pasangan basa).

Kata kunci : DNA, *Polymerase Chain Reaction*, Gen *Light Chain*, Elektroforesis Gel Agarosa.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Trastuzumab (herceptin) merupakan DNA rekombinan yang berasal dari antibodi monoklonal yang secara selektif menargetkan dominan ekstraseluler dari reseptor protein faktor pertumbuhan epidermal manusia (*Human Epidermal Growth Factor Receptor 2, HER2*). Gen HER2 merupakan salah satu bagian dari gen HER yang terletak dibagian lengan panjang kromosom dalam payudara. Peningkatan pertumbuhan gen HER2 yang berlebih memicu pertumbuhan kanker payudara. *Trastuzumab* digunakan untuk pengobatan pasien kanker payudara HER2-positif. Ketika *trastuzumab* dikonsumsi oleh pasien maka *trastuzumab* akan menghambat pertumbuhan yang berlebihan dari gen HER2 sehingga kanker tidak dapat berkembang dan merambat ke organ tubuh lainnya (Gemmete dan Mukherji, 2011).

Trastuzumab dapat diproduksi menggunakan sel *Chinese Hamster Ovary* (CHO) sebagai sel inang (*host cell*). Sel CHO merupakan sistem ekspresi yang berasal dari mamalia. Sel CHO sering digunakan untuk produksi protein karena memiliki karakteristik yang baik dan aman dibandingkan dengan sel-sel lain. Sel CHO dapat bertumbuh dan berkembang di dalam suatu media pertumbuhan dengan kondisi tertentu, seperti kondisi ruangan untuk proses kultivasi, banyaknya oksigen dan nutrisi yang dibutuhkan sel CHO, menjaga pH media pertumbuhan dan lain-lain. Kondisi proses kultivasi sangat mempengaruhi tumbuh-kembang sel CHO sehingga kondisi ini diatur sebaik mungkin agar sel dapat bertumbuh baik dan menghasilkan protein target yang banyak pula. Setelah proses kultivasi selesai dilakukan isolasi dan perbanyakan DNA sel CHO untuk mendapatkan hasil DNA yang diinginkan. Proses isolasi dilakukan untuk mendapatkan DNA murni dengan menghilangkan pengotor-pengotor yang ada kemudian DNA murni tersebut diperbanyak menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Metode PCR mempunyai beberapa tahapan, yaitu denaturasi DNA, penempelan primer pada cetakan DNA (*annealing*),

pemanjangan primer (*extension*) dan pemantapan (*post-extension*). Adapun yang dilakukan pada penelitian ini adalah mengoptimasi suhu *annealing* dalam amplifikasi DNA (perbanyak) untuk karakterisasi gen *light chain* (LC). Gen *light chain* (rantai ringan) merupakan salah satu bagian yang terdapat di dalam sebuah antibodi. Gen *light chain* merupakan bagian yang mempunyai peran penting dan berkontribusi dalam pengikatan antigen protein bersama dengan gen *heavy chain* (rantai berat) sehingga gen ini perlu untuk diperbanyak menggunakan metode PCR. Metode PCR perlu dioptimasi suhu *annealing* karena sebuah primer membutuhkan kondisi optimum yang spesifik untuk dapat menempel pada cetakan DNA. Ketika kondisi suhu optimum dan sesuai maka primer dapat menempel pada cetakan DNA dan bereplikasi dengan sempurna sedangkan apabila kondisi suhu tidak optimum maka primer akan menempel pada sembarang tempat dan akan mengakibatkan replikasi DNA yang tidak diinginkan. Adapun dalam menghindari hal-hal yang tidak diinginkan dan mendapatkan replikasi DNA target yang sempurna maka diperlukan optimasi suhu pada proses *annealing*.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah yang dikaji dalam tulisan ini, yaitu:

1. Bagaimana menentukan konsentrasi dan kemurnian sampel sel CHO?
2. Bagaimana pengaruh suhu *annealing* pada proses *Polymerase Chain Reaction* (PCR) sel CHO?

1.3 Tujuan

1. Melakukan isolasi DNA dalam sampel sel CHO menggunakan metode *Wizard Genomic Purification Kit* (Promega, 2010) dan menentukan pengukuran konsentrasi dan kemurnian sampel DNA menggunakan *Nano Drop Photometer*.

2. Menentukan optimasi suhu *annealing* (penempelan) pada proses *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan hasil optimasi menggunakan metode elektroforesis gel agarosa.

1.4 Manfaat

Hasil optimasi suhu *annealing* ini dapat menjadi rujukan sebagai parameter proses *Polymerase Chain Reaction* (PCR) pada sel CHO dan dapat membantu proses lebih lanjut yang dibutuhkan dalam mengembangkan proyek *trastuzumab*.

BAB II

DASAR TEORI

2.1 Profil Perusahaan PT. Bio Farma Persero Bandung

PT. Bio Farma Persero merupakan Badan Usaha Milik Negara (BUMN) yang bergerak dalam bidang *Life Science*. Perusahaan ini terletak di Jalan Pasteur No. 28 Bandung. Selain di Bandung, PT. Bio Farma Persero juga memiliki fasilitas penelitian dan pembiakan hewan untuk kepentingan laboratorium yang terletak di Cisarua, Lembang. PT. Bio Farma Persero mempunyai filosofi mengabdikan untuk kualitas hidup yang lebih baik. Fokus bisnis PT. Bio Farma Persero terletak pada penelitian, pengembangan, produksi dan pemasaran produk biologi, produk farmasi secara nasional maupun internasional. Peranan PT. Bio Farma Persero untuk kesejahteraan rakyat Indonesia yaitu sebagai produsen vaksin dan antisera untuk memenuhi kebutuhan vaksin dan antisera di dalam negeri, serta sebagai eksportir vaksin ke lebih dari 130 negara di seluruh dunia, dimana 50 negara diantaranya adalah negara yang tergabung dalam Organisasi Kerjasama Islam (OKI). Produksi vaksin PT. Bio Farma Persero telah memenuhi standar yang telah ditetapkan oleh Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM) dan telah mendapatkan prakualifikasi dari Badan Kesehatan Dunia (WHO). Gedung Biofarma ditunjukkan pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Gedung Biofarma

Sumber: www.Mix.co.id

2.1.1 Sejarah PT. Bio Farma Persero Bandung

Melalui sejarahnya yang panjang PT. Bio Farma Persero berkembang menjadi sebuah perusahaan penghasil vaksin dan antisera kelas dunia. Berikut ini perjalanan sejarah PT. Bio Farma Persero:

- 6 Agustus 1980

Biofarma dibangun pertama kali dengan nama *Parc Vaccinogene* berdasarkan surat keputusan pemerintah Hindia Belanda No. 14 tahun 1980 di *Weltevreden Military Hospital*, Batavia yang sekarang beralih fungsi menjadi sebuah Rumah Sakit Militer Gatot Subroto, Jakarta.

- 1895 – 1901

Nama perusahaan mengalami perubahan menjadi “*Parc Vaccinogene en Institute Pasteur*”.

- 1902 – 1941

Perusahaan berubah nama kembali menjadi “*Landkoepoek Inrichting en Instituut Pasteur*”. Tahun 1923 PT Bio Farma Persero direlokasikan di Jalan Pasteur No. 28 Bandung yang dipimpin oleh L. Otten.

- 1942 – 1945

Selama masa pemerintahan Jepang, PT Bio Farma Persero berganti nama menjadi “*Bandung Boeki Kenkyusho*” yang dipimpin oleh Kikou Kurauchi.

- 1945 – 1946

Diganti dengan nama Indonesia menjadi “Gedung Cacar dan Lembaga Pasteur” yang dipimpin oleh R.M. Sardjito sebagai perwira berkebangsaan Indonesia yang pertama memimpin perusahaan ini. Kemudiandibawah pimpinannya kantor pusat dipindahkan ke klaten.

- 1946 – 1949

Selama agresi militer ketika Bandung diambil alih oleh tentara Belanda, perusahaan berganti nama lagi menjadi “*Landkoepoek Inrichting en Instituut Pasteur*”.

- 1950 – 1954

Perusahaan berubah nama kembali menjadi “Gedung Cacar dan Lembaga Pasteur” dan merupakan salah satu lembaga dibawah naungan Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.

- 1955 – 1960

Selama masa pemerintahan Belanda di Indonesia perusahaan kemudian berganti nama menjadi “*State Company Pasteur*”. Perusahaan ini kemudian lebih dikenal dengan sebutan PN. Pasteur.

- 1961 – 1978

Perusahaan berganti nama menjadi “*Bio Farma Company*” atau lebih dikenal sebagai PN. Bio Farma.

- 1978 – 1996

Berdasarkan Peraturan Pemerintah No. 26/1978, perusahaan mengubah nama menjadi Perusahaan Umum Bio Farma yang lebih dikenal dengan Perum Bio Farma.

- 1997

Berdasarkan Peraturan Pemerintah No. 1/1997, perusahaan mengubah nama menjadi Perum Bio Farma Persero sampai hari ini diketahui dengan PT. Bio Farma Persero.

- 1997 – 2011

PT. Bio Farma Persero berhasil memperoleh Prakuilifikasi dari WHO untuk 12 jenis vaksin dan mendapat persetujuan WHO untuk memasuki pasar global.

- 2008

Peluncuran logo baru yang mencerminkan semangat dan optimism untuk memasuki industri vaksin kelas dunia.

- 2009

Dibawah tim manajemen baru, PT. Bio Farma Persero melangkah maju menjadi perusahaan vaksin kelas dunia dengan daya saing global.

- 2013

Perusahaan menuju Industri *Life Science* dimulai. Peluncuran vaksin pentavalen terbaru (difteri, tetanus, pertusis, hepatitis B, dan HiB) dan peluncuran program imunisasi nasional.

- 2014

Peningkatan visi baru “Menjadi Perusahaan *Life Science* Kelas Dunia dengan Daya Saing Global.

- 2015

Peresmian Gedung Warisan dan Museum PT. Bio Farma Persero yang baru.

- 2016

Perluasan dari *National Vaccine Research Forum* (NVRF) ke dalam *National Life Science Research Forum* (NLSRF).

2.1.2 Visi dan Misi Perusahaan

PT. Bio Farma Persero mempunyai visi perusahaan yaitu menjadi Perusahaan *Life Science* Kelas Dunia yang Berdaya Saing Global. Visi PT. Bio Farma Persero adalah menjadi produsen vaksin dan antisera kelas dunia yang memiliki berdaya saing global. Visi tersebut menekankan bahwa peran Bio Farma dalam memenuhi ketersediaan vaksin nasional menjadi global, *repositioning* dari produsen vaksin ke perusahaan *life science*, penambahan kelas dunia diiringi dengan inovasi pada berbagai segmen, efisiensi proses bisnis yang ramah lingkungan, pembaharuan teknologi, penerapan *Corporate Social Responsibility* (CSR) dan peningkatan kualitas Sumber Daya Manusia (SDM) dalam kelas dunia.

PT. Bio Farma Persero juga mempunyai misi yaitu Menyediakan dan Mengembangkan Produk *Life Science* Berstandar Internasional untuk Meningkatkan Kualitas Hidup. Misi PT. Bio Farma Persero untuk mewujudkan visi, disusun dengan mempertimbangkan kompetisi utama perusahaan dan tantangan

strategis yang akan dihadapi. PT. Bio Farma Persero terus-menerus melakukan inovasi dengan memproduksi, memasarkan dan mendistribusikan vaksin dan antisera yang berkualitas internasional. Untuk menjaga kualitas produk, PT. Bio Farma Persero menerapkan berbagai sistem secara terintegrasi seperti memenuhi persyaratan ISO 9001:2008, ISO 14001:2004, OHSAS 18001:2007, CPOB, ASEAN GMP, WHO GMP, dan mengikuti perkembangan persyaratan cGMP secara global. Dalam menjalankan misinya, PT. Bio Farma Persero senantiasa berpegang teguh pada prinsip-prinsip GCG. Keberadaan PT. Bio Farma Persero telah mencapai 123 tahun diharapkan mampu memberikan kontribusi optimal bagi seluruh *stakeholder* Perusahaan.

2.1.3 Nilai-nilai dan Kebijakan Perusahaan

Nilai-nilai dasar yang wajib ada pada setiap kegiatan PT. Bio Farma Persero adalah:

1. Profesional.
2. Integritas.
3. Kerjasama.
4. Inovasi.
5. Orientasi terhadap pelanggan.

Kebijakan sasaran dalam menjalankan peran sebagai industri farmasi adalah:

1. Berdaya saing global.
2. Kepuasan pelanggan.
3. Produk bermutu.
4. Produk ramah lingkungan.
5. Produk berkesimanbungan.
6. Pengendalian pencemaran.
7. Keselamatan dan kesehatan kerja karyawan.
8. Penghematan energi dan sumber daya alam.

9. Patuh pada peraturan perundangan.

2.1.4 Logo Perusahaan



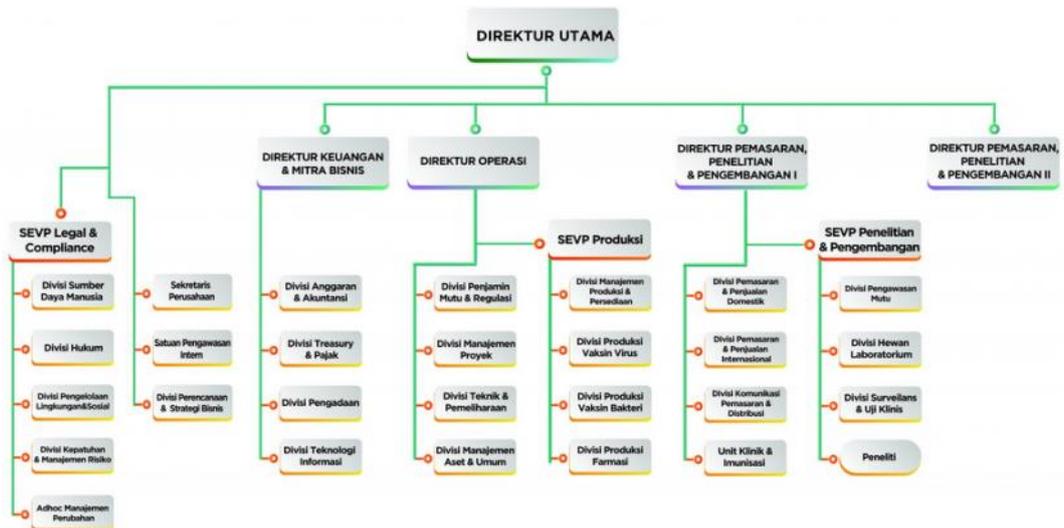
Gambar 2.2 Logo Perusahaan

Sumber: eng.Wikipedia.org

Logo PT. Bio Farma Persero pada gambar 2.2 mempunyai tulisan “biofarma” berwarna hijau toska dengan ornamen bintang dan aksan berwarna jingga dan kuning. Logo tersebut memiliki arti, yaitu:

- a. Bentuk ornamen menyerupai kristal protein dan glikoprotein menunjukkan fokus perusahaan dalam pengembangan dan produksi vaksin dan serum.
- b. Visual ornamen menyerupai pendar bintang bermakna semangat dan dinamika perusahaan menyambut masa depan yang cemerlang.
- c. Warna hijau toska menggambarkan perusahaan menjunjung tinggi higienitas dan kesehatan.
- d. Warna aksan jingga dan kuning yang berbaur dengan hijau toska menggambarkan semangat progresif dan keberanian perusahaan untuk berinovasi dan menjadi yang terdepan dalam perkembangan.

2.1.5 Struktur Perusahaan



Gambar 2.3 Struktur Organisasi PT. Bio Farma Persero

2.1.6 Jenis Produk PT. Bio Farma Persero

PT. Bio Farma Persero mengembangkan produk vaksin, antisera, biosimilar (*antibody monoclonal*), *stem cell*, kit diagnostik dan *blood product*. Proses produksi vaksin dimulai dari penyiapan media, inokulasi dan kultivasi, panen, inaktivasi, pemurnian/purifikasi, formulasi dan produk final (*filling dan packaging*). Produksi vaksin didistribusikan melalui rantai dingin (*cold-chain System*) yang merupakan suatu rantai distribusi dimana suhu produk diatur sedemikian rupa sehingga produk tetap terjaga dari mulai pengiriman hingga sampai ke pasien. Adapun produk-produk yang ada di PT. Bio Farma Persero adalah:

- a. Vaksin Kombinasi : Vaksin pentabio, vaksin DTP-HB
- b. Vaksin Virus : Vaksin poliomielitis oral bivalen tipe 1 & 3, vaksin poliomielitis oral monovalen tipe 1, vaksin hepatitis B rekombinan, flubio vaksin influenza HA dan vaksin campak.

- c. Vaksin bakteri : Vaksin BCG, vaksin TT, vaksin jerap TD dan vaksin BIO-TD.
- d. Antisera : Anti tetanus, antibisa ular polivalen dan anti difteri.
- e. Diagnostik : Tuberkulin PPD RT 23 SSI.

2.1.6.1 Vaksin Kombinasi

a. Vaksin Pentabio (DTP-HB-HiB)

Pentabio merupakan vaksin kombinasi untuk pencegahan penyakit difteri, tetanus, hepatitis B, haemophilus influenza tipe B berupa *suspense homogeny*. Suspensi ini mengandung toksoid difteri, tetanus murni, bakteri inaktif pertussis, antigen permukaan hepatitis B (HbsAg) murni dan hasil konjugasi sub-unit polisakarida dari kapsul Hib dengan toksoid tetanus. Vaksin dijerap menggunakan alumunium fosfat dan penggunaan thiomerosal sebagai pengawet.

Dosis vaksin tidak kurang dari 4 IU pertussis, 30 IU difteri, 60 IU tetanus (ditentukan pada mencit) atau 40 IU (ditentukan pada *guinea pig*), 10 mcg HbsAg dan 10 mcg Hib. Vaksin harus disuntikkan secara intramuskular yang sebaiknya dilakukan pada anterolateral paha atas. Suntikan tidak boleh diberikan dalam kulit karena dapat meningkatkan reaksi lokal. Satu dosis anak adalah 0,5 mL. Produk vaksin pentabio ditunjukkan pada gambar 2.4.



Gambar 2.4 Vaksin Pentabio

Sumber: www.bumn.go.id

b. Vaksin DTP-HB

Vaksin DTP-HB merupakan suspensi koloidal homogen berwarna putih susu dalam sebuah vial gelas yang mengandung toksoid tetanus murni, toksoid difteri murni dan B. Pertusis yang diinaktivasi serta antigen permukaan virus hepatitis B murni noninfeksius. Sub-unit HbsAg diproduksi menggunakan teknologi DNA rekombinan pada sel ragi.

Vaksin ini digunakan untuk pencegahan terhadap penyakit difteri, tetanus, pertusis, dan hepatitis B secara stimulan. Vaksin harus disuntikkan secara intramuskular pada bagian anterolateral paha atau otot deltoid pada anak-anak. Setiap dosis 0,5 mL diberikan pada bayi mulai usia 8 minggu dan dua dosis berikutnya diberikan dengan interval waktu 4 minggu. Produk vaksin DTP-HB ditunjukkan pada gambar 2.5.



Gambar 2.5 Vaksin DTP-HB

Sumber: www.bumn.go.id

2.1.6.2 Vaksin Virus

a. Vaksin Poliomyelitis Oral Bivalen Tipe 1 dan 3

Vaksin polio oral tipe 1 dan 3 (bOPV) merupakan vaksin bivalen yang mengandung virus polio tipe 1 dan 3 yang dilemahkan (*Strain sabin*) yang dibuat pada jaringan ginjal kera. Tiap dosis (2 tetes = 0.1mL) mengandung tidak kurang dari 10^6 CCID₅₀ tipe 1 dan $10^{5.8}$ CCID₅₀ tipe 3.

Vaksin polio oral tipe 1 dan 3 hanya untuk pemberian oral, dua tetes diberikan langsung dalam mulut menggunakan

droper dengan menjaga agar droper tidak terkontaminasi air liur anak yang divaksinasi. Kegiatan imunisasi pada anak diberikan usia 0-5 tahun untuk mencegah transmisi virus polio pada daerah endemik polio. Produk vaksin polio ditunjukkan pada gambar 2.6.



Gambar 2.6 Vaksin Polio

Sumber: www.bumn.go.id

b. Vaksin Poliomyelitis Oral Monovalen Tipe 1

Vaksin mOPV 1 merupakan cairan berwarna kuning muda sampai merah muda dalam sebuah vial gelas yang mengandung suspensi tipe 1 virus polio hidup yang dilemahkan (*strain sabin*). Setiap 2 tetes mengandung dosis virus hidup 0.1 mL virus polio hidup 10^6 CCID₅₀.

Vaksin mOPV 1 hanya diberikan secara oral dengan menggunakan droper sebanyak 2 tetes. Vaksin ini digunakan untuk merespon kejadian luar biasa (*outbreak*) yang disebabkan oleh virus polio tipe 1 dengan membentuk antibodi. Produk vaksin mOPV ditunjukkan pada gambar 2.7.



Gambar 2.7 Vaksin mOPV

Sumber: www.bumn.go.id

c. Vaksin Hepatitis B Rekombinan

Vaksin hepatitis B rekombinan mengandung antigen virus hepatitis B, HbsAg dihasilkan dari biakan sel ragi dengan teknologi rekayasa DNA. Vaksin berbentuk suspensi steril berwarna keputihan dalam *prefill injection device*, yang dikemas dalam *aluminium foil pouch* dan vial. Tiap 1,0 mL mengandung 20 mcg HbsAg yang teradsorpsi pada 0,5 mg Al³⁺. Vaksin hepatitis B rekombinan diindikasikan untuk imunisasi aktif pada semua usia. Vaksinasi direkomendasikan pada orang yang beresiko tinggi terkena infeksi virus hepatitis B seperti petugas kesehatan, pasien transfusi, petugas lembaga yang sering kontak dekat dengan orang beresiko tinggi, ketergantungan obat, tinggal di daerah endemik, bayi yang lahir dari ibu pembawa virus hepatitis B.

Vaksin disuntikkan dengan secara intramuskular pada orang dewasa dan anak di bagian otot deltoid sedangkan pada bayi di bagian anterolateral paha. Kecuali pada orang dewasa kecenderungan pendarahan berat (seperti hemophilia), vaksin diberikan secara subkutan. Produk vaksin hepatitis B rekombinan ditunjukkan pada gambar 2.8.



Gambar 2.8 Vaksin Hepatitis B Rekombinan

Sumber: www.bumn.go.id

d. Flubio Vaksin Influenza HA

Vaksin influenza HA merupakan suspensi jernih (*slightly turbid*) yang mengandung hemagglutinin dari antigen virus

influenza. Tiap dosis vaksin mengandung strain A (H1N1) 15 mcg HA, A (H3N2) 15 mcg HA dan B 15 mcg HA.

Vaksin influenza dapat diberikan kepada orang sehat usia 12 tahun keatas sebanyak 0,5 mL per dosis secara intramuskular. Influenza bersifat musiman dan pemberian vaksin direkomendasikan sekali dalam setahun. Produk flubio vaksin influenza HA ditunjukkan pada gambar 2.9.



Gambar 2.9 Flubio Vaksin Influenza HA

Sumber: www.bumn.go.id

e. Vaksin Campak

Vaksin campak merupakan virus hidup yang dilemahkan dan vaksin beku kering berwarna kekuningan pada vial gelas yang harus dilarutkan hanya dengan pelarut vaksin campak kering produksi PT. Bio Farma Persero yang disediakan secara terpisah. Setiap dosis 0,5 mL vaksin yang telah dilarutkan mengandung virus campak strain CAM 70 tidak kurang dari 1000 CCID₅₀.

Vaksin digunakan untuk pencegahan penyakit campak. Imunisasi campak terdiri dari satu dosis tunggal 0,5 mL yang disuntikkan secara subkutan pada lengan atas setelah dilarutkan dengan pelarutnya. Vaksin diberikan pada anak usia 9 bulan. Produk vaksin campak ditunjukkan pada gambar 2.10.



Gambar 2.10 Vaksin Campak

Sumber: www.bumn.go.id

2.1.6.3 Vaksin Bakteri

a. Vaksin BCG (Beku Kering)

Vaksin BCG merupakan vaksin beku kering yang mengandung *Mycobacterium bovis* hidup yang dilemahkan (*Bacillus calmatte guerin*) strain Paris. Setiap ampul vaksin mengandung bakteri hidup 1,5 mg yang dilarutkan dalam NaCl 0,9%. Vaksin digunakan untuk pencegahan terhadap penyakit tuberrkuloza dengan merangsang tubuh membentuk antibodi. Produk vaksin BCG (Beku kering) ditunjukkan pada gambar 2.11.



Gambar 2.11 Vaksin BCG (Beku Kering)

Sumber: www.bumn.go.id

b. Vaksin Jerap DT

Vaksin DT merupakan suspensi koloidal homogen berwarna putih susu dalam sebuah vial gelas, mengandung toksoid tetanus 7,5 Lf dan toksoid difteri murni 20 Lf yang teradsorpsi ke dalam alumunium fosfat. Vaksin jerap DT untuk

pengecegan difteri dan tetanus pada anak usia 7 tahun. Produk vaksin jerap DT ditunjukkan pada gambar 2.12.



Gambar 2.12 Vaksin Jerap DT

Sumber: www.bumn.go.id

c. Vaksin TT

Vaksin TT digunakan untuk pencegahan terhadap tetanus, tetanus neonatal (tetanus pada bayi baru lahir) dan pada wanita usia subur. Setiap dosis mengandung toksoid tetanus murni 10 Lf. Imunisasi TT untuk pencegahan terdiri dari 2 dosis primer 0,5 mL yang diberikan secara intramuskular dengan interval 4-6 minggu, diikuti dengan dosis ketiga 6 bulan berikutnya. Produk vaksin TT ditunjukkan pada gambar 2.13.



Gambar 2.13 Vaksin TT

Sumber: www.bumn.go.id

d. Vaksin BIO-TD (Vaksin Jerap TD)

Vaksin TD merupakan vaksin yang mengandung toksoid tetanus dan toksoid difteri yang rendah. Vaksin TD telah dimurnikan dan teradsorpsi pada alumunium fosfat. Satu dosis vaksin mengandung potensi kurang dari 30 IU untuk toksoid difteri dan tidak kurang dari 40 IU untuk toksoid tetanus. Vaksin TD dapat digunakan untuk orang dewasa dan anak usia 7 tahun keatas.

Imunisasi ulangan terhadap tetanus dan difteri pada masing-masing individu mulai pada usia 7 tahun. Setiap dosis

0,5 mL mengandung toksoid tetanus 7,5 Lf dan toksoid difteri 2 Lf. Pemberian Vaksin Bio-TD untuk mengganti vaksin yang mengandung difteri dan tetanus harus melalui rekomendasi resmi karena dosis dalam vaksin ini lebih rendah. Produk vaksin bio-TD ditunjukkan pada gambar 2.14.



Gambar 2.14 Vaksin Bio-TD

Sumber: www.bumn.go.id

2.1.6.4 Antisera

a. Anti-Tetanus

Serum antitetanus merupakan antisera yang dibuat dari plasma kuda yang dikebalkan terhadap tetanus, serta mengandung fenol sebagai pengawetnya. Serum antitetanus berupa cairan bening kekuningan. Serum antitetanus 1500 IU digunakan untuk pencegahan tetanus pada luka yang terkontaminasi oleh debu atau bahan lain yang dapat menyebabkan infeksi pada *Clostridium tetani*. Sedangkan serum antitetanus 20000 IU digunakan untuk pengobatan terhadap tetanus.

Pemberian serum antitetanus dapat diberikan secara intramuskular atau intravena tergantung dari keadaan penderita. Vaksin ini merupakan imunisasi pasif yang mampu untuk menetralkan toksin tetanus yang beredar dalam darah penderita. Produk anti-tetanus ditunjukkan pada gambar 2.15.



Gambar 2.15 Anti-Tetanus

Sumber: www.bumn.go.id

b. Anti-Bisa Ular Polivalen

Antibisa ular polivalen merupakan antisera murni yang dibuat dari plasma kuda yang memberikan kekebalan terhadap bisa ular yang bersifat neurotoksik (seperti jenis ular *Naja sputatrix* – ular kobra, *Bungarus fasciatus* – ular belang) dan bersifat hemotoksik (*Agkistrodon rhodostoma* – ular tanah) yang banyak ditemukan di wilayah Indonesia. Zat aktif yang terkandung dalam serum ini yaitu *Agkistrodon rhodostoma* ≥ 10 LD₅₀, *Bungarus fasciatus* ≥ 25 LD₅₀ dan *Naja sputatrix* ≥ 25 LD₅₀. Produk anti-bisa ular polivalen ditunjukkan pada gambar 2.16.



Gambar 2.16 Anti-Bisa Ular Polivalen

Sumber: www.bumn.go.id

c. Anti-Difteri

Serum antidifteri digunakan untuk pencegahan penyakit difteri. Serum antidifteri dibuat dari hasil purifikasi plasma kuda (*Equine*) yang memiliki imunitas terhadap bakteri. Cara kerja serum antidifteri dengan memberikan imunisasi pasif pada tubuh manusia yang dapat menetralkan toksin yang beredar dalam darah penderita. Serum ini setiap mL mengandung zat

aktif antitoksin difteri 2000 UI yang dapat diberikan secara intramuskular atau intravena. Produk anti-difteri ditunjukkan pada gambar 2.17.



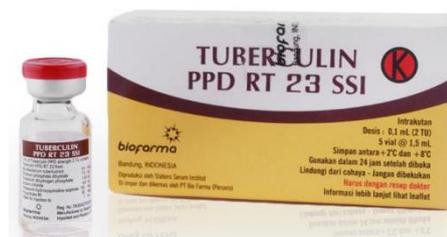
Gambar 2.17 Anti-Difteri
Sumber: www.bumn.go.id

2.1.6.5 Diagnostik

a. Tuberculin PPD RT 23 SSI

Tuberculin *Purified Protein Derivate* (PPD) RT 23 merupakan cairan bening yang mengandung PPD dari galur terpilih bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Tuberculin PPD RT 23 diproduksi dengan kekuatan 2 tuberkulin unit (T.U). Satu T.U setara 0,02 mcg tuberculin PPD RT 23.

Produk ini untuk tujuan diagnostik yaitu uji *mantoux* dengan tuberculin PPD RT 23 yang dapat menentukan seseorang yang terinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*. Produk tuberculin PPD RT 23 SSI ditunjukkan pada gambar 2.18.

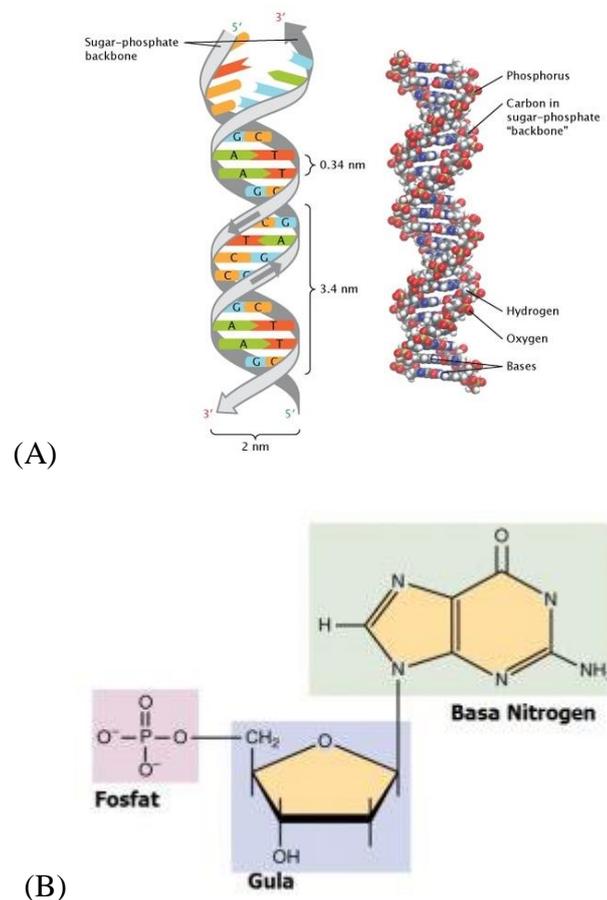


Gambar 2.18 Tuberculin PPD RT 23 SSI

2.2 Deoxyribonucleic Acid (DNA)

Deoxyribonucleic acid (DNA) merupakan makromolekul berbentuk seperti benang sangat panjang yang tersusun dari sejumlah besar deoksiribonukleotida, yang masing-masing tersusun atas satu basa, satu gula dan satu gugus fosfat. DNA merupakan suatu senyawa kimia (polinukleotida) yang penting pada makhluk hidup yang berperan membawa materi genetik yang khas pada kromosom dari suatu generasi ke generasi berikutnya. Kromosom itu sendiri adalah benda-benda halus berbentuk lurus seperti batang atau bengkok dan terdiri dari zat yang mudah mengikat zat warna di dalam nukleus. Kromosom berfungsi untuk membawa sifat individu dan membawa informasi genetik karena di dalam kromosom terdapat gen. Gen adalah suatu bagian yang menempati suatu lokus pada kromosom yang mengandung satuan informasi genetika dan mengatur sifat menurun tertentu. Basa pada molekul DNA membawa informasi genetik sedangkan gula dan gugus fosfat memiliki peran struktural. Gula dalam deoksiribonukleotida adalah deoksiribosa. Sebuah deoksi menunjukkan bahwa gula ini kekurangan satu atom oksigen pada ribosa (senyawa induknya). Sebuah deoksi juga merupakan suatu modifikasi dari gula ribosa yaitu pada gula dengan lima atom karbon, yang mana pada atom karbon nomor dua kehilangan atom oksigennya. Basa nitrogen merupakan derivat purin dan pirimidin. Purin dalam DNA adalah adenin (A) dan guanin (G) serta pirimidin adalah timin (T) dan sitosin (C). Basa purin memiliki dua buah cincin (bisiklik) sedangkan basa pirimidin memiliki satu cincin (monosiklik) sehingga adenin selalu berikatan dengan timin dan membentuk dua ikatan hidrogen dan sitosin selalu berikatan dengan guanin dan membentuk tiga ikatan hidrogen. Sebuah nukleosida terdiri dari basa purin atau pirimidin yang berikatan dengan gula. Sedangkan sebuah nukleotida adalah sebuah ester fosfat dari suatu nukleosida. Tempat proses esterifikasi paling umum dalam nukleotida secara alamiah adalah gugus hidroksil C-5 pada gula (Dadan, 2015).

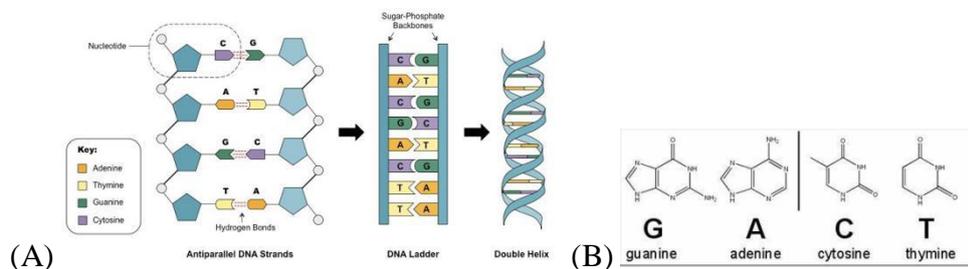
Menurut Francis Crick dan James Watson (1953) bahwa model molekul DNA sebagai suatu bentuk heliks beruntai ganda atau lebih dikenal dengan heliks ganda Watson-Crick. DNA merupakan makromolekul polinukleotida yang tersusun dari polimer nukleotida yang berulang-ulang, tersusun rangkap dengan membentuk DNA heliks ganda dan berpilin ke kanan. Setiap nukleotida terdiri dari tiga gugus molekul, yaitu gula 5 karbon (2-deoksiribosa), basa nitrogen yang terdiri dari golongan purin yaitu adenin (A) dan guanin (G) serta golongan pirimidin yaitu sitosin (C) dan timin (T) dan gugus fosfat. Model struktur DNA Watson-Crick dan struktur nukleotida ditunjukkan pada gambar 2.19.



Gambar 2.19 Struktur DNA Model Watson-Crick (A) dan nukleotida (B)

Sumber: <https://www.nature.com/scitable/topicpage/discovery-of-dna-structure-and-function-watson-397/> dan <https://usaha321.net/nukleotida-struktur-fungsi-dan-contoh.html>

Asam deoksiribonukleat, lebih dikenal dengan DNA, merupakan sejenis asam nukleat yang tergolong biomolekul utama penyusun berat kering setiap organisme. DNA umumnya terletak di dalam inti sel. DNA berperan sebagai materi genetik yang mana menyimpan cetak biru (*blue print*) bagi segala aktivitas sel. DNA merupakan makromolekul yang terdiri atas basa nitrogen, gula pentosa (deoksiribosa) dan gugus fosfat. Basa nitrogen yang terkandung ada dua jenis yaitu basa purin dan basa pirimidin. Basa purin terdiri dari adenin (A) dan timin (T) sedangkan basa pirimidin terdiri dari guanin (G) dan sitosin (C). Basa nitrogen tersebut akan membentuk rangkaian senyawa kimia dengan gula pentosa membentuk nukleosida. Kemudian nukleosida akan berikatan dengan gugus fosfat membentuk rantai panjang yang disebut dengan nukleotida. Nukleotida ini yang akan menyusun molekul DNA. DNA bersifat asam karena memiliki gugus fosfat yang mana pada pH fisiologis gugus fosfat bermuatan negatif karena proton di dalamnya dapat hilang dengan mudah. Struktur DNA berbentuk *double helix* (tangga tali berpilin). Terdapat beberapa ikatan yang ada di dalam struktur DNA, yaitu ikatan hidrogen, ikatan glikosidik dan ikatan fosfodiester. Ikatan hidrogen merupakan ikatan antara basa nitrogen satu dengan basa nitrogen lainnya. Ikatan ini tergolong ikatan lemah dan membantu dalam proses pembelahan dan sintesis protein. Ikatan glikosidik merupakan ikatan antara basa nitrogen dengan gula pentosa. Ikatan fosfodiester merupakan ikatan antara gula pentosa dan gugus fosfat dengan gula lainnya (Wahyu, 2013). Struktur DNA dan struktur ATGC ditunjukkan pada gambar 2.20.



Gambar 2.20 Struktur DNA (A) dan struktur ATGC (B)

Sumber: <https://www.zenius.net/blog/20132/sejarah-penemuan-dna>
dan <https://brainly.co.id/tugas/9854451>

Asam deoksiribonukleat memiliki fungsi dan peran yang sangat kompleks, yaitu sebagai pembawa materi genetik dari generasi ke generasi selanjutnya, mengontrol aktivitas hidup secara langsung maupun tidak langsung, melakukan sintesis protein, sebagai autokatalis (kemampuan replikasi diri) dan sebagai heterokatalis (kemampuan untuk mensintesis senyawa lain) (Wahyu, 2013).

Sebuah sel memiliki DNA yang merupakan materi genetik dan bersifat hereditas pada seluruh sistem kehidupan. Genom merupakan paket lengkap materi genetik (DNA) yang dimiliki suatu organisme dan terorganisasi menjadi kromosom. DNA dapat diisolasi baik dari sel hewan, manusia maupun pada tumbuhan. Isolasi DNA memiliki beberapa tahapan, yaitu isolasi sel, lisis dinding dan membran sel, ekstraksi dalam larutan, purifikasi dan presipitasi. Adapun prinsip-prinsip dalam melakukan isolasi DNA ada dua, yaitu sentrifugasi dan presipitasi. Prinsip sentrifugasi adalah memisahkan substansi berdasarkan berat jenis molekul dengan cara memberikan gaya sentrifugal sehingga substansi yang lebih berat akan berada di dasar, sedangkan substansi yang lebih ringan akan berada di atas. Sedangkan prinsip presipitasi adalah mengendapkan substansi target dengan membentuk dua lapisan dalam larutan yaitu supernatan (substansi berupa larutan) dan pelet (substansi berupa endapan). Prinsip dasar isolasi DNA adalah dengan memecah dan mengekstraksi sel tersebut sehingga akan terbentuk ekstrak sel yang terdiri atas sel-sel jaringan, DNA dan RNA. Kemudian ekstrak sel dipurifikasi sehingga menghasilkan pelet yang murni mengandung DNA total (Faatih, 2009).

Pengecekan kuantitas dan kualitas DNA hasil isolasi perlu dilakukan untuk melihat konsentrasi dan kemurniannya dengan menggunakan spektrofotometer dan elektroforesis gel. Pengukuran konsentrasi DNA dan RNA pada panjang gelombang 260 nm sedangkan pengukuran konsentrasi protein diukur pada panjang gelombang 280 nm. Kemurnian larutan DNA dapat dihitung dengan perbandingan $A_{260\text{ nm}}$ dengan $A_{280\text{ nm}}$. Batas kemurnian yang biasa dipakai dalam

analisis molekuler pada rasio A260/A280 adalah 1,8 – 2,0. Batas kemurnian ini menunjukkan DNA optimum yang murni terisolasi dari pengotor-pengotornya. (Sambrook dan Russel dalam Syafaruddin, 2011).

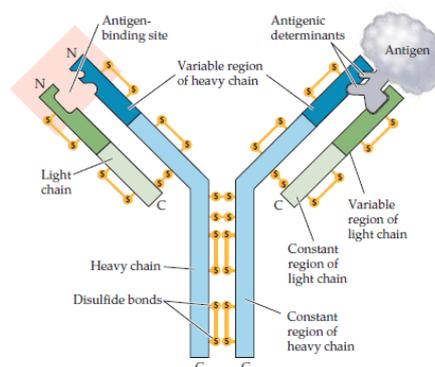
2.3 Gen *Light Chain* (LC)

Antibodi merupakan bagian pertahanan tubuh yang untuk menghilangkan atau mengurangi benda asing yang masuk ke dalam tubuh. Mekanisme kerja antibodi dalam tubuh dimulai dengan diikatnya epitop (bagian antigen) oleh antibodi. Ikatan ini akan membentuk kompleks antigen dengan antibodi yang berukuran besar dan akhirnya mengendap. Kompleks antigen dengan antibodi dapat dikenali oleh sel makrofag yang nantinya akan mendegradasi kompleks ini. Antibodi mempunyai struktur yang hampir sama yang berbentuk huruf Y dan disebut dengan Ig. Ig terdiri dari dua rantai polipeptida yang berukuran besar (disebut dengan rantai berat/*Heavy Chain*) dan dua rantai polipeptida yang berukuran kecil (disebut dengan rantai ringan/*Light Chain*). Satu rantai berat dengan rantai ringan dihubungkan dengan ikatan sulfida. Dua jenis rantai ringan disebut dengan gamma dan kappa sedangkan terdapat banyak jenis rantai berat. Rantai berat ini menentukan apakah antibodi tersebut termasuk golongan IgG, IgM, IgA, IgA, IgD atau IgE. Rantai ringan terdiri dari dua bagian, yaitu bagian lestari (*conserved/Fc*) dan bagian variabel (*fab*). Bagian lestari merupakan bagian yang mempunyai urutan asam amino yang hampir sama dengan antibodi yang dihasilkan akibat respon antigen yang berbeda. Sedangkan bagian variabel merupakan bagian yang mempunyai urutan asam amino yang berbeda. Apabila jenis antibodi sama tetapi urutan asam amino bagian variabel akan berbeda jika antigen yang direspon oleh antibodi berbeda (Emantoko, 2001).

Antibodi atau bisa disebut dengan imunoglobulin (Ig) dibentuk oleh sel plasma dari proses proliferasi sel B yang terjadi setelah kontak dengan antigen. Antibodi terbentuk secara spesifik akan mengikat antigen baru lainnya yang sejenis. Molekul imunoglobulin mempunyai empat rantai polipeptida dasar yang

terdiri dari dua rantai berat (*Heavy Chain*) dan dua rantai ringan (*Light Chain*) yang identik dan dihubungkan oleh sebuah ikatan disulfida. Bagian variabel rantai-L dengan rantai-H membentuk ujung dari Fab (fragmen yang bisa mengikat antigen) dapat menentukan sifat yang khas dari antibodi. Setiap molekul immunoglobulin mempunyai dua bagian Fab maka struktur dasar immunoglobulin dapat mengikat dua antigen. Setiap orang mempunyai dua macam rantai-L, yaitu rantai-k (rantai kappa) dan rantai- λ (rantai lambda) perbandingan rantai-k dengan rantai- λ adalah 65 : 35 (dalam persen) atau dapat dikatakan menggunakan ratio 2 : 1. Kedua rantai ini mempunyai berat molekul yang sama yaitu 23000 (Mahfudloh, 2010).

Antibodi merupakan glikoprotein yang mengikat antigen spesifik. Antibodi diproduksi sebagai respon terhadap invasi molekul asing dalam tubuh. Antibodi berbentuk Y dan terdiri dari empat rantai polipeptida. Setiap Y berisi dua salinan identik rantai berat dan dua salinan identik rantai ringan yang berbeda dalam urutan dan panjangnya. Bagian paling atas bentuk Y berisi bagian variabel yang mengikat erat antigen ke epitop. Rantai yang terdapat pada antibodi diklasifikasikan sebagai jenis kappa (k) atau lambda (λ) berdasarkan perbedaan dalam urutan polipeptida. Rantai ringan pada mamalia memiliki dua bagian berurutan, yaitu satu bagian konstan dan satu bagian variabel. Panjang dari rantai ringan adalah 211-217 asam amino (Abcam, 2020). Struktur antibodi ditunjukkan pada gambar 2.21.



Gambar 2.21 Struktur Antibodi

Sumber: https://www.researchgate.net/figure/Gambar-1-3-Struktur-IgG-Murphy-2012_fig1_325281195

Menurut Song dkk. (2000), rantai ringan (*Light Chain*) dari antibodi alami mempunyai peran penting dan dominan dalam pengikatan antigen protein. Hal ini dibuktikan dalam melakukan perpitaingan afinitas setiap fragmen antibodi rekombinan menggunakan metode Allore dan Baller. Afinitas rantai ringan lebih besar dibandingkan dengan fragmen lainnya. Hasil tersebut dapat menunjukkan bahwa rantai ringan mempunyai peranan yang lebih dominan daripada rantai berat dalam pengikatan antigen kemudian melakukan pembuktian menggunakan metode ELISA dan mendapatkan hasil kapasitas pengikatan rantai ringan untuk virus lebih besar daripada fragmen lainnya. Hasil tersebut menunjukkan pula bahwa rantai ringan mempunyai kontribusi yang cukup besar dalam pengikatan antigen.

2.4 Trastuzumab

Trastuzumab (herceptin) merupakan antibodi monoklonal yang menargetkan gen HER2 (*Human Epridermal Growth Factor Receptor 2*) untuk interferensi terapeutik. Antibodi *trastuzumab* merupakan satu-satunya antibodi terapeutik yang disetujui FDA (*US Food and Drug Administration*) untuk mengobati kanker payudara HER2-positif. *Trastuzumab* digunakan untuk terapi lini pertama untuk pasien kanker payudara metastasis HER2-positif dengan penambahan *paclitaxel*. *Trastuzumab* bertindak sebagai obat tunggal yang digunakan untuk terapi lini kedua dan ketiga untuk pasien HER2-positif yang sebelumnya telah menerima satu atau lebih obat kemoterapi. HER merupakan sebuah glikoprotein yang terikat dengan membran sel. Gen HER terdiri dari empat bagian yang berbeda, yaitu HER1, HER2, HER3 dan HER4. Bagian ini dibagi menjadi tiga bagian, yaitu daerah pengikatan ligan ekstraseluler, daerah intraseluler dengan akitfitas tirosin kinase dan daerah yang membentang membran sel dan jangkar ke bagian sel. Gen HER2 (HER2/neu, gen ErbB2) terletak

dibagian lengan panjang kromosom dan diekspresikan berlebih sebanyak 20-30% pada kanker payudara stadium awal. Pemicu dari sebagian besar target HER adalah pengikatan mitogen ke bagian ligan reseptor HER. Namun, tidak ada mitogen (ligan) yang diketahui untuk HER2. Gen HER2 diekspresikan berlebih mengirimkan sinyal tanpa mitogen dan mengikat target apapun. Sinyal-sinyal ini yang menyebabkan invasi, kelangsungan hidup dan angiogenesis sel tumor (Gemmete dan Mukherji, 2011).

Trastuzumab merupakan DNA rekombinan yang berasal dari antibodi monoklonal yang secara selektif menargetkan domain ekstraseluler dari reseptor protein faktor pertumbuhan epidermal manusia (HER2). *Trastuzumab* menghambat proliferasi sel-sel tumor yang berekspresi berlebihan HER2 dan memediasi sitotoksitas yang dimediasi oleh sel-sel antibodi (ADCC) pada sel-sel HER2 yang diekspresikan berlebih (*Drug Monograph*, 2020).

2.5 Sel *Chinese Hamster Ovary* (CHO)

Sel *Chinese Hamster Ovary* (CHO) merupakan sistem ekspresi yang berasal dari mamalia yang paling banyak digunakan untuk produk biofarmasi. Sel CHO digunakan sebagai inang produksi karena memiliki karakteristik yang baik dan aman dibandingkan dengan sel lain yang digunakan untuk ekspresi protein rekombinan. Sel CHO dapat mengurangi kerentanan (resisten) terhadap infeksi virus tertentu yang dapat menginfeksi sel mamalia lainnya, infeksi yang ditimbulkan oleh manusia serta retrovirus murin dengan beberapa virus. Selain itu, sel CHO tidak seperti sel hewan lainnya yang tidak dapat menghasilkan retrovirus infeksi yang dapat bereplikasi dalam sel mamalia terutama dalam sel manusia. Sel CHO umumnya menghasilkan partikel retroviral yang tidak menular karena infektivitas sel rendah (Duroy dkk., 2019).

Sel CHO sering digunakan untuk produksi protein karena mempunyai beberapa keunggulan, antara lain sel inang yang aman dalam produksi obat, tingkat produksi protein yang dihasilkan dapat ditingkatkan dengan cara

melakukan amplifikasi gen dengan penambahan bahan tertentu pada media pertumbuhan, mempunyai kapasitas untuk melakukan modifikasi paska proses translasi dan dapat diadaptasikan untuk tumbuh secara suspensi. Hal ini membuat protein yang dihasilkan mempunyai struktur glikosilasi yang sesuai dengan sistem dalam tubuh manusia dan akan aktif secara biologis ketika masuk ke tubuh sehingga mempunyai fungsi yang diharapkan. Berbeda dengan obat berbasis molekul kecil yang diproduksi secara kimia, obat berbasis molekul besar (protein) diproduksi dalam sel hidup menggunakan teknologi rekayasa genetik. Produksi obat berbasis protein mula-mula dilakukan dengan mendesain suatu DNA dimana DNA tersebut kemudian ditransfeksikan ke dalam suatu sel inang (*host Cell*). Sel inang tersebut diperlakukan khusus untuk menghasilkan proten yang diinginkan sehingga dapat menghasilkan obat berbasis protein (LIPI, 2019).

2.6 Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan suatu teknik sintesis dan amplifikasi DNA secara *in vitro*. Teknik PCR dapat digunakan untuk mengamplifikasi segmen DNA dalam jumlah jutaan kali hanya dalam waktu yang tidak lama. Proses PCR memiliki beberapa tahap, yaitu pra-denaturasi cetakan DNA, denaturasi cetakan DNA, penempelan primer pada cetakan (*annealing*), pemanjangan primer (*extension*), dan pemantapan (*post-extension*). Komponen-komponen yang diperlukan dalam proses PCR adalah cetakan DNA, sepasang primer, dNTPS (*deoxynucleotide triphosphates*), buffer PCR, magnesium klorida ($MgCl_2$) dan enzim polimerase DNA (Handoyo dan Rudiretna, 2001).

Polymerase Chain Reaction merupakan teknik yang melibatkan beberapa tahap yang berulang (siklus) dan pada setiap siklus akan terjadi duplikasi jumlah target DNA untai ganda. Untai ganda cetakan DNA (*unamplified DNA*) dipisahkan dengan denaturasi termal dan kemudian didinginkan hingga mencapai suhu tertentu untuk memberikan waktu pada sebuah primer menempel (*anneal primer*) pada daerah tertentu dari DNA target. Polimerase DNA digunakan untuk

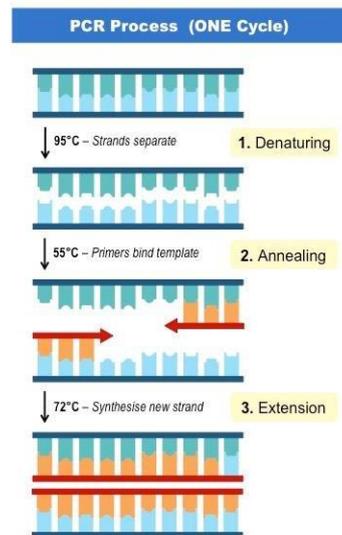
memperpanjang primer (*extend primers*) dengan adanya dNTPs dan buffer yang sesuai. Umumnya proses ini dilakukan antara 20-40 siklus. DNA target yang diinginkan akan meningkat secara eksponensial setelah siklus keempat dan DNA non-target (*short target product*) akan meningkat secara linier (*long product*) (Newton dan Graham, 1994).

PCR atau reaksi berantai polimerase merupakan suatu metode enzimatik dalam bidang biologi molekuler yang bertujuan untuk melipatgandakan secara eksponensial suatu sekuens nukleotida tertentu dalam jumlah kelipatan salinan secara *in vitro* (Yuwono, 2006). Proses PCR merupakan proses siklus berulang meliputi tahap denaturasi, pemisahan kedua untai DNA menggunakan temperatur tinggi. DNA akan terdenaturasi pada temperatur 90-97 °C. Proses denaturasi optimum terjadi pada temperatur 95 °C selama 30 detik. Proses *annealing* (penempelan primer pada pita DNA yang sesuai) pada temperatur 55-60 °C selama 30 detik. Proses ekstensi oleh enzim DNA polimerase pada temperatur 72 °C dalam waktu yang disesuaikan dengan panjang atau pendeknya ukuran DNA yang diharapkan sebagai produk amplifikasi. Umumnya waktu yang digunakan pada proses ekstensi pada PCR yaitu 2-3 menit (Joshi dan Deshpande, 2010). PCR memiliki keunggulan yaitu mampu melipatgandakan suatu fragmen DNA sehingga mencapai 109 kali lipat. Oleh karena itu, adanya kontaminasi dalam jumlah sangat sedikit sekalipun dapat mengakibatkan terjadinya kesalahan dengan menghasilkan produk amplifikasi yang tidak diharapkan. Amplikon atau hasil amplifikasi DNA dapat dilihat melalui teknik elektroforesis. DNA amplikon akan diberi pewarnaan tertentu yang akan berfluoresens ketika dipaparkan dibawah sinar UV level medium dengan panjang 300 nm (Feranisa, 2016).

Analisis genetik dengan menggunakan metode PCR yang memanfaatkan cara dengan mereplikasi DNA dengan bantuan primer yang mengapit daerah tertentu dan optimasi suhu dilakukan untuk mendapatkan kondisi PCR yang optimal sehingga dihasilkan PCR spesifik yaitu terbentuk pita DNA tebal. Proses PCR dimulai dengan proses denaturasi yaitu pemisahan dua untai DNA yang saling bergabung (*double helix*) menjadi dua untai DNA tunggal yang dilakukan

pada suhu tinggi kemudian dilanjutkan proses *annealing* yaitu penempelan primer pada DNA cetakan untuk awal pembentukan basa nitrogen pasangannya. Lalu dilanjutkan dengan proses *extention* yaitu perpanjangan pembentukan basa nitrogen dari DNA cetakan (Wahyudi, 2007).

Proses *annealing* merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi berhasil atau tidak adalah temperatur karena proses penempelan primer pada untai DNA yang sudah terbuka memerlukan suhu optimal. Jika suhu terlalu tinggi maka akan menyebabkan kegagalan amplifikasi karena tidak terjadi penempelan primer. Jika suhu terlalu rendah maka primer akan menempel pada sisi lain yang mengakibatkan spesifitas DNA rendah. Oleh karena itu, proses *annealing* merupakan proses yang sangat penting untuk mendapatkan jumlah maksimum DNA yang dapat menempel dengan sempurna (Ludyasari, 2016). Proses PCR ditunjukkan pada gambar 2.22.



Gambar 2.22 Proses PCR

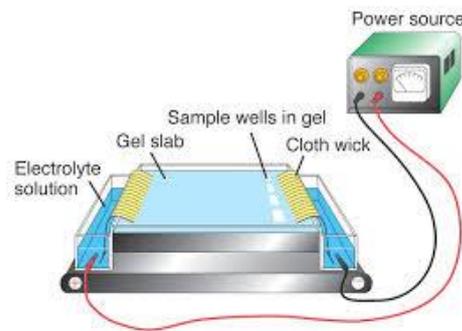
Sumber: <https://docplayer.info/61773644-Metode-metode-dalam-biologi-molekuler-isolasi-dna-pcr-kloning-dan-elisa.html>

2.7 Elektroforesis Menggunakan Gel Agarosa

Elektroferesis merupakan suatu analisis kimiawi yang berdasarkan pada pergerakan molekul-molekul protein bermuatan menggunakan medan listrik (titik isoelektrik). Pergerakan molekul dipengaruhi oleh bentuk, ukuran, besar muatan dan sifat kimia dari molekul. Proses pemisahan dilakukan berdasarkan perbedaan ukuran berat molekul dan muatan listrik yang dikandung oleh makromolekul tersebut. Apabila ada arus listrik dialirkan pada suatu medium penyangga yang telah berisi protein plasma, maka komponen-komponen protein tersebut akan bermigrasi. Metode pemisahan ini menggunakan larutan penyangga yang mengandung makromolekul ditempatkan dalam suatu kamar tertutup dan dialiri arus listrik. Kecepatan komponen protein bermigrasi diukur dengan jalan melihat terjadinya pemisahan dari molekul (terlihat seperti pita) di dalam pelarut. Media penunjang yang dipakai adalah gel agarosa dengan model horizontal. Metode ini mempunyai keuntungan, yaitu peralatan sederhana, relatif murah dan menghasilkan pemisahan yang lebih baik (Pratiwi, 2001).

Elektroforesis merupakan sebuah metode pemisahan yang memanfaatkan medan listrik yang dihasilkan dari elektroda-elektroda untuk memisahkan senyawa yang memiliki muatan berupa kation atau anion. Metode ini membutuhkan media pemisah berupa fase diam seperti gel agarosa yang tercampur dengan larutan buffer untuk menjaga kondisi keasaman sampai saat proses pemisahan. Semakin besar viskositas (kekentalan) fluida maka akan semakin sulit suatu fluida mengalir dan bergerak. Laju alir dalam elektroforesis tergantung pada kekentalan medium, ukuran atau bentuk dan muatan molekul. Kekuatan asam yang terkandung dalam medium juga mempengaruhi besar muatan pada saat ionisasi berlangsung. Media pemisah dapat berupa gel pati atau poliakrilamid dan gel agarosa. Metode ini memiliki beberapa komponen, yaitu larutan elektrolit, larutan buffer, media pemisah, elektroda dan medan listrik. Larutan elektrolit digunakan sebagai pembawa komponen. Larutan buffer digunakan untuk menjaga pH selama proses pemisahan sesuai dengan karakteristik senyawa yang akan dipisahkan. Elektroda digunakan sebagai

penghubung arus listrik dengan media pemisah dan baterai atau arus listrik sebagai sumber energi pada rangkaian alat. Media pemisah digunakan sebagai tempat proses pemisahan terjadi. Media pemisah yang digunakan adalah gel agarosa. Gel agarosa merupakan metode standar untuk mengidentifikasi dan memurnikan fragmen-fragmen *Deoxyribose Nucleic Acid* (DNA) dan *Ribose Nucleic Acid* (RNA). Senyawa-senyawa tersebut merupakan senyawa pembawa genetika pada makhluk hidup. Pemisahan senyawa tersebut dilakukan pada medan listrik horizontal. Kelebihan dari gel agarosa, yaitu lebih mudah, sederhana, lajur pemisahan cepat membentuk fragmen dan tidak bersifat toksik (Harahap, 2018).



Gambar 2.23 Proses Elektroforesis Gel Agarosa

Sumber: www.rumahbiotek.com

BAB III

METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian

Penelitian dilakukan pada tanggal 02 Januari 2020 hingga 20 Maret 2020. Bertempat di Laboratorium Matriks Riset PT. Bio Farma Persero Bandung.

3.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada pengujian ini yaitu larutan etanol (C₂H₅OH) 70%, larutan PBS (*Phospat Buffered Saline*), larutan lisis sel, larutan lisis nukleus, larutan rehidrasi DNA, larutan pengendap protein, larutan RNase, larutan isopropanol (C₃H₇OH), es batu, *hoggy/tissue*, tips steril, larutan *bleach* 0,5%, *Go Taq Master Mix* (DNA Polimerase, Deoksiribonukleosida Trifosfat (dNTP), Buffer 10X dan Magnesium Klorida (MgCl₂)), larutan *Nuclease Free Water* (ddH₂O, NFW), primer *forward*, primer *reverse*, *ladder* 100bp DNA, *Loading-Dye Blue/Orange* 6X, larutan buffer TBE 1X (Tris 1,0 M, *Boric Acid* 0,9 M, dan EDTA 0,01 M) pH 8,4, larutan *Syber Safe DNA Gel Stain*, bubuk agarosa, *Water For Injection* (WFI), plastik steril dan parafilm.

3.3 Alat

Alat yang digunakan pada pengujian ini yaitu neraca analitik *Sartorius Cubis*, seperangkat alat PCR *Applied Biosystem Veriti*, seperangkat alat *running* agarosa, *Nano Photometer Implen*, mikropipet 1-10 µL *Thermo Scientific*, mikropipet 10-100 µL *Thermo Scientific*, mikropipet 100-1000 µL *Thermo Scientific*, Erlenmeyer 100 mL *Pyrex*, gelas beaker *Scott Duran*, gelas ukur 100 mL IWAKI, gelas ukur 1000 mL IWAKI, botol gelas 1 L *Scott Duran*, 1,5 mL tabung *microsentrifuge Eppendorf*, tabung PCR, rak tabung biasa, rak tabung pendingin, sentrifuge *Hettich Zentrifugen*, vortex, inkubator *Benchmark Multi-Therm*, pingset, spatula, *PCR Chamber by Plas Labs*, botol

limbah, botol semprot, *microwave Elecrolus*, power listrik, dan alat UV *Maestrogen*.

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Isolasi DNA Metode *Kit Wizard Genomic DNA Purification* (Promega, 2010)

Sel hasil kultivasi *Trastuzumab* dipanen lalu diambil 1 mL sel dan dimasukkan ke dalam 1,5 mL tabung *microcentrifuge*. Sel tersebut disentrifugasi dengan kecepatan 14.000 rpm selama 10 detik kemudian dibuang supernatan, disisakan pelet dengan 10-50 μ L sisa larutan supernatan. Pelet tersebut dicuci dengan 200 μ L larutan PBS dan dihomogenkan menggunakan vortex. Larutan sampel disentrifugasi kembali dengan kecepatan 14.000 rpm selama 10 detik dan dibuang supernatan yang mengandung larutan PBS. Larutan sampel ditambahkan 600 μ L larutan lisis nukleus dan dihomogenkan dengan cara resuspensi (*up and down*) menggunakan mikropipet hingga tidak ada gumpalan yang terlihat. Larutan sampel ditambahkan 3 μ L larutan RNase, dihomogenkan, diinkubasi selama 15-30 menit 37 °C lalu dibiarkan sampel sampai suhu ruang selama 5 menit. Setelah sampel sudah mencapai suhu ruang, ditambahkan 200 μ L larutan pengendap protein, divortex dengan kecepatan tinggi selama 20 detik, dan didinginkan dalam es selama 5 menit. Larutan sampel disentrifugasi kembali selama 4 menit dengan kecepatan 14.000 rpm (DNA membentuk pelet putih). Supernatan yang mengandung pelet putih DNA diambil hati-hati dan dipindahkan ke dalam 1,5 mL tabung *microcentrifuge* yang bersih berisi 600 μ L isopropanol (disisakan sedikit supernatan untuk menghindari kontaminasi DNA dengan protein yang terendapkan). Larutan tersebut dihomogenkan dengan hati-hati secara inversi sampai terbentuk benang putih DNA. Larutan sampel disentrifugasi dengan kecepatan 14.000 rpm selama 1 menit dan dibuang supernatan

dengan hati-hati. Larutan sampel kemudian ditambahkan 600 μL etanol, dihomogenkan hati-hati dengan cara inversi dan disentrifugasi kembali dengan kecepatan 14.000 rpm selama 1 menit. Supernatan yang mengandung etanol diambil dengan hati-hati karena pelet DNA sangat rapuh. Tabung dibalik pada kertas penyerap yang bersih, lalu dikeringanginkan pelet selama 10-15 menit di dalam LAF (*Laminar Air Flow*). Pelet yang sudah kering ditambahkan 100 μL larutan rehidrasi DNA dan dihomogenkan dengan *mentapping* tabung secara lembut atau perlahan. Hasil isolasi DNA disimpan pada suhu 2-8 °C. Sampel dilakukan dengan pengulangan tiga kali (Triplo) dengan perlakuan yang sama.

3.4.2 Pengukuran Konsentrasi dan Kemurnian DNA

Pengukuran konsentrasi dan kemurnian DNA dilakukan menggunakan *Nano Drop Photometer Plan*. Pertama-tama alat tersebut dihidupkan dan diatur untuk analisa nukleus dengan menggunakan perpitaingan panjang gelombang 260 dan 280 nm. Alat dibersihkan menggunakan *hoggy* dan dipastikan alat dalam keadaan baik dan optimum. Nama sampel diatur sesuai dengan yang akan dianalisa. Larutan rehidrasi DNA dipipet 2 μL sebagai larutan blanko ke dalam tempat sampel dengan hati-hati hingga membentuk bulatan sempurna. Tempat sampel ditutup lalu diukur larutan blanko dengan ditekan menu *measurement blank*. Larutan hasil isolasi DNA dipipet 2 μL ke dalam tempat sampel tadi dengan hati-hati hingga membentuk bulatan sempurna. Tempat sampel ditutup lalu diukur dengan ditekan menu *run test*. Pengukuran ketiga sampel diulangi hingga tiga kali pengulangan pembacaan lalu hasil konsentrasi dan kemurnian yang terbaca diamati.

3.4.3 Pembuatan Gel Agarosa 1,2%

Pembuatan gel agarosa 1,2% berdasarkan *well*/sumur yang akan digunakan. Proses *running* menggunakan 8 *well* sehingga dibutuhkan gel agarosa dengan konsentrasi 1,2%. Berikut ini rumus perhitungan untuk menentukan jumlah bubuk agarosa yang harus ditimbang untuk 35 mL larutan.

$$\text{Massa Agarosa (g)} = \frac{1,2 \text{ gram} \times 35 \text{ mL}}{100 \text{ mL}}$$

Bubuk agarosa ditimbang sebanyak 0,4200 gram kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 mL. Larutan TBE 1X pH 8,4 ditambahkan 35 mL dan larutan *Syber Safe DNA Gel Stain* 3,5 mL. Larutan pada erlenmeyer ditandai batas atas untuk mengetahui seberapa banyak larutan yang dapat menguap ketika dipanaskan dengan *microwave*. Larutan tersebut dihomogenkan lalu dipanaskan dengan *microwave* karena bubuk agarosa dapat homogen dengan cara dipanaskan dan dipastikan kembali bubuk agarosa sudah homogen atau belum. Larutan TBE ditambahkan hingga tanda batas atas larutan. Larutan agarosa didiamkan hingga hangat kuku. Setelah sudah hangat kuku, larutan agarosa dituang perlahan-lahan ke dalam cetakan gel dan dipastikan tidak ada gelembung yang terbentuk kemudian ditunggu larutan mengeras membentuk gel selama 1 jam. Gel agarosa tersebut dapat digunakan untuk elektroforesis.

3.4.4 Optimasi Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Proses optimasi ini memerlukan 2 tahap optimasi yaitu optimasi pertama berdasarkan suhu primer yang digunakan dan optimasi kedua berdasarkan suhu yang sesuai antara gen *Heavy Chain* dengan *Light Chain*. Perhitungan untuk menentukan seberapa banyak reagen yang dibutuhkan ditunjukkan pada tabel 3.1.

Tabel 3.1. Perhitungan Reagen PCR

Reaksi	1X (Reaksi Awal)	8X (Optimasi Pertama)	6X (Optimasi Kedua)
<i>Go Taq Master Mix</i>	12,5 μ L	12,5 x 8 = 100 μ L	12,5 x 6 = 75 μ L
<i>Nucleic Free Water</i> (NFW)	10,85 μ L	10,85 x 8 = 86,8 μ L	10,85 x 6 = 65,1 μ L
Primer <i>Forward</i>	0,4 μ L	0,4 x 8 = 3,2 μ L	0,4 x 6 = 2,4 μ L
Primer <i>Reverse</i>	0,25 μ L	0,25 x 8 = 2 μ L	0,25 x 6 = 1,5 μ L
Sampel (Masing-masing tabung)	1 μ L	1 x 8 = 8 μ L	1 x 6 = 6 μ L
Jumlah	25 μ L	200 μ L	150 μ L

Optimasi pertama mula-mula alat dan bahan yang diperlukan disiapkan kemudian dinyalakan seperangkat alat PCR. Alat PCR diatur dengan mengubah *setting/run method* pada alat yaitu untuk proses *denaturing* digunakan suhu 95 °C selama 2 menit dan suhu 95 °C selama 30 detik, proses *annealing* digunakan suhu 61,0; 62,5; 64,0; 65,5; 67,0 dan 68,5 °C selama 30 detik, proses *extantion* digunakan suhu 72 °C selama 1 menit dan suhu 72 °C selama 5 menit, dan proses *refrigeration* digunakan suhu 4 °C selama waktu yang tidak ditentukan. Siklus yang diinginkan diatur sebanyak 30 siklus. Tabung sampel disiapkan 1 tabung mikro dan 7 tabung PCR steril yang mana 1 tabung mikro untuk larutan awal, 6 tabung untuk sampel sebagai kontrol positif dan 1 tabung untuk kontrol negatif uji. Pertama-tama *Go Taq Master Mix* 100 μ L, larutan NFW 86,8 μ L, primer *forward* 3,2 μ L dan primer *reverse* 2 μ L ditambahkan ke dalam *micro tabung*. Larutan tersebut dihomogenkan dengan sempurna setiap penambahan reagen dengan cara resuspensi (*up and down*) dan hindari adanya gelembung yang dapat mengganggu proses PCR. Larutan pereaksi

dipipet masing-masing 24 μL larutan tersebut ke 7 tabung PCR. Larutan sampel ditambahkan 1 μL ke masing-masing 6 tabung PCR dan larutan NFW 1 μL ke 1 tabung PCR sebagai kontrol negatif uji lalu dihomogenkan dengan sempurna. Semua preparasi sampel dilakukan dalam PCR Chamber yang sebelumnya sudah dibersihkan dengan larutan *bleach* 0,5% dan dinyalakan lampu UV. Rak tabung pendingin digunakan untuk penyimpanan tabung PCR. Tabung PCR dimasukkan ke dalam alat PCR yang sudah diatur sebelumnya dan dilakukan proses *running* PCR.

Untuk optimasi kedua mula-mula alat dan bahan yang diperlukan disiapkan kemudian seperangkat alat PCR dinyalakan dan diatur dengan mengubah *setting/run method* pada alat yaitu untuk proses *denaturing* digunakan suhu 95 °C selama 2 menit dan suhu 95 °C selama 30 detik, proses *annealing* digunakan suhu 62,5 °C selama 30 detik, proses *extantion* digunakan suhu 72 °C selama 1 menit dan suhu 72 °C selama 5 menit, dan proses *refrigeration* digunakan suhu 4 °C selama waktu yang tidak ditentukan. Siklus yang diinginkan diatur sebanyak 30 siklus. Tabung sampel disiapkan 1 tabung mikro dan 5 tabung PCR steril yang mana 1 tabung mikro untuk larutan awal, 2 tabung untuk sampel sebagai kontrol positif, 2 tabung untuk kontrol negatif sel dan 1 tabung untuk kontrol negatif uji. Pertama-tama *Go Taq Master Mix* 75 μL , larutan NFW 65,1 μL , primer *forward* 2,4 μL dan primer *reverse* 1,5 μL ditambahkan ke dalam tabung mikro. Larutan pereaksi dihomogenkan dengan sempurna setiap penambahan reagen dengan cara resuspensi (*up and down*) dan hindari adanya gelembung yang dapat mengganggu proses PCR. Larutan tadi dipipet masing-masing 24 μL larutan tersebut ke 7 tabung PCR. Larutan sampel (+) CHO ditambahkan 1 μL ke masing-masing 2 tabung PCR, sampel (-) EPO 1 μL ke masing-masing 2 tabung PCR dan larutan NFW 1 μL ke 1 tabung PCR sebagai kontrol negatif uji lalu dihomogenkan dengan sempurna. Semua preparasi sampel dilakukan dalam PCR Chamber yang sebelumnya sudah dibersihkan dengan larutan *bleach* 0,5% dan dinyalakan lampu UV. Rak tabung pendingin digunakan untuk penyimpanan tabung

PCR. Selanjutnya tabung PCR dimasukkan ke dalam alat PCR yang sudah diatur sebelumnya dan dilakukan proses *running* PCR.

3.4.5 Elektroforesis Menggunakan Gel Agarosa

Pertama-tama seperangkat alat *running* disiapkan untuk elektroforesis dan bahan yang diperlukan. Gel agarosa dimasukkan ke dalam wadah *running* kemudian larutan TBE 1X pH 8.4 ditambahkan ke dalam wadah hingga merendam semua permukaan gel. Peta larutan dibuat untuk 8 *well*/sumur. Peta urutan larutan untuk setiap optimasi ditunjukkan pada tabel 3.2 dan 3.3.

Tabel 3.2 Peta Optimasi Pertama

Sampel 1	Sampel 2	Sampel 3	Ladder	Sampel 4	Sampel 5	Sampel 6	Kontrol Negatif
-------------	-------------	-------------	--------	-------------	-------------	-------------	--------------------

Tabel 3.3 Peta Optimasi Kedua

Sampel (+) CHO	Sampel (+) CHO	Ladder	Kontrol Negatif Sel	Kontrol Negatif Sel	Kontrol Negatif Uji	Kontrol Negatif Uji	Ladder + NFW
-------------------	----------------------	--------	---------------------------	---------------------------	---------------------------	---------------------------	-----------------

Rak tabung disiapkan beralas parafilm dan *loading dye blue/orange* ditambahkan 2 μL dan masing-masing larutan sampel 5 μL . Larutan tersebut dihomogenkan dengan sempurna dengan cara resuspensi (*up and down*). Lalu larutan dipipet masing-masing ke dalam *well* berdasarkan peta yang telah dibuat. Larutan dipastikan masuk sempurna ke dalam *well* dan hindari gelembung. Setelah semua larutan sampel masuk, wadah *running* ditutup dan disambungkan kutub negatif dan kutub positif. Lalu power listrik dinyalakan dengan kecepatan arus 100 mV selama 60-80 menit. Setelah proses *running* telah selesai, hasil pita DNA diamati di

bawah sinar UV dan dicek ukuran dari pita DNA dengan membandingkannya dengan *ladder* DNA.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolasi DNA

Pertama-tama yang dilakukan pada penelitian ini adalah isolasi DNA sel CHO. Isolasi DNA bertujuan untuk mendapatkan DNA murni dan menghilangkan pengotor-pengotor yang tidak diinginkan. Pengotor yang dapat ada di dalam sampel adalah sisa-sisa media pertumbuhan, protein dan RNA. Isolasi DNA mempunyai beberapa tahapan, yaitu isolasi sel, lisis dinding dan membran sel, purifikasi dan presipitasi. Adapun prinsip-prinsip dalam melakukan isolasi DNA ada dua, yaitu sentrifugasi dan presipitasi. Prinsip sentrifugasi adalah memisahkan substansi berdasarkan berat jenis molekul dengan cara memberikan gaya sentrifugal sehingga substansi yang memiliki berat jenis molekul lebih besar (lebih berat) akan berada di dasar larutan sedangkan substansi yang memiliki berat jenis molekul lebih kecil (lebih ringan) akan berada di atas larutan. Prinsip presipitasi adalah mengendapkan substansi target dengan membentuk dua lapisan dalam larutan, yaitu supernatan (substansi berupa larutan) dan pelet (substansi berupa endapan). Isolasi DNA sel CHO menggunakan metode *Wizard Genomic DNA Purification Kit* (Promega, 2010). Isolasi DNA dilakukan dengan tiga kali pengulangan (triplo) dan dengan perlakuan yang sama. Proses pengerjaan isolasi DNA harus sangat hati-hati karena DNA sangat mudah rusak oleh enzim DNase yang ada pada kulit, keringat, air mata dan saliva oleh karena itu selama pengerjaan harus menggunakan sarung tangan, masker dan sedikit berbicara.

Sampel hasil kultivasi *trastuzumab* dipanen dan disentrifugasi dengan kecepatan 14.000 rpm selama 10 detik kemudian supernatan diambil dan disisakan pelet. Tahap ini bertujuan untuk memisahkan sampel DNA (pelet) dengan sisa-sisa media pertumbuhan (supernatan) yang mungkin terambil ketika memanen sampel hasil kultivasi. Pelet tersebut dicuci menggunakan larutan PBS (*Phosphate Buffered Saline*) dan dihomogenkan menggunakan vortex. Larutan PBS merupakan larutan fisiologis yang umum digunakan dalam penelitian

mikrobiologi. Larutan PBS merupakan larutan garam yang mengandung natrium klorida (NaCl), natrium fosfat (Na₃PO₄), dan terkadang kalium klorida (KCl) dan kalsium fosfat (Ca₃(PO₄)₂). Larutan PBS digunakan sebagai larutan pencuci khusus sampel DNA dan membantu mempertahankan pH sampel. pH sampel harus dijaga dan dipertahankan karena apabila terjadi sedikit perubahan pH maka sampel DNA akan mudah rusak dan tidak bisa dianalisa lebih lanjut. Alat vortex merupakan sebuah alat yang membantu untuk menghomogenkan larutan secara cepat dengan getaran dan goyangan.

Tahapan sentrifugasi beberapa kali dilakukan untuk memastikan kembali bahwa sampel sudah bebas pengotor. Pengotor yang mungkin ada di dalam sampel adalah media sisa pertumbuhan, protein, dan RNA. Pengotor ini apabila tidak dihilangkan dapat mempengaruhi pemurnian DNA yang didapat dan menurunkan konsentrasinya. Pelet yang diambil dilarutkan dengan sebuah larutan lisis nukleus dan dihomogenkan dengan cara resuspensi (*up and down*) menggunakan mikropipet. Larutan lisis nukleus digunakan untuk melisis (merusak) dinding dan membran sel sehingga isi sel (ekstrak sel yang berisi komponen DNA target) dapat keluar. Menghomogenkan larutan menggunakan mikropipet harus dilakukan setiap penambahan reagen untuk memastikan bahwa larutan tersebut tercampur secara merata. Proses penghomogenan ini harus cermat dan hati-hati dikarenakan sampel DNA sangat rapuh dan mudah rusak.

Selanjutnya larutan RNase ditambahkan dan dihomogenkan kemudian diinkubasi selama 15-30 menit dengan suhu 37 °C. Larutan RNase merupakan sebuah enzim pendegradasi RNA sehingga digunakan untuk menghilangkan pengotor RNA dalam larutan sampel. Adapun tanda bahwa sampel sudah bereaksi dengan larutan RNase adalah terbentuk buih atau busa pada larutan sampel. Proses inkubasi dilakukan untuk mengoptimalkan kerja reagen pada sampel sehingga benar-benar dapat menghilangkan pengotor RNA. Larutan sampel yang sudah diinkubasi kemudian didinginkan sampai suhu ruang selama 5 menit. Pendinginan ini dilakukan untuk menghentikan reaksi yang terjadi di dalam larutan sampel. Kemudian larutan sampel ditambahkan larutan pengendap protein,

lalu divortex dengan kecepatan tinggi selama 20 detik dan didinginkan dalam es selama 5 menit. Larutan pengendap protein mengandung kalium asetat (KCH_3COO) atau natrium asetat (CH_3COONa) yang jika berikatan dengan protein yang terdapat dalam sampel akan terbentuk endapan karena memiliki kelarutan yang lebih rendah sehingga mengendap ke bagian bawah larutan. Larutan pengendap protein digunakan untuk mengendapkan pengotor protein yang terkandung dalam larutan sampel.

Larutan sampel yang sudah didinginkan disentrifugasi selama 4 menit dengan kecepatan 14.000 rpm, pada tahap ini DNA akan membentuk pelet putih. Supernatan yang mengandung pelet putih DNA diambil dengan hati-hati dan dipindahkan ke dalam *microcentrifuge tabung* baru dan bersih yang berisi larutan isopropanol ($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}$). Ketika mengambil supernatan yang mengandung DNA, disisakan sedikit supernatan untuk menghindari kontaminasi DNA dengan protein yang terendapkan. Larutan isopropanol digunakan untuk mencuci hasil DNA yang diambil tadi. Larutan sampel dihomogenkan dengan hati-hati secara inversi sampai terbentuk benang putih DNA. Proses inversi ini harus sangat hati-hati dan berulang kali karena DNA yang akan terbentuk hanya seperti benang putih yang rapuh dan mudah rusak. Ketika sudah terlihat benang putih maka dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 14.000 rpm selama 1 menit dan dibuang supernatan dengan hati-hati. Tahap sentrifugasi ini dilakukan untuk mengendapkan benang putih DNA target yang akan diambil sehingga tidak tercampur dengan supernatannya. Pengambilan supernatan juga harus hati-hati karena apabila tidak hati-hati, benang putih DNA akan ikut terambil.

Selanjutnya benang putih DNA tadi ditambahkan larutan etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) dan dihomogenkan hati-hati dengan cara inversi. Larutan etanol mempunyai dielektrik lebih rendah (nilai konstanta dielektrik etanol 24,80) daripada air (nilai konstanta dielektrik air 80,37) sehingga memudahkan garam (muatan positif) berikatan dengan DNA (muatan negatif) sehingga DNA akan bersifat hidrofob dan mengendap. Larutan etanol juga digunakan sebagai larutan pencuci. Kemudian larutan sampel disentrifugasi kembali dengan kecepatan 14.000 rpm

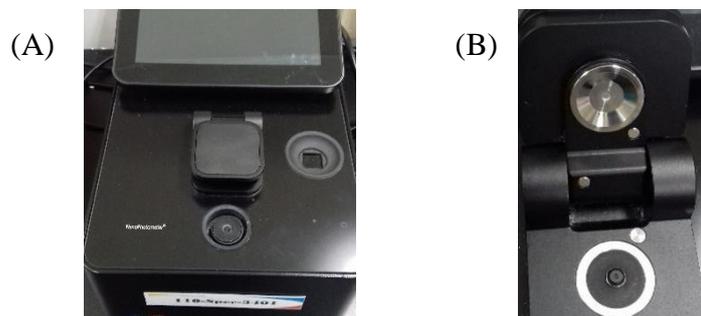
selama 1 menit. Supernatan yang mengandung etanol dibuang dengan hati-hati kemudian dikering-anginkan pelet selama 10-15 menit di dalam LAF (*Laminar Air Flow*). Proses pengeringan pelet ini harus benar-benar kering dari sisa etanol tadi karena apabila pelet masih basah akan mempengaruhi hasil DNA yang diinginkan. Setelah pelet dipastikan kering, ditambahkan larutan rehidrasi DNA dan dihomogenkan dengan *mentapping* tabung secara lembut atau perlahan. Larutan rehidrasi DNA merupakan proses senyawaan kembali atau sebuah proses kimiawi untuk mencegah rusaknya DNA ketika proses penyimpanan sehingga larutan ini digunakan untuk mencegah rusaknya DNA ketika disimpan pada suhu 2-8°C. Hasil gambar setiap tahapan isolasi DNA ditunjukkan pada tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil Gambar Proses Isolasi DNA

No.	Tahapan	Hasil
1.	Sel hasil kultivasi diambil 1 mL dan dimasukkan ke dalam 1,5 mL <i>microcentrifuge tabung</i> kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 14.000 rpm selama 10 detik (dibuang supernatan).	
2.	Pelet dicuci dengan 200 µL larutan PBS, dihomogenkan menggunakan vortex dan disentrifugasi dengan kecepatan 14.000 rpm selama 10 detik (dibuang supernatan).	
3.	Larutan lisis nucleus ditambahkan 600 µL dan 3 µL larutan RNase, dihomogenkan, diinkubasi selama 15-30 menit 37°C lalu dibiarkan sampel sampai suhu ruang selama 5 menit.	
4.	Larutan pengendap protein ditambahkan 200 µL, divortex dengan kecepatan tinggi selama 20 detik, dan didinginkan dalam es selama 5 menit kemudian disentrifugasi	

	selama 4 menit dengan kecepatan 14.000 rpm (DNA membentuk pelet putih).	
5.	Supernatan dipindahkan ke dalam 1,5 mL <i>microcentrifuge tabung</i> yang bersih berisi 600 μ L isopropanol, diinversi dan disentrifugasi dengan kecepatan 14.000 rpm selama 1 menit (dibuang supernatan).	
6.	Etanol ditambahkan 600 μ L, dihomogenkan dengan inversi, disentrifugasi dengan kecepatan 14.000 rpm selama 1 menit (dibuang supernatan).	
7.	Pelet dikering-anginkan selama 10-15 menit di dalam LAF, kemudian ditambahkan 100 μ L larutan rehidrasi DNA dan dihomogenkan dengan <i>mentappingtabung</i> secara lembut atau perlahan. Disimpan DNA pada suhu 2-8°C.	

Tahapan selanjutnya adalah mengukur konsentrasi dan kemurnian DNA hasil isolasi menggunakan spektrofotometer *Nano Drop Photometer Plan* dengan perpitaingan panjang gelombang 260 dan 280 nm. Gambar 4.1 menunjukkan alat *Nano Drop Photometer Plan*.



Gambar 4.1 Alat *Nano Drop Photometer Plan* (A) dan tempat sampel (B)

Sebelum alat digunakan dibersihkan terlebih dahulu dengan menggunakan *hoggy* dan dipastikan alat dalam keadaan baik dan optimum. Alat diatur untuk analisa nukleus dengan menggunakan panjang gelombang 260 dan 280 nm dan

diatur pula nama sampel yang akan dianalisa. Panjang gelombang 260 nm untuk mengukur serapan dari DNA dan RNA dan panjang gelombang 280 nm untuk mengukur serapan dari protein.

Pertama-tama dilakukan pengukuran pada blanko. Larutan blanko yang digunakan adalah larutan rehidrasi DNA yang sebelumnya digunakan untuk melarutkan sampel DNA. Fungsi dari larutan blanko adalah sebagai pempitaing, mengetahui titik nol, pengoreksi absorbansi dan mengetahui apakah ada atau tidak kontaminasi yang berasal dari pelarut sampel. Larutan blanko dipipet dan dimasukkan ke dalam tempat sampel secara hati-hati hingga tepat ditengah dan membentuk bulatan sempurna. Penempatan sampel yang tidak tepat, seperti tidak pas ditengah dan tidak membentuk bulatan sempurna menyebabkan pembacaan absorbansi yang tidak tepat sehingga harus benar-benar tepat memasukkan sampel. Kemudian ditutup tempat sampel lalu diukur larutan blanko dengan ditekan menu *measurement blank*. Setiap pergantian pengukuran harus dibersihkan dengan *hoggy* untuk menghindari kontaminasi larutan sebelumnya dengan larutan yang akan dianalisa.

Selanjutnya larutan sampel hasil isolasi dipipet ke tempat sampel secara hati-hati hingga tepat ditengah dan membentuk bulatan sempurna. Tempat sampel ditutup lalu ditekan dengan menu *run test*. Pengukuran ketiga sampel diulangi hingga tiga kali pengulangan pembacaan. Hasil pengukuran konsentrasi dan kemurnian DNA ditunjukkan pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil Pengukuran *Nano Drop*

Sampel	Konsentrasi (ng/ μ L)	Rata-rata Konsentrasi (ng/ μ L)	Kemurnian	Rata-rata Kemurnian
Sampel 1A	229,95	228,00	1,886	1,891
Sampel 1B	231,15		1,900	
Sampel 1C	229,90		1,886	
Sampel 2A	265,25	262,32	1,919	1,915
Sampel 2B	262,80		1,910	
Sampel 2C	258,90		1,916	
Sampel 3A	315,45	315,47	1,941	1,937

Sampel 3B	318,30		1,940	
Sampel 3C	312,65		1,931	

Perbandingan hasil pembacaan pada panjang gelombang 260 dengan 280 nm dikatakan baik apabila kemurnian yang didapat diantara 1,8 – 2. Bila dilihat dari hasil kemurnian isolasi DNA, ketiga sampel berada di dalam rentang kemurnian 1-8 – 2 menunjukkan bahwa sampel bebas dari pengotor protein dan DNA. Berdasarkan hasil pengukuran tersebut ditentukan bahwa sampel nomor 3 digunakan untuk proses perbanyakan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) karena memiliki konsentrasi dan kemurnian lebih besar yang mana artinya sampel tersebut memiliki kandungan DNA yang cukup banyak dan murni dari pengotor dibandingkan dua sampel lainnya.

4.2 Optimasi Suhu *Annealing* Menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Proses optimasi ini memerlukan dua tahap optimasi, yaitu optimasi pertama berdasarkan suhu primer yang digunakan dan optimasi kedua berdasarkan suhu yang sesuai antara gen *Heavy Chain* dengan *Light Chain*. Optimasi pertama suhu *annealing* menggunakan delapan kali reaksi karena dibutuhkan 6 *tabung* sampel sebagai kontrol positif dan 1 *tabung* untuk kontrol negatif uji. Sedangkan optimasi kedua suhu *annealing* menggunakan enam kali reaksi karena dibutuhkan 2 *tabung* sampel sebagai kontrol positif, 2 *tabung* untuk kontrol negatif sel dan 1 *tabung* untuk kontrol negatif uji.

Tahap pertama dalam proses optimasi pertama dinyalakan alat PCR dan diatur menu alat untuk proses *denaturing* digunakan suhu 95 °C selama 2 menit dan suhu 95 °C selama 30 detik, proses *annealing* digunakan suhu 61,0; 62,5; 64,0; 65,5; 67,0 dan 68,5 °C selama 30 detik, proses *extantion* digunakan suhu 72 °C selama 1 menit dan suhu 72 °C selama 5 menit, dan proses *refrigeration* digunakan suhu 4 °C selama waktu yang tidak ditentukan. Suhu dan lama waktu masing-masing proses berasal dari protokol alat yang sudah ditentukan dan

optimum kecuali suhu proses *annealing* yang perlu divariasikan untuk optimasi. Variasi suhu ini didapatkan berdasarkan primer *forward* dan *reverse* yang dipakai. Masing-masing primer memiliki temperatur lebur (*melting temperature*) dan kandungan guanin dan sitosin (*GC content*) yang berbeda-beda sehingga didapat hasil variasi seperti yang sudah ditentukan. Proses denaturasi merupakan proses dimana untai ganda cetakan DNA akan dipisahkan/dipecah menjadi beberapa untai tunggal DNA menggunakan suhu yang tinggi. Proses *annealing* merupakan proses penempelan primer *forward* dan *reverse* ke cetakan DNA menggunakan suhu yang sesuai. Variasi suhu ini juga akan menentukan suhu optimum primer dapat menempel sempurna dengan cetakan DNA. Proses *extantion* merupakan proses terjadinya pemanjangan DNA tergantung dari berapa siklus yang diinginkan. Siklus yang diinginkan sebanyak 30 berarti pemanjangan DNA dilakukan 30 kali. Alat PCR harus dinyalakan dan diatur menunya sebelum digunakan untuk mengoptimalkan kerja alat dan dalam keadaan siap pakai ketika akan dilakukan analisa.

Tahap kedua disiapkan 1 tabung *micro* dan 7 tabung PCR steril yang mana 1 tabung *micro* untuk larutan awal, 6 tabung untuk sampel sebagai kontrol positif dan 1 tabung untuk kontrol negatif uji. Tabung *micro* awal digunakan untuk mempermudah proses pengambilan masing-masing larutan yang cukup kecil volumenya dan menghindari kesalahan dalam mengambil larutan sehingga semua reagen dimasukkan ke tabung *micro* itu tanpa adanya sampel. Larutan yang dimasukkan ke dalam tabung *micro*, yaitu *Go Taq Master Mix*, larutan NFW (*Nuclease Free Water*), primer *forward* dan primer *reverse*. Larutan *Go Taq Master Mix* mengandung 50 units/mL Taq DNA polimerase pH 8,5, 400 μ M dATP, 400 μ M dGTP, 400 μ M dCTP dan 3 mM $MgCl_2$. Taq DNA polimerase merupakan DNA polimerase yang bersifat termostabil dari bakteri termofilik *Thermus aquaticus* (taq polimerase) akan stabil sampai temperatur 95 °C. Taq DNA polimerase berfungsi sebagai katalis untuk reaksi polimerasi DNA. dATP, dGTP, dCTP apabila digabung akan menjadi dNTP (deoksiribonukleosida trifosfat) yang berfungsi sebagai *building block* DNA dalam proses *extantion* (Pemanjangan). Magnesium Klordia ($MgCl_2$) bertindak sebagai kofaktor (Mg^{2+})

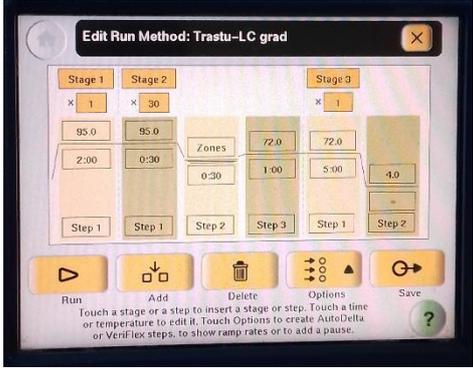
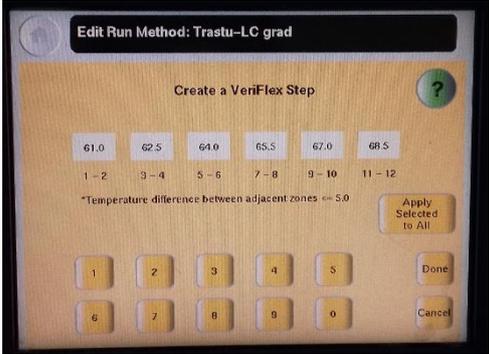
untuk menstimulasi aktivitas DNA polimerase. Magnesium klorida juga meningkatkan interaksi primer *forward* dan *reverse* dengan cetakan membentuk kompleks yang larut dengan dNTP. Larutan NFW (*Nuclease Free Water*) digunakan untuk pelarut. Sepasang primer (*forward* dan *reverse*) merupakan sebuah oligonukleotida yang pendek dan mempunyai urutan nukleotida yang sesuai dengan urutan nukleotida DNA cetakan. Primer berfungsi sebagai pembatas dari fragmen DNA target yang akan diamplifikasi yang memiliki gugus hidroksi (-OH) pada ujung kelima yang diperlukan untuk proses *extantion* DNA.

Ketika semua reagen sudah masuk lalu dihomogenkan dengan cara resuspensi (*up and down*) dan dihindari adanya gelembung yang dapat mengganggu proses PCR. Larutan awal tadi dipipet 24 μL ke masing-masing 7 *tabung* PCR. Ditambahkan 1 μL sampel ke masing-masing 6 *tabung* PCR dan 1 μL larutan NFW ke 1 *tabung* PCR sebagai kontrol negatif uji. Lalu dihomogenkan dengan sempurna. Tahapan preparasi ini dilakukan dalam PCR *Chamber* yang sebelumnya sudah dibersihkan dengan larutan *bleach* 0,5% dan dinyalakan lampu UV. Preparasi ini juga menggunakan rak tabung pendingin untuk menyimpan *tabung* PCR karena harus berada dalam kondisi dingin agar reaksi tidak terjadi. Selanjutnya dimasukkan *tabung* PCR tadi ke dalam alat PCR yang sudah diatur sebelumnya dan dilakukan proses *running* PCR.

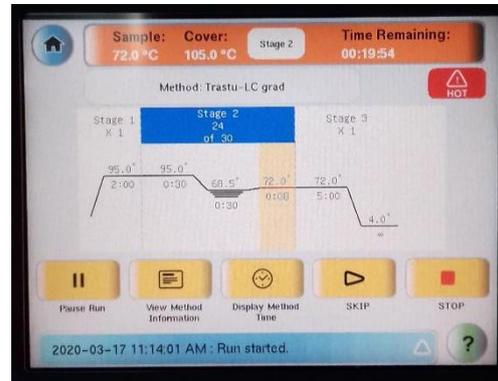
Optimasi kedua tidak terlalu berbeda dengan optimasi pertama. Perlakuan, reagen yang digunakan dan aturan menu pada alat PCR sama. Adapun yang berbeda, yaitu suhu *annealing* yang digunakan hanya ada satu yang merupakan suhu yang sesuai antara *heavy chain* dan *light chain* dan reaksi yang digunakan adalah enam kali karena dibutuhkan 2 *tabung* sampel sebagai kontrol positif CHO, 2 *tabung* untuk kontrol negatif sel EPO dan 1 *tabung* untuk kontrol negatif uji. Kontrol negatif sel EPO digunakan untuk mengetahui apakah DNA target yang diinginkan dapat tumbuh dalam sel EPO atau tidak. Dalam kontrol negatif sel tersebut diharapkan DNA target tidak tumbuh karena apabila DNA tumbuh maka sel CHO bukan sel inang yang sesuai dan spesifik untuk DNA target. Suhu *annealing* yang digunakan yaitu 62,5 °C. Suhu ini ditentukan berdasarkan

kecocokan suhu pada kedua gen yang mana dapat mempermudah proses PCR dengan sekali *running*. Aturan menu dan hasil PCR ditunjukkan pada tabel 4.3.

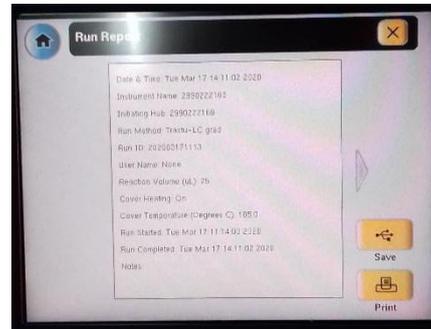
Tabel 4.3 Proses dan Hasil PCR

Menu Aturan	Gambar
<p><i>Run Method</i> Trastu-LC Grad (Optimasi pertama)</p>	
<p>Suhu <i>Annealing</i> Optimasi Pertama</p>	

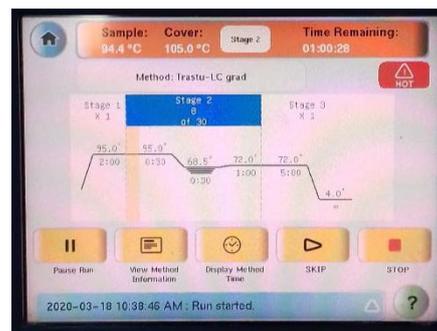
Proses PCR Optimasi Pertama



Hasil PCR Optimasi Pertama



Proses PCR Optimasi Kedua



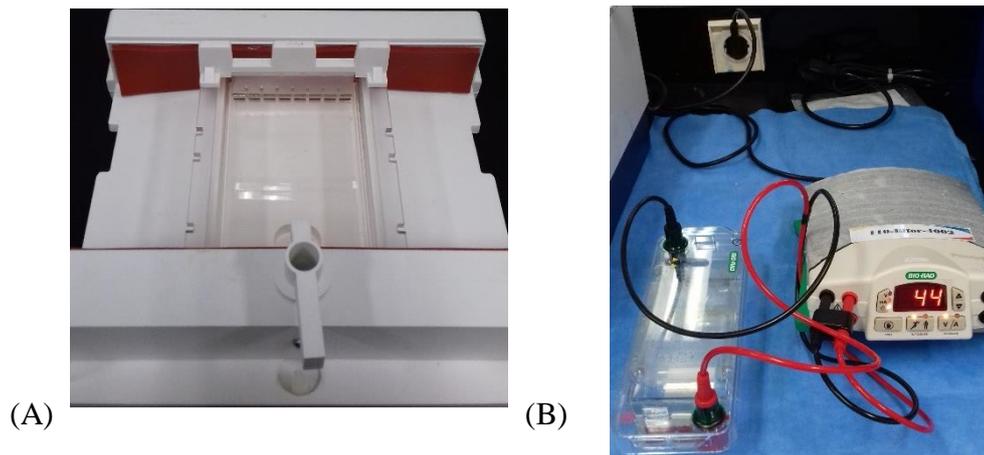
Hasil PCR Optimasi Kedua



4.3 Elektroforesis Menggunakan Gel Agarosa

Elektroforesis merupakan migrasi ion-ion menggunakan medan listrik. Senyawa yang memiliki muatan listrik akan bergerak ke arah elektroda yang memiliki muatan yang berlawanan. DNA mempunyai muatan negatif maka akan bergerak ke muatan positif. DNA mempunyai rasio muatan/massa yang stabil sehingga kecepatan migrasi DNA tergantung pada berat molekulnya. Pertama-tama gel agarosa dan larutan TBE 1X pH 8,4 (Tris 1,0 M, *Boric Acid* 0,9 M dan EDTA 0,01 M) dimasukkan ke dalam wadah untuk proses elektroforesis. Gel agarosa digunakan khusus untuk melakukan elektroforesis DNA secara horizontal karena memiliki berat molekul yang kecil. Larutan TBE digunakan sebagai larutan buffer elektrolisis karena mempunyai kapasitas buffer yang tinggi pada titik isoelektriknya. Asam borat yang terkandung didalamnya berfungsi sebagai *conducting ion* sehingga dapat mempertahankan kesetimbangan antara ion H⁺ dengan OH⁻ yang dihasilkan elektroda. Fungsi buffer juga untuk menjaga pH saat proses migrasi fragmen DNA berlangsung, karena apabila terjadi perubahan pH

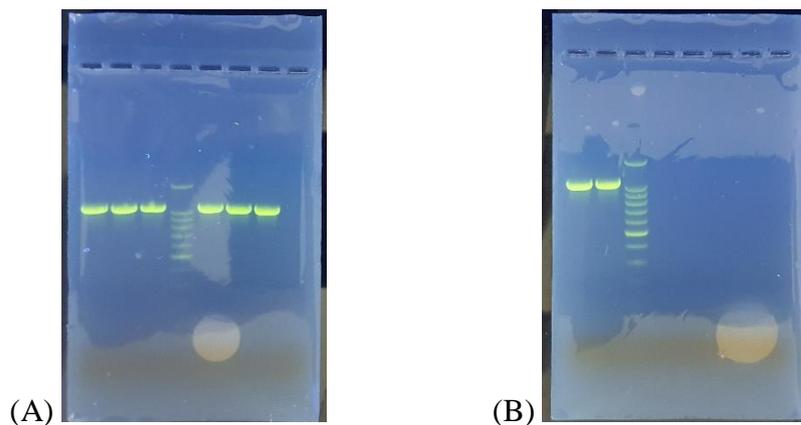
maka struktur DNA dapat rusak. Gel agarosa bertindak sebagai fase diam, larutan TBE bertindak sebagai fase gerak dan medan listrik bertindak sebagai sumber energi. Gel agarosa dan seperangkat alat elektroforesis ditunjukkan pada gambar 4.3.



Gambar 4.3 Gel Agarosa (A) dan Seperangkat Alat Elektroforesis (B)

Gel agarosa yang digunakan mempunyai sumur/*well* sebanyak 8 buah yang akan diisi larutan sampel. Sebelum sampel dimasukkan ke dalam sumur, ditambahkan larutan *loading dye blue/orange* pada masing-masing sampel yang berfungsi sebagai penanda pergerakan DNA selama proses elektroforesis. Larutan *loading dye* akan berikatan dengan DNA dan akan memancarkan warna (*fluorescens*) ketika disinari dengan UV. Masing-masing sampel dimasukkan ke dalam sumur berdasarkan peta yang sudah dibuat kemudian dinyalakan power listrik dengan kecepatan arus 100 mV selama 60-80 menit. Setelah proses elektroforesis selesai, dilihat hasil pita DNA yang muncul dibawah sinar UV. Hasil pita yang muncul ini menandakan bahwa sampel DNA menempel sempurna dengan primer yang diberikan dan mengikat larutan pewarna sehingga dapat memunculkan sebuah pita di bawah sinar UV. Sumur yang tidak muncul pita berisi kontrol negatif sel dan kontrol negatif uji. Larutan tersebut tidak menempel dengan primer dan mengikat larutan perwarna karena tidak memiliki *gen light chain* target sehingga tidak memunculkan hasil pita apapun ketika disinari UV. Ukuran pita DNA didapat sebesar 1063 bp (*base pair*, pasangan basa) untuk gen

light chain setelah dibandingkan dengan ukuran *ladder* DNA. Ukuran pita DNA ini sudah sesuai apabila dibandingkan dengan hasil ukuran pita DNA gen *heavy chain* yaitu 1784 bp karena gen *light chain* memiliki jumlah asam amino lebih sedikit sehingga ukuran pita gen *light chain* lebih kecil dibandingkan dengan jumlah asam amino dan ukuran pita gen *heavy chain* yang lebih besar. Hasil gambar ban DNA ditunjukkan pada gambar 4.4.



Gambar 4.4 Ban DNA Optimasi Pertama (A) dan Ban DNA Optimasi Kedua (B)
Keterangan sumur dari kiri ke kanan : Gambar (A) yaitu sampel 1, sampel 2, sampel 3, *ladder*, sampel 4, sampel 5, sampel 6, kontrol negatif. Gambar (B) yaitu sampel (+) CHO, sampel (+) CHO, *ladder*, kontrol negatif sel, kontrol negatif sel, kontrol negatif uji, kontrol negatif uji, *ladder* + NFW.

Pita DNA optimasi kedua muncul pada sumur pertama dan kedua sedangkan sumur lainnya tidak muncul pita apapun, hal ini menunjukkan bahwa sampel gen *light chain* sumur pertama dan kedua terjadi penempelan primer dan perbanyakan DNA sedangkan sampel kontrol negatif sel dan negatif uji tidak akan menempel dengan primer dan tidak pula mengalami perbanyakan maka ketika dilakukan proses elektrofesis menggunakan gel agarosa tidak memunculkan pita apapun.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan Praktik Kerja Lapangan (PKL) yang dilakukan di PT. Bio Farma Persero Bandung, optimasi amplifikasi DNA menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) untuk karakterisasi gen *light chain* (LC) *trastuzumab* dalam sel *Chinese Hamster Ovary* (CHO) diperoleh hasil sebagai berikut:

1. Pengukuran konsentrasi dan kemurnian sampel DNA dilakukan dengan *Nano Drop Photometer Plan*. Konsentrasi sampel hasil isolasi DNA dalam sel CHO menggunakan metode *Wizard Genomic Purification Kit* diperoleh sebesar 228,00; 262,32 dan 315,47 ng/ μ L dengan kemurnian diperoleh sebesar 1,891; 1,915 dan 1,937.
2. Suhu *annealing* sangat berpengaruh pada proses penempelan sepasang primer dengan cetakan DNA dari optimasi suhu *annealing* pertama dan kedua didapat suhu optimum sebesar 62,5 °C dan ukuran pita DNA gen *light chain* diperoleh sebesar 1063 bp (*Base pair*, pasangan basa).

5.2 Saran

Adapun saran yang dapat diajukan kedepannya dalam pengujian ini adalah melanjutkan proses sekuensing untuk mendapatkan urutan basa nukleotida dari DNA target. Tujuan proses sekuensing DNA target adalah untuk menentukan identitas, fungsi gen dan fragmen DNA dengan membandingkan sekuensnya dengan sekuens DNA yang sudah diketahui.

DAFTAR PUSTAKA

- Abcam, 2020, *Antibody Structure and Isotypes*, United States Of America :
Abcam.
- Anonim, 2017, *Gedung Bio Farma*, <https://mix.co.id/marcomm/news-trend/bio-farma-kembali-meraih-proper-emas/attachment/gedung-bio-farma/>, diakses pada 14 April 2020.
- Anonim, 2020, *Bio Farma*, https://en.wikipedia.org/wiki/Bio_Farma, diakses pada 14 April 2020.
- Anonim, 2020, *Elektroforesis DNA*, <http://rumahbiotek.com/2014/08/elektroforesis-dna.html>, diakses pada 20 April 2020.
- Budiatma, H., 2018, Nukleotida – Struktur, Fungsi dan Contoh, <https://usaha321.net/nukleotida-struktur-fungsi-dan-contoh.html>, diakses pada 08 Mei 2020.
- Crick, F. dan Watson, J., 1953, *The Discovery of DNA Structure*, British : Nature Journal.
- Drug Monograph*, 2020, *Trastuzumab, CCO Formulary*.
- Duroy, P. O., Schmid, E., Bosshard, S., dan Neuenschwarder, S., 2019, *Characterization And Mutagenis Of Chinese Hamster Ovary Cells Endogenous Retroviruses To Inactivate Viral Particle Release*, Switzerland : Journal Of Biotechnology and Bioengineering.
- Emantoko, S., 2001, *Antibodi Rekombinan : Perkembangan Terbaru Dalam Teknologi Antibodi*, Surabaya : Universitas Surabaya.
- Faatih, M., 2009, *Isolasi dan Digesti DNA Kromosom*, Surakarta : Universitas Muhammadiyah Surakarta.

- Faridz, Z. F. Al, 2018, *Perjalanan Menjawab Misteri Pewarisan Sifat*, Jakarta : Zenius.net, <https://www.zenius.net/blog/20132/sejarah-penemuan-dna>, diakses pada 8 April 2020.
- Feranisa, A., 2016, *Komparasi Anatara Poly merase Chain Reaction (PCR) dan Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) dalam Diagnosis Molekuler*, Semarang : ODONTO Dental Journal - Departemen Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung.
- Gemmete, J. J., dan Mukherji, S. K., 2011, *Trastuzumab (Herceptin)*, Michigan : University Of Michigan.
- Handoyo, D., dan Rudiretna, A., 2001, *Prinsip Umum dan Pelaksanaan Polymerase Chain Reaction (PCR)*, Surabaya : Pusat Studi Bioteknologi - Universitas Surabaya.
- Harahap, M. R., 2018, *Eektrofresis : Analisis Elektronika Terhadap Biokimia Genetik*, Aceh : CIRCUIT Jurnal Ilmiah Pendidikan Teknik Elektro UIN Ar-Raniry Pitaa Aceh.
- Joshi, M., dan Deshpande J.D., 2010, *Polymerase Chain Reaction : Methods* (5) Page 81-97, Pr. Int. J. Biomed Res.
- Khafida, W., 2017, Basa Nitrogen Penyusun DNA, <https://brainly.co.id/tugas/9854451>, diakses pada 08 Mei 2020.
- Kementrian BUMN, *Biografi dan Sejarah PT. Bio Farma Persero*, <http://www.bumn.go.id/biofarma/application>, diakses pada 20 April 2020.
- Kementrian BUMN, *Vaksin Pentabio (DTP-HB-Hib)*, <http://www.bumn.go.id/biofarma/halaman/123>, diakses pada 20 April 2020.
- Kementrian BUMN, *Vaksin DTP-HB*, <http://www.bumn.go.id/biofarma/application>, diakses pada 20 April 2020.

Kementrian BUMN, *Vaksin Poliomyelitis Oral Bivalen Tipe 1 dan 3*, <http://www.bumn.go.id/biofarma/berita/1-Vaksin-Poliomyelitis-Oral-Bivalen-tipe-1--3>, diakses pada 20 April 2020.

Kementrian BUMN, *Vaksin mOPV*, <http://www.bumn.go.id/biofarma/berita/1-Vaksin-Poliomyelitis-Oral-Monovalen-tipe-1>, diakses pada 20 April 2020.

Kementrian BUMN, *Vaksin Hepatitis B Rekombinan*, <http://www.bumn.go.id/biofarma/berita/1-Vaksin-Hepatitis-B-Rekombinan>, diakses pada 20 April 2020.

Kementrian BUMN, *Flubio Vaksin Influenza HA*, <http://www.bumn.go.id/biofarma/berita/1-Vaksin-Flubio-Influenza-HA>, diakses pada 20 April 2020.

Kementrian BUMN, *Vaksin Campak*, <http://www.bumn.go.id/biofarma/halaman/121>, diakses pada 20 April 2020.

Kementrian BUMN, *Vaksin BCG (Beku Kering)*, <http://bumn.go.id/biofarma/berita/2-Vaksin-BCG-Beku-Kering->, diakses pada 20 April 2020.

Kementrian BUMN, *Vaksin Jerap DT*, <http://bumn.go.id/biofarma/berita/1-Vaksin-Jerap-DT>, diakses pada 20 April 2020.

Kementrian BUMN, *Vaksin TT*, <http://www.bumn.go.id/biofarma/halaman/122>, diakses pada 20 April 2020.

Kementrian BUMN, *Vaksin Bio-TD*, <http://bumn.go.id/biofarma/berita/1-Vaksin-BIO-Td-Vaksin-Jerap-Td->, diakses pada 20 April 2020.

Kementrian BUMN, *Anti-tetanus*, <http://bumn.go.id/biofarma/berita/1-Serum-Anti-Tetanus-1-500-UI-Kuda->, diakses pada 20 April 2020.

Kementrian BUMN, *Anti-Bisa Ular Polivalen*, <http://www.bumn.go.id/biofarma/halaman/125>, diakses pada 20 April 2020.

Kementrian BUMN, *Anti-Difteri*, <http://bumn.go.id/biofarma/berita/2-Serum-Anti-Difteri-Kuda->, diakses pada 20 April 2020.

Kementrian BUMN, *Tabungrculin PPD RT 23 SSI*, <http://www.bumn.go.id/biofarma/halaman/126>, diakses pada 20 April 2020.

- LIPI, 2019, *Perkembangan Sel Mamalia Chinese Hamster Ovary (CHO) Dalam Produksi Obat Berbasis Protein*, Bogor : Jurnal Ilmu-ilmu Hayati Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI.
- Ludyasari, A., 2016, *Pengaruh Suhu Annealing pada Program PCR Terhadap Keberhasilan Amplifikasi DNA Udang Jari (Metapenaeus elegans De Man, 1907) Laguna Segara Anakan Cilacap, Jawa Tengah*, Malang : UIN Malang.
- Mahfudloh, L., 2010, *Perubahan Immunoglobulin G (IgG) dan Immunoglobulin A (IgA) Pada Qori Penghafal Al-Qur'an Di Yayasan Baitul Qur'an Indonesia –Depok*, Tangerang : UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Naully, P. G., 2018, *Panduan Analisis Laboratorium Imunoserologi untuk D3 Teknologi Laboratorium Medis*, Bandung : Universitas Jendral Achmad Yani Cimahi.
- Newton, C. R., dan A. Graham, 1994, *PCR*, UK : Bios Scientific Publisher.
- Pratiwi, R., 2001, *Mengenal Metode Elektroforesis*, Volume XXVI Nomor 1 Hal. 25-31, Jakarta : Oseanografi LIPI.
- Pray, L. A., 2008, *Discovery Of DNA Structure and Function : Watson and Crick*, Nature Education 1(1):100, <https://www.nature.com/scitable/topicpage/discovery-of-dna-structure-and-function-watson-397/>, diakses pada 8 April 2020.
- Promega, 2016, *Polymerase Chain Reaction (PCR) Master Mix Protocol*, USA : Promega Cooperation.
- Promega, 2010, *Wizard Genomic DNA Purification Kit Protocol*, USA : Promega Cooperation.
- Rosana, D., 2015, *Biofisika Struktur dan Fungsi DNA dan RNA*, Yogyakarta : Universitas Negeri Yogyakarta.

- Sambrook, J., dan Russel, D. W., 1989, *Molecular Cloning : A Laboratory Manual*, New York : Cold-Spring Harbor Laboratory Pr.
- Song, M. K., Oh, M. S., Lee, J. H., Lee J. N., Chung, J. H., Park, S. G., dan Choi, I. H., 2000, *Light Chain Of Natural Antibody Plays a Dominant Role in Protein Antigen Binding*, Korea : Dongguk University.
- Syafaruddin, E. R., dan Santoso, T. J., 2011, *Efektivitas Dan Efisiensi Teknik Isolasi dan Purifikasi DNA pada Jambu Mete*, Bogor : Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian.
- Tanuwidjaja, R., 2018, Metode-metode Dalam Biologi Molekuler : Isolasi DNA, PCR, Kloning dan Elisa, <https://docplayer.info/61773644-Metode-metode-dalam-biologi-molekuler-isolasi-dna-pcr-kloning-dan-elisa.html>, diakses pada 08 Mei 2020.
- Wahyu, P.,P., 2013, *Apakah DNA?*, Bandung : PT. Puri Delco.
- Wahyudi, T. H., 2007, *Pengaruh Suhu Annealing dan Jumlah Siklus yang Berbeda Pada Program PCR Terhadap Keberhasilan Isolasi dan Amplifikasi mtDNA Ikan Patin (Pangasius hypothalmus)*, Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Yuwono, T., 2006, *Teori dan Aplikasi Polymerase Chain Reaction* Hal. 1-24. Yogyakarta : Andi.

LAMPIRAN

- Pengenalan Gedung dan Lingkungan Kerja di Laboratorium Matriks Riset.

Laboratorium Matriks Riset merupakan bagian dimana awal ide vaksin muncul yang kemudian dilakukan riset dan percobaan mengenai vaksin target yang diinginkan. Pembuatan vaksin ada beberapa tahapan, yaitu preparasi, kultivasi, purifikasi, formulasi dan uji praklinis. Tahap preparasi pembuatan vaksin adalah mempersiapkan alat dan bahan yang diperlukan. Kemudian tahap kultivasi adalah menumbuhkan mikroba untuk memperbanyak sel mikroba dalam media pertumbuhan yang sesuai lalu diinkubasi dengan suhu optimumnya (37°C) dan dilakukan proses sub kultur 1, 2, dan 3 atau lebih bila diperlukan. Apabila mikroba yang digunakan bersifat intrasel maka harus dilakukan proses lisis (penghancuran sel untuk mendapatkan protein) menggunakan zat kimia atau tekanan (*homogenizer*) lalu dicek suhu dan pH tetapi apabila bersifat ekstrasel maka tahapan ini dapat ditiadakan. Kemudian proses purifikasi adalah memisahkan sel dengan media pertumbuhan dan pengotor menggunakan AKTA, sentrifugasi, SDS-Page, ZETA ataupun *western blot*. Kemudian proses formulasi yang mana protein ditambah *adjuvant*, *stabilizer* dan *bahan pengawet*. Lalu dilakukan uji praklinis pada hewan untuk melihat apakah produk vaksin sudah maksimal, optimum dan aman.

Vaksin merupakan suatu bahan antigenik yang digunakan untuk menghasilkan kekebalan terhadap suatu penyakit. Pemberian vaksin dilakukan untuk mencegah/mengurangi pengaruh infeksi terhadap penyakit tertentu. Vaksin dapat diklasifikasikan berdasarkan jenis antigen yang terkandung didalamnya, yaitu vaksin yang hidup tetapi dilemahkan (*live attenuated vaccine*), vaksin inaktif/mati (*inactivated vaccine*), vaksin toksoid, vaksin subunit, vaksin konjugat dan vaksin rekombinan. Vaksin hidup yang dilemahkan mengandung mikroba hidup yang dilemahkan digunakan untuk menghasilkan infeksi terbatas yang cukup memicu respon imun tetapi tidak cukup untuk menyebabkan penyakit sebenarnya. Vaksin inaktif/mati mengandung mikroba tidak aktif sehingga tidak dapat

meperbanyak diri di inang dan digunakan sebagai agen vaksinasi. Vaksin toksoid mengandung vaksin beracun yang diinaktifkan. Vaksin subunit mengandung sebuah antigen murni yang dapat berupa toksoid, fragmen subseluler atau molekul permukaan yang akan diangkut oleh pembawa yang berbeda. Vaksin konjugat merupakan sebuah subkelas vaksin subunit karena membawa antigen berbasis polisakarida ke dalam tubuh. Vaksin rekombinan merupakan gen yang membawa antigen murni yang diisolasi dari suatu mikroba yang mana gen tersebut disisipkan ke dalam sebuah plasmid mikroba yang telah dilemahkan.

- Kunjungan ke Bagian *Water Treatment Plant* (WTP) dan Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL).

Water Treatment Plant (WTP) merupakan sebuah bagian yang mensupply air untuk proses produksi. Produk hasil WTP ada tiga, yaitu *purity water*, *pure steam* dan *water for injection* (WFI). Proses pembuatan *purity water* adalah bahan baku air yang digunakan berasal dari air PDAM atau sumber air dalam gedung masing-masing berbeda kemudian disaring menggunakan saringan dua lapisan, yaitu lapisan pertama batu dan pasir, lapisan kedua karbon dan batu, *multi-filtering* menggunakan pori-pori sebesar 5 dan 0,2 μm . Lalu air tersebut dilewati dengan sinar UV. Kemudian tahap selanjutnya adalah *reverse osmosis* (osmosis terbalik). Metode ini adalah metode penyaringan berbagai molekul besar dan ion-ion dari larutan dengan cara memberikan tekanan pada larutan ketika larutan berada disalah satu membran seleksi (lapisan penyaring). Proses ini menjadikan zat terlarut terendapkan sehingga larutan menjadi murni. Adapun yang harus diperhatikan dalam pembuatan *purity water* adalah suhu harus 25-45°C dan harus stabil, konduktivitas air kurang dari 1,1 $\mu\text{S/cm}$ dan sirkulasi terus-menerus. Selanjutnya proses produksi *pure steam* yaitu produksi hasil *pure water* dipanaskan dengan suhu 104°C. *Pure steam* digunakan untuk proses inkubasi dan sterilisasi alat-alat

produksi. Pembuatan WFI ada dua proses, yaitu bahan baku air dipanaskan kemudian disulingkan atau kedua produk sebelumnya didinginkan saja.

Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) merupakan bagian untuk mengolah limbah cair hasil produksi agar ketika limbah dibuang aman dan tidak menimbulkan kerusakan lingkungan. Pertama-tama, limbah produksi dimasukkan ke *killing tank* untuk membunuh sisa bakteri menggunakan desinfektan dan uap panas. Kemudian limbah masuk ke bak pengumpul setelah bakteri mati sempurna.. Lalu pada bak netralisasi untuk mengatur pH limbah pada 6-9 dengan menambahkan NaOH atau HCl. Pada bak aerasi 1 dan 2, limbah dihomogenkan dengan oksigen (aerasi) pada bak ini juga dilakukan uji COD, BOD dan DO. Bak sedimentasi 1 mengendapkan limbah menjadi dua fase, yaitu larutan dengan lumpur menggunakan bahan PAC. Kemudian lumpur tersebut disaring dengan krikil, ijuk, pasir dan lapisan filter biasa. Kemudian diendapkan kembali pada bak sedimentasi 2 untuk memaksimalkan lumpur yang dapat terendapkan. Lalu limbah dimasukkan ke kolam ikan sebagai indikator apakah limbah yang telah diolah sudah aman atau belum. Ikan yang digunakan adalah ikan lemah/sensitif. Tahap terakhir yaitu klorinasi menggunakan NaOCl/kaporit dengan pompa/tekanan untuk menjernihkan dan membunuh bakteri yang masih ada. Lumpur hasil tadi dibakar dengan *incenerator* sedangkan limbah cair dapat dibuang ke saluran pembuangan. Untuk limbah-limbah padat dan B3 langsung dibakar dengan *incenerator*.

- Materi Tentang Sterilisasi.

Sterilisasi yang dilakukan dalam laboratorium matriks riset ada dua cara, yaitu sterilisasi uap basah menggunakan autoklaf dan sterilisasi uap kering menggunakan oven. Tahapan melakukan sterilisasi uap basah menggunakan autoklaf adalah alat-alat yang akan disterilkan harus dicuci bersih menggunakan sabun dan dibilas dengan air panas, kemudian ditutup lubang alat menggunakan kasa, *woven blue* dua lapis dan diikat pita, ditandai dengan selotip steril, diberi nama dan tanggal, kemudian diatur

alat autoklaf suhu 121°C 1 atm selama 1-2 jam. Tahapan melakukan sterilisasi uap kering menggunakan oven adalah alat-alat yang akan disterilkan harus dicuci bersih menggunakan sabun dan dibilas dengan air panas, kemudian ditutup lubang alat menggunakan aluminium foil, diberi nama dan tanggal, kemudian diatur alat oven suhu 250°C selama 4 jam, flap 0% untuk pemanasan dan flap 100% untuk pendinginan.

- Materi Tentang Vaksin *Bacille Calinette-Guerin* (BCG).

Vaksin BCG merupakan vaksin untuk pasien penderita penyakit tuberkulosis. Vaksin ini dibuat dari mikroorganisme yang telah dilemahkan. Vaksin ini dikembangkan kembali karena efektifitas vaksin sebelumnya rendah sedangkan *Mycrobacterium bovis* semakin lama semakin bermutasi, berevolusi, terkadang bisa dominan, terkadang bisa lisis dan resisten terhadap vaksin yang telah dibuat sebelumnya. Vaksin yang sedang dikembangkan adalah vaksin subunit/kloning dari sel BCG. Sel ini memiliki kesamaan gen dengan *M. tuberculosis* sebesar 98% sedangkan 2% sisanya mengandung 300 gen yang diantaranya adalah gen yang dapat menyebabkan infeksi. Bakteri yang digunakan sebagai sel inang untuk pembuatan vaksin ini adalah *E.coli*. *E.coli* adalah bakteri gram negatif yang mempunyai banyak mikropolisakarida dan bersifat imunogen. Pemurnian vaksin ini menggunakan kromatografi menggunakan fase diam berupa kolom berisi resin untuk mengikat protein yang mengandung *His-tag* (Protein target) dan fase gerak berupa larutan tertentu yang sesuai. Adapun tahapan pemurnian ada empat, yaitu *flow through*, *washing* pertama, elusi dan *washing* kedua. Dalam proses *flow through*, protein target akan berikatan dengan resin sedangkan protein pengotor keluar dari kolom. Dalam proses *washing* yang pertama, dilakukan untuk menghilangkan protein pengotor/protein yang berikatan lemah dengan penggunaan *flow*/alir yang diperbesar. Dalam proses elusi, dilepaskan protein target dari resin dengan larutan imidazol. Imidazol adalah senyawa yang mempunyai ikatan lebih kuat dengan resin jadi protein target yang

sebelumnya terikat akan terlepas dan keluar dari kolom. Proses *washing* yang kedua, membersihkan kolom dari protein-protein yang tertinggal menggunakan larutan NaOH.

- Materi Tentang SDS-Page (*Sodium Dodesil Sulphate Polyacrilamid Gel Electrophoresis*) dan ELISA (*Enzim Linked Immuno Sorbent Assay*).

SDS-Page (*Sodium Dodesil Sulphate Polyacrilamid Gel Electrophoresis*) merupakan metode analisa kualitatif dan semi kualitatif untuk memisahkan protein menggunakan aliran listrik berdasarkan besar molekul. Dalam SDS-Page terdapat dua gel, yaitu gel pertama memiliki fungsi untuk memisahkan protein dan diatur konsentrasi gelnya untuk besar pori-pori dan gel kedua untuk meratakan sampel. Sampel protein ikatannya diputus menggunakan agen pereduksi dan pemanasan yang mana akan terbentuk peptide-peptidanya. Kemudian dipisahkan dengan aliran listrik berdasarkan besar molekul. Peptida yang memiliki besar molekul yang besar akan tertahan di atas *well* sedangkan peptida yang besar molekulnya kecil akan migrasi ke bawah gel. Lalu dilakukan staining. Staining ada dua jenis, yaitu *commasie blue* dan *silver stain* tergantung dari tujuan pewarnaannya. Kemudian gel dapat di scan dan pembacaan dengan standar.

Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrilamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) adalah metode elektroforesis untuk memisahkan protein. Struktur protein akan dipecah (denaturasi) menjadi individu sub-unit polipeptida oleh kombinasi *Sodium Dodecyl sulphate* (SDS) dan beta-merkaptotanol yang merupakan komposisi dari gel. SDS akan membentuk sebuah kompleks dengan sub unit polipeptida menjadi kompleks SDS-polipeptida yang bermuatan negatif. Prinsip pemisahan dengan SDS-PAGE adalah pemisahan berdasarkan jumlah kompleks SDS-polipeptida dan berdasarkan perbedaan besar muatan listrik dan ukuran melalui pori-pori matriks dari gel. Polimer yang digunakan untuk membentuk matriks gel adalah *Polyacrilamide*, yang dibentuk dari

monomer *Bis-Acrylamide* yang direaksikan dengan amonium persulfat (APS) sebagai *radical agent* dan tetrametiletildiamin (TEMED) sebagai katalis untuk reaksi polimerisasi. Perkiraan ukuran/berat molekul polipeptida dari sampel teruji dapat diketahui dengan menggunakan *marker* yang telah diketahui berat molekulnya.

ELISA merupakan metode biokimia yang digunakan untuk mendeteksi ada atau tidaknya antibodi/antigen pada suatu sampel. ELISA memiliki beberapa jenis, yaitu *direct*, *indirect*, *sandwich*, *multiplex* dan *biotin step avidin*. Fungsi dari metode ELISA untuk mengetahui keberadaan suatu antigen dengan antibodi tetapi juga untuk mengukur kadar antigen/antibodi dengan alat spektrofotometer. Kompleks antigen-antibodi yang terjadi pada *well microplate* dan setelah pemberian substrat, enzim yang terikat pada antibodi dengan kompleks antigen-antibodi akan membentuk suatu perubahan warna yang akan memberikan OD (*optical density*) yang berbeda. OD dapat dinyatakan meningkat/menurun berdasarkan pengencer material standarnya.

- Materi Tentang *Freeze Dry*.

Prinsip kerja alat *freeze dry*, yaitu pembekuan sampel, *primary drying* dan *secondary drying*. Pertama-tama, sampel dibekukan pada suhu -50°C . Pada proses ini akan terjadi pemisahan antar kristal air dengan sampel. Kedua, sublimasi sampel pada suhu -35°C (*primary drying*). Molekul air dihilangkan dengan adanya bantuan vakum. Ketiga, dipanaskan hingga suhu 30°C (*secondary drying*) bertujuan untuk mendesorpsi melepaskan molekul air yang masih terperangkap dalam sampel.

- Materi Tentang Kromatografi *Ion Exchange*, Afinitas dan Eksklusi.

Kromatografi *ion exchange* merupakan metode pemurnian senyawa yang spesifik dalam larutan campuran atau proses substitusi satu jenis senyawa ionik dengan yang lain terjadi pada permukaan fase gerak.

Kromatografi ini berfungsi untuk memisahkan molekul bermuatan. Secara umum kromatografi ini ada dua jenis, yaitu penukar anion dan kation. Kromatografi penukar anion bila molekul spesifik target bermuatan negatif maka kolom yang digunakan bermuatan positif. Begitu sebaliknya dengan penukar kation. Adapun resin penukar ion ada empat golongan, yaitu resin penukar kation bersifat asam kuat, resin penukar kation bersifat asam lemah, resin penukar anion bersifat basa kuat dan resin penukar anion bersifat basa lemah. Kelebihan kromatografi ini adalah cepat, sensitifitasnya tinggi, selektif, stabil dan pendeteksi serempak/sekaligus.

Kromatografi afinitas merupakan metode pemisahan campuran biokimia berdasarkan interaksi spesifiknya (Reaksi *Lock and key*), misalnya antigen dengan antibodi, enzim dengan substrat, atau reseptor dengan ligan. Kromatografi ini dapat digunakan untuk memurnikan dan memekatkan bahan dari campurannya ke dalam larutan penyangga, mengurangi jumlah bahan dalam suatu campuran, mengamati senyawa biologi yang terikat dan memurnikan dan memekatkan larutan enzim. Fase diam yang digunakan biasanya suatu matriks gel agarosa. Umumnya, titik awal karutan gugus molekul heterogen yang tidak diketahui ingin dimurnikan/dipisahkan. Molekul target dijerat pada fase diam. Sedangkan molekul lain terbawa oleh fase gerak. Kemudian fase diam dipisahkan dari molekul dengan cara dielusi.

Kromatografi eksklusi merupakan metode pemisahan berbagai konstituen berdasarkan perbedaan ukuran dan geometri molekul. Perbedaan ukuran menyebabkan partikel bergerak lebih cepat dari yang lainnya sehingga menimbulkan perbedaan permukaan migrasi. Kromatografi ini ada tiga jenis, yaitu permeasi gel/filtrasi gel, eksklusi dan reterdasi ion dan *molecular sieve anorganic-zeolit*.

- Materi Tentang *Tangential Flow Filtration* (TFF).

Tangential Flow Filtration (TFF) adalah metode yang digunakan untuk proses pemurnian dan pemekatan larutan. Pemurnian dilakukan

dengan metode filtrasi dengan arah aliran sampel (*feed*) tegak lurus terhadap membran filter yang akan menyaring berdasarkan ukuran molekul (kDa) tertentu. Sistem TFF berjalan terus-menerus dengan sistem semi-tertutup karena saluran keluar dari TFF yang berupa pelet akan kembali ditampung ke dalam tabung sampel. Permeat adalah filtrat sampel. Masing-masing saluran tersebut dapat ditutup sesuai kebutuhan, apabila diinginkan sirkulasi tertutup untuk tujuan pembersihan atau adaptasi alat maka saluran permeat ditutup. Keuntungan dari sistem ini adalah aliran yang tegak lurus terhadap filter menyebabkan aliran *feed* dapat membilas filter sehingga tidak terjadi buntu/*clogging* pada filter.

- Kunjungan ke Bagian Produksi Media Lingkungan, Bakteri dan Virus dan *Environmental, Health and Safety* (EHS).

Bagian media lingkungan, bakteri dan virus merupakan bagian yang memproduksi media pertumbuhan dan media produksi yang nantinya akan didistribusikan ke bagian-bagian yang membutuhkan. Pembuatan media dilakukan berdasarkan protokol pemesanan atau darurat/*emergency*. Media yang dibuat adalah media agar untuk pemantauan lingkungan, bakteri dan virus. Kapasitas media yang dapat diproduksi sebesar 100 batch. Adapun cara pembuatan media adalah menimbang baha-bahan yang diperlukan, dilarutkan dengan WFI, disterilisasi lalu *difilling* ke cawan petri dan *diwrapping* untuk mencegah kontaminasi. Kemudian disimpan dalam *cold room*. Sebelum media didistribusikan dicek dahulu oleh QC untuk evaluasi sterilitas media dan *growth test*.

Bagian EHS adalah bagian yang mengelola lingkungan, keselamatan dan kesehatan kerja sesuai regulasi dari kementerian ketenagakerjaan dan kementerian lingkungan hidup. Bagian ini melakukan pencegahan terjadinya pencemaran lingkungan, kesehatan dan keselamatan kerja karyawan dari hal-hal yang tidak diinginkan. Bagian K3 mengatur tindakan dan perilaku mengenai kesehatan dan keselamatan kerja berdasarkan resiko-resiko yang dapat terjadi ditempat kerja. Adapun

setiap parameter resiko dikategorikan berdasarkan Nilai Ambang Batas (NAB).

- Kunjungan ke Bagian Produksi Hepatitis B (HbsAg) dan *Packaging* (Pengemasan Produk).

Produksi vaksin HbsAG ada dua tahap, yaitu *up stream* dan *down stream*. Proses *up stream* dilakukan untuk memperbanyak kultur sel untuk memproduksi protein target. Pada proses *up stream* bibit *yeast* ditumbuhkan dalam media dalam fermentor semalaman dengan penggoyangan. Kultivasi dilakukan beberapa subkultur untuk memperbanyak sel. Lalu dilakukan proses *down stream* dengan tiga tahapan, yaitu separasi/lisis yang mana sel dipecah secara mekanik untuk mengambil protein target kemudian dipurifikasi untuk memurnikan protein target dengan pengotor dan penyaringan terakhir. Kemudian dipisahkan dengan TFF dan dialisi. Lalu dilisis dengan tekanan untuk memecah sel selama 2 jam. Lalu dipurifikasi dengan sentrifugasi dan pemisahan menggunakan IEC dilanjut dengan *ultrafiltration*. Adapun bentuk hasil produksi adalah bulk yang akan diformulasi dibagian lain.

Bagian *packaging* merupakan bagian yang bertanggungjawab untuk pengemasan sebelum didistribusikan untuk dijual ke pasaran. Beberapa tahapan yang dilakukan adalah inspeksi visual, pelabelan, *packing* dan *storage*. Proses inspeksi visual terhadap masing-masing produk dilihat dari bentuk fisik dan warna produk. Proses ini dilakukan untuk memilih produk reject/tidak (pecah, kebocoran, keretakan dan warna). Proses ini bisa manual atau otomatis menggunakan mesin. Parameter produk yang reject ada tiga, yaitu kritis, mayor dan minor. Kritis untuk integritas dan ketutupan produk, mayor untuk partikel, serap, kelainan warna, dan minor untuk volume dan kemasan luar. Proses *storage* dalam *cold room* dengan beberapa suhu yaitu -20°C , $2-8^{\circ}\text{C}$ dan suhu ruang. Ada dua macam proses *packing* yaitu *single dose* dan *multi dose*. Untuk proses *packing single dose* dari produk awal dimasukkan ke

dalam vial-vial dilabeling *trimming* (pemotongan) lalu diinspeksi visul dan dilanjutkan uji lab, *dipacking*, ditimbang, disegel dan disimpan. Untuk *packing multi dose* dari produl awal dimasukkan ke dalam vial-vial, kemudain dilabeling, ditambah *vaccine vial monitor temperature* dan inspeksi vial, *dipacking* dan disimpan.

- Kunjungan ke Bagian Gudang (*Warehouse*)

Gudang PT. Bio Farma Persero adalah suatu bagian yang memiliki tugas untuk menerima, menyimpan dan mendistribusikan bahan baku maupun penunjang untuk kegiatan-kegiatan di PT. Bio Farma terutama dalam kegiatan produksi.

Gudang di PT. Bio Farma Persero terdiri dari tiga lantai yang memiliki fungsi spesifik, yaitu:

1. Lantai 1: Administrasi terhadap barang yang akan disimpan di gudang, yaitu ruang penerimaan barang masuk (*pass room in*), ruang barang keluar (*pass room out*), ruang karantina barang masuk, ruang penyimpanan bahan baku kimia umum, ruang penyimpanan bahan kimia asam korosif, ruang penyimpanan *flammable*, bulk influenza, hepatitis, dan polio.
2. Lantai 2: Ruang penyimpanan kemasan cetak *release* (kemasan sekunder, label, dan lain-lain), ruang penyimpanan bahan penunjang produksi, bahan kimia yang digunakan untuk penyimpanan bahan kimia suhu dingin.
3. Lantai 3: Ruang penyimpanan kemasan jadi (vial dan karton), ruang penyimpanan persediaan alat.

Sistem administrasi barang masuk dan keluar di gudang dilakukan menggunakan logika komputer, sehingga meminimalisir terjadinya kesalahan manusia. Ketika barang masuk, identitas dan kesesuaian diperiksa. Apabila tidak terdapat masalah, barang akan mendapat sebuah nomor GIN (*Goods Inward Numbers*) sebagai identitas internal *warehouse* dan ditempatkan di rak sesuai rak yang diatur oleh komputer. Barang

kemudian akan di karantina hingga QC (*Quality Control*) menyatakan bahwa barang/bahan tersebut lulus uji mutu dengan ditandai “*Release*”. Tanda *release* akan menempel tepat menutupi tulisan “*Quarantine*” tanpa menutup identitas tanda sebelumnya, hal tersebut dimaksudkan agar meminimalkan kesalahan penandaan. Mutasi terhadap barang “*Release*” dilakukan mengikuti kaidah FIFO (*First In First Out*) untuk barang tanpa expired date dan FEFO (*First Expired First Out*) untuk bahan-bahan kimia atau barang lain yang memiliki tanggal kadaluarsa (*Expiry date*).

- Materi Tentang *Quality Assurance* (QA).

Divisi QA atau pemastian mutu adalah suatu bagian yang mempengaruhi mutu dari obat yang dihasilkan. QA memiliki tugas untuk memastikan penerapan CPOB/cGMP, GLP, kesesuaian produk dengan spesifikasi sampai praktek distribusi yang baik (khususnya distribusi rantai dingin untuk vaksin), QA juga bertanggung jawab terhadap penerapan sistem K3 (kesehatan dan Keselamatan Kerja) di PT. Bio Farma Persero.

Divisi QA merupakan divisi yang berada langsung dibawah kepemimpinan direktur utama. QA terbagi menjadi tiga bagian, yaitu:

a. *QA Operation*

QA operation adalah suatu bagian QA yang bertanggung jawab dalam pemastian mutu proses produksi, mulai dari spesifikasi bahan awal sampai spesifikasi produk jadi sesuai dengan yang direncanakan. Catatan produksi setiap batch akan diperiksa oleh bagian ini dan dilakukan evaluasi untuk menentukan *release* dari bets tersebut. Setelah itu, akan dikeluarkan *Certificate of Release* (CoR) sebagai bukti mutu ketika didistribusikan ke konsumen.

b. *QA Service*

QA service adalah suatu bagian yang mengendalikan segala dokumentasi yang dibutuhkan untuk setiap kegiatan industri farmasi. Jenis dokumen tersebut adalah *document control*, program validasi (personil,

peralatan dan proses), kalibrasi peralatan, *training* GMP, *vendor rating* dan *self-inspection*.

c. *QA System*

QA system adalah suatu bagian yang bertanggung jawab dalam pengelolaan sistem pengendalian perubahan, penanganan deviasi, komplain produk, penarikan kembali produk, sistem WTP (*Water Treatment Plan*) serta seluruh sistem yang mendukung proses industri.