

INDONESIAN JOURNAL OF **CLINICAL PATHOLOGY AND MEDICAL LABORATORY**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

Susunan Pengelola Jurnal Ilmiah Patologi Klinik Indonesia
(Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory)
Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia Masa Bakti 2013–2016
(surat keputusan pengurus pusat PDSPATKLIN Nomor 008/PP-PATKLIN/III/2014)

Pelindung:

Ketua Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia

Ketua:

Puspa Wardhani

Wakil Ketua:

Maimun Zulhaidah Arthamin

Sekretaris:

Dian Wahyu Utami

Bendahara:

Bastiana Bermawi

Anggota:

Osman D. Sianipar

Penelaah Ahli:

Riadi Wirawan, AAG. Sudewa, Rahayuningsih Dharma, Mansyur Arif

Penelaah Pelaksana:

Prihatini, July Kumalawati, Ida Parwati, Tahono, Krisnowati, Nurhayana Sennang Andi Nanggung, Aryati, Purwanto AP, Jusak Nugraha, Sidarti Soehita, Maimun Zulhaidah Arthamin, Endang Retnowati, Edi Widjajanto, Budi Mulyono, Adi Koesoema Aman, Uleng Bahrin, Ninik Sukartini, Kusworini Handono, M. Yolanda Probohoesodo, Rismawati Yaswir

Berlangganan:

3 kali terbit per tahun

Anggota dan anggota muda PDSPATKLIN mulai Tahun 2011 gratis setelah melunasi iuran

Bukan Anggota PDSPATKLIN: Rp 175.000,-/tahun

Uang dikirim ke alamat:

Bastiana Bermawi dr, SpPK

Bank Mandiri KCP SBY PDAM No AC: 142-00-1079020-1

Alamat Redaksi:

d/a Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. Soetomo Jl. Mayjend. Prof. Dr Moestopo 6–8 Surabaya.
Telp/Fax. (031) 5042113, 085-733220600 E-mail: majalah.ijcp@yahoo.com; jurnal.ijcp@gmail.com
Website: <http://www.indonesianjournalofclinicalpathology.or.id>

Akreditasi No. 66b/DIKTI/KEP/2011

INDONESIAN JOURNAL OF CLINICAL PATHOLOGY AND MEDICAL LABORATORY

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

DAFTAR ISI

PENELITIAN

Angka Banding Netrofil/Limfosit di Populasi Dewasa Muda (<i>Neutrophil/Lymphocyte Ratio in Young Adults</i>)	105–108
Arie Yanti, Uleng Bahrun, Mansyur Arif	105–108
Phosphatidylinositol -3kinase (PI3K) di Perbenihan Adiposit yang Dipajang Glukosa Tinggi dengan Retinol { <i>The Enzyme Phosphatidylinositol -3Kinase (PI3K) in Adipocyte Culture Exposed by High Glucose Related with Retinol</i> }	109–113
Novi Khila Firani, Bambang Prijadi	109–113
Penilaian Uji Troponin I dengan <i>Point of Care Testing</i> (<i>Evaluation of Troponin I Assay with Point of Care Testing</i>)	114–118
Sheila Febriana, Asvin Nurulita, Uleng Bahrun	114–118
Perbandingan Nilai Diagnostik IgE Spesifik Tungau Debu Rumah, Metode ELISA dan Imunoblot pada Rinitis Alergi (<i>Diagnostic Value Comparation of Specific IgE House Dust Mite, ELISA and Immunoblot Methods in Allergic Rhinitis</i>)	119–126
Janti Tri Habsari, Aryati, Dwi Reno Pawarti	119–126
Heart Fatty Acid Binding Protein Sebagai Petanda Biologis Diagnosis Sindrom Koroner Akut (<i>Heart Fatty Acid Binding Protein Can be a Diagnostic Marker in Acute Coronary Syndromes</i>)	127–132
Ira Puspitawati, I Nyoman G Sudana, Setyawati, Usi Sukorini	127–132
Permintaan Darah Persiapan Tindakan Bedah di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo (<i>Blood Demand for Surgery Preparation at Dr. Wahidin Sudirohusodo General Hospital</i>)	133–136
Herlinah, Rachmawati Muhiddin, Mansyur Arif	133–136
CD4+ dan CD8+ Interferon Gamma Tuberkulosis Paru Aktif dan Tuberkulosis Laten (<i>Interferon Gamma Expression of CD4+ and CD8+between Active Pulmonary Tuberculosis and Latent Tuberculosis</i>)	137–140
Betty Agustina Tambunan, John Wiwin, Jusak Nugraha, Soedarsono	137–140
Interleukin-4 dan Interferon Gamma di Nefritis Lupus: Hubungan Aktivitas Penyakit Serta Kekambuhan (<i>Interleukin-4 and Interferon Gamma in Lupus Nephritis: Correlation with Disease Activity and Flare Up</i>)	141–146
Torajasa Achamar, Dany Farida, Hani Susanti, Kusworini Handono, Ati Rastini, R.I, I Putu A.S, Atma Gunawan, Handono Kalim	141–146
RDW, Jumlah Trombosit dan RPR dengan Indeks FIB-4 di Hepatitis C (<i>RDW, Platelets and RPR with FIB-4 Index in Hepatitis C</i>)	147–150
Yenny Yulianti, Banundari Rachmawati	147–150

Protein Rekombinan 38 KDA Mycobakterium Tuberkulosis dapat Mengimbas Pembuatan Interleukin-2 dan Interferon- γ Limfosit T di Kultur Sel Mononuklear Darah Tepi (The 38 KDA Recombinant Protein of Mycobacterium Tuberculosis can Induce the Synthesis of Interleukin-2 and Interferon- γ T Lymphocytes in Peripheral Blood Mononuclear Cell Culture) Maimun Z Arthamin, Singgih Pujo Wahono, Antiek Primardianti, Ati Rastini, Tri Wahju Astuti, Tri Yudani Mardining Raras, Francisca S Tanoerahardjo	151–157
Rancangan Primer Spesifik Gen Macrophage Mannose Receptor (MMR) untuk Polymerase Chain Reaction (PCR) dan Sekuensi Deoxyribo Nucleic Acid (DNA) {Macrophage Mannose Receptor Gene (MMR) Specific Primer Design for Polymerase Chain Reaction (PCR) and Deoxyribonucleic Acid (DNA) Sequencing} Yani Triyani, Nurizzatun NaFsi, Lelly Yuniaristi, Nanan Sekarwana, Endang Sutedja, Dida Ahmad Gurnida, Ida Parwati, Bachti Alisjahbana	158–162
Analisis King's Score di Penyakit Hati Kronis Berdasarkan Fibroscan (Analysis of King's Score in Chronic Liver Disease Based on Fibroscan) Wira, Amaliyah T. Lopa, Ibrahim Abdul Samad	163–167
Kadar Surfactant Protein-D Serum pada Pasien Penyakit Paru Obstruktif Kronis Berkebahayaan Kambuhan Rendah dan Tinggi (Serum Surfactant Protein-D Level in High and Low Risk of Exacerbation Chronic Obstructive Pulmonary Disease Patients) Dewi Nurhayati, Ida Parwati, Tiene Rostini, Arto Yuwono	168–175
Identifikasi Mutasi H63D Gen HFE pada Kelainan HBE (Identification of H63D HFE Gene Mutation in HBE Disorder) Yanuarita Tursinawati, Nyoman Suci Widayastiti, Moedrik Tamam	176–181
Anti-HIV dan Subtipe HIV pada Pasien Hemodialisis (Anti-HIV and HIV Subtype in Hemodialysis Patients) Retno Handajani, Mochammad Thaha, Mochamad Amin, Citrawati Dyah Kencono WuNgu, Edhi Rianto, Pranawa	182–186
Kenasaban Fosfat Serum, C-Reaktif Protein dan Fetuin A di Pasien Ginjal Tahap Akhir dengan Hemodialisis (Correlation of Serum Phosphate, CRP and Fetuin A in End Stage Renal Disease Patients on Hemodialysis) Indranila KS, Heri Winarto, Purwanto AP	187–193
TELAAH PUSTAKA	
<i>Maldi-Tof dan Seldi-Tof Mass Spectrometry dengan Throughput Tinggi untuk Analisis Proteomik Profil Protein dari Petanda Biologis</i> (<i>Maldi-Tof and Seldi-Tof Mass Spectrometry with High Throu Ghput for Proteomic Analysis of Protein Profiling of Biomarker</i>) Trinovia Andayaningsih, Siti Muchayat P.	194–199
LAPORAN KASUS	
Ketoasidosis Diabetik di Diabetes Melitus Tipe 1 (<i>Ketoacidosis Diabetic in Type 1 Diabetes Mellitus</i>) Zuhrinah Ridwan, Uleng Bahrur, Ruland DN Pakasi R	200–203

Ucapan terimakasih kepada penyunting Vol. 22 No. 2 Maret 2016

Riadi Wirawan, Adi Koesoema Aman, Purwanto AP, Sidarti Soehita, Ninik Sukartini, Prihartini, Kusworini Handono, Uleng Bahrur, Aryati, Budi Mulyono, AAG. Sudewa

TELAAH PUSTAKA

MALDI-TOF DAN SELDI-TOF MASS SPECTROMETRY DENGAN THROUGHPUT TINGGI UNTUK ANALISIS PROTEOMIK PROFIL PROTEIN DARI PETANDA BIOLOGIS

*(MALDI-TOF and SELDI-TOF Mass Spectrometry with High Throughput for
Proteomic Analysis of Protein Profiling of Biomarker)*

Trinovia Andayaningsih, Siti Muchayat P.

ABSTRACT

In recent years, proteomic approach has been widely used for diagnosing the diseases and matrix assisted laser desorption / ionization- time of the flight (MALDI-TOF) mass spectrometry and its modification, surface enhanced laser desorption/ionization-time of flight (SELDI-TOF) mass spectrometry have became very promising diagnostic tools. High throughputs and relative simplicity of these technologies attracted the researchers to know the biomarkers of specific diseases by analyzing specimens of serum/plasma and other body fluids. Analyzing plasma specimens by MALDI/SELDI TOF mass spectrometry provides new information especially about small protein and peptides in high abundance. Protein profilings, resulting by these technologies provide higher sensitivity and specificity values than current biomarkers. Knowing how these principle tools work and its promising application to early detection of specific diseases is the aim of writing this paper.

Key words: MALDI-TOF, SELDI-TOF, mass spectrometry, high throughput, proteomic, protein profiling, biomarker

ABSTRAK

Dalam beberapa tahun terakhir, pendekatan proteomik telah sangat luas digunakan untuk mendiagnosis penyakit dan Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight (MALDI-TOF) mass spectrometry dan teknik modifikasinya yaitu Surface Enhanced Laser Desorption/Ionization Time of Flight (SELDI-TOF) mass spectrometry telah menjadi alat diagnostik yang sangat menjanjikan. Daya pengerjaan yang berlebihan dan kesederhanaan relatif dari teknologi ini menarik para peneliti untuk mengetahui bagaimana Petanda Biologis dari penyakit tertentu dengan menganalisis spesimen serum/plasma dan cairan tubuh yang lain secara menemukannya. Analisis spesimen cairan plasma dengan MALDI/SEL-DI TOF MS menghasilkan keterangan baru terutama tentang protein kecil dan peptida yang jumlahnya sangat banyak. Protein profiling yang dihasilkan teknologi ini memberikan nilai kepekaan dan kekhasan yang lebih tinggi dibandingkan dengan petanda biologis yang telah ada sekarang. Dengan mengetahui bagaimana asas alat ini bekerja dan penerapannya yang menjanjikan dalam mendeteksi secara dini penyakit tertentu merupakan tujuan dari penulisan makalah ini.

Kata kunci: MALDI-TOF, SELDI-TOF, mass spectrometry, daya pengerjaan yang berlebihan, protein kecil, peptida, penampangan protein, petanda biologis

PENDAHULUAN

Ilmu pengetahuan tentang genom telah mengalami perkembangan yang sangat pesat dalam 20 tahun terakhir ini. Ratusan genom telah dikenali secara lengkap dan sekarang banyak yang telah tercatat dan teruraikan, tetapi keterangan tersebut sering menemui kegagalan dalam memahami fungsi seluler terutama karena perubahan yang banyak terjadi dalam protein

yang dihasilkan oleh genom siklus kehidupan sel.¹ Pemahaman terkait genom menggunakan pengetahuan tentang sekuens dari keseluruhan genom manusia untuk menentukan peran genetik penyakit.²

Pada pertengahan tahun 1990 *mass spectrometer* telah menjadi garis depan teknik analitik yang digunakan untuk mempelajari protein, dan sejak saat itu muncul pula istilah ‘proteomik’. Proteomik dalam pengertian yang luas meliputi ilmu pengetahuan

tentang struktur, fungsi dan ekspresi seluruh protein dalam tautan biokimiawi atau biologis dari seluruh organisme. Dasar dari proteomik lebih menekankan kepada identifikasi dan banyaknya protein dan modifikasi pasca translasional dalam sistem tertentu. Hal tersebut merupakan tantangan yang setiap gen memiliki kekuatan 100 kali atau perbedaan protein isoform kimiawi yang berlebihan. Banyak molekul lain seperti molekul logam dan lipid yang berinteraksi dengan protein dalam ikatan nonkovalen, sehingga dalam sebuah genom manusia terkandung jutaan protein yang memerlukan identifikasi dan kuantifikasi. Saat ini *mass spectrometer* telah rutin digunakan untuk mengerjakan tugas yang berkaitan dengan proteomik tersebut.¹

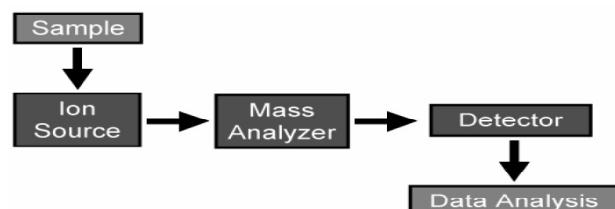
Omk adalah batasan umum dari bidang ilmu dan teknik tertentu yang luas untuk menganalisis interaksi komponen biologis molekular dalam berbagai “ome”, seperti: *genome*, *proteome*, *metabolome*, *expressome* dan *interactome*. Omik tidak hanya memiliki dampak pada pengertian tentang proses biologis, tetapi penyelidikan diagnostik dan pengobatan penyakit yang lebih cermat akan segera menjadi sebuah kenyataan.³

Tujuan penulisan makalah ini adalah untuk mengetahui secara umum tentang *mass spectrometer*, struktur, cara kerja dan macamnya. Tujuan secara khusus penelaahan ini adalah untuk mengetahui tentang *mass spectrometer*, yang paling sering digunakan dalam menganalisis proteomik, yaitu jenis *matrix assisted laser desorption ionization-time of flight* (MALDI-TOF) dan modifikasinya yakni *surface enhanced laser desorption ionization-time of flight* (SELDI-TOF), struktur, cara kerja, serta penerapannya.

PEMBAHASAN

Mass Spectrometer (MS) adalah alat tertentu yang menggunakan teknik analitik untuk mengukur angka banding masa terhadap muatan (*mass to charge ratio* = m/z) dari ion.⁴ Umumnya struktur *mass spectrometer* terdiri dari tiga (3) bagian, yaitu: sumber ion, penganalisis masa dan detektor (lihat Gambar 1).^{4,5}

Di samping itu terdapat pula *inlet* tertentu yang digunakan untuk memasukkan sampel ke dalam



Gambar 1. Bagan *mass spectrometer*⁴

sumber ion dan komputer yang dihubungkan ke detektor untuk mencatat dan menganalisis data yang dihasilkan selama memprosesnya.⁵ Sampel masuk ke dalam peralatan, akan terionisasi di dalam kawasan sumber ion, molekul dalam sampel tersebut akan bermuatan listrik oleh karena penambahan muatan positif dari proton, yang lebih lanjut mengalami penguapan ke dalam bentuk gas. Di kawasan penganalisis masa mempunyai tekanan lebih rendah dibandingkan dengan kawasan di sumber ion. Di sini terjadi pemisahan molekul berdasarkan angka banding masa terhadap muatannya yang lebih lanjut dideteksi oleh detektor dengan keluaran spektrum masa berupa grafik antara intensitas terhadap m/z (*mass to charge ratio*).^{1,5}

Mass spectrometry antara lain terdiri dari bermacam tipe:⁶ *Accelerator Mass Spectrometry* (AMS), *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS), *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (LC-MS), *Inductively coupled plasma-Mass Spectrometry* (ICP-MS), *Isotope Ratio Mass Spectrometry* (IRMS), *Ion Mobility Spectrometry-Mass Spectrometry*, MALDI-TOF SELDI-TOF, Tandem-MS, *Thermal Ionization Mass Spectrometry* (TIMS), *Spark Source Mass Spectrometry* (SSMS).

Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight (MALDI-TOF)

Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization (MALDI) pertama kali diperkenalkan pada tahun 1987, adalah teknik ionisasi yang lunak dalam *mass spectrometry* untuk menganalisis biomolekul (biopolimer seperti: protein, peptida dan glukosa) dan molekul organik yang besar (seperti polimer, dendrimer, dan makromolekul lain). Bahan tersebut cenderung mudah pecah dan berkeping-keping ketika diionisasi oleh metode ionisasi yang lebih konvensional.^{1,4} Sampel masuk ke dalam penganalisis masa (MALDI), terlebih dahulu dicampur dengan larutan matriks tertentu yang mengandung molekul berukuran kecil yang dapat menyerap sinar ultraviolet, dengan perbandingannya terhadap sampel antara 1000–10.000 : 1, biasanya sekitar 1000 : 1.^{1,5}

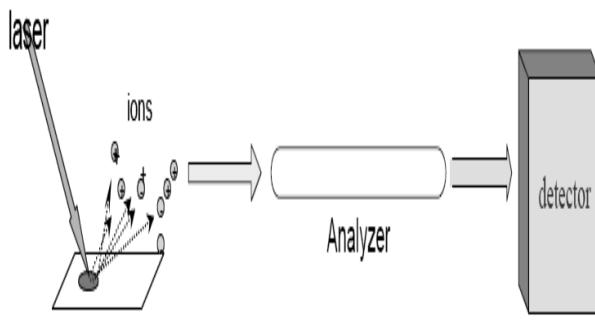
Matriks adalah molekul kecil asam organik tertentu yang dapat menyerap hampir semua tenaga yang dihasilkan oleh sinar laser baik ultraviolet maupun infra merah. Dan kemudian tenaga tersebut dialihkan secara perlahan-lahan ke molekul yang lebih besar yang ada dalam sampel.^{5,7} Matriks yang digunakan ada bermacam jenis yang disesuaikan dengan target persiapan sampel. Untuk masa molekuler yang rendah (antara 1–10 kDa) digunakan *Cyano-4-Hydroxycinnamic Acid* (CHCA) dan untuk antara 10–100 kDa digunakan *sinapinic acid* (SA) atau *2,5-dihydroxyacetophenone* (2,5-DHAP), sedangkan

2,5-dihydroxybenzoic acid (DHB) digunakan untuk menganalisis senyawa dengan berat molekul yang rendah, yaitu protein yang bersifat hidrofobik, glikoprotein, dan fosfopeptida. Gabungan dari berbagai matriks ternyata memberikan hasil yang baik.^{8,9} Pelarut matriks bersifat mudah menguap, ketika terjadi evaporasi, senyawa matriks, kemudian akan mengkristal dan bergabung dengan molekul analit.^{1,7} Pada saat sinar laser ditembakkan ke kokristal, matriks-analit tersebut dalam kedap udara tertentu dan akan menyerap foton dan diablasikan. Dengan demikian analit mengalami pemindahan dari bentuk kristal yang padat ke bentuk gas yang mudah menguap dan secara bersamaan menjadi bermuatan positif karena ada alih proton dari matriks tersebut.^{4,7} Lebih lanjut molekul yang telah bermuatan itu masuk

Matrix assisted laser desorption ionization kadang disebut sebagai “*energy sudden methods*” karena hal tersebut untuk pemindahan/ionisasi yang dialihkan ke kawasan target yang relatif kecil dan berlangsung dalam rentang waktu yang sangat singkat, contohnya: lama waktu laser jenis ultraviolet hanya berlangsung dalam waktu 3 ns.⁷ *Time of Flight* (TOF) adalah pengukuran partikel berupa angka banding masa terhadap muatan (*mass to charge ratio = m/z*). Ion tertentu yang diketahui muatan listriknya dan masa yang tidak diketahui memasuki *mass spectrometer* dan dipercepat dengan medan listrik. Percepatan ini menghasilkan ion yang memiliki tenaga kinetik sama dengan ion lain yang diberikan, sehingga semuanya memiliki muatan yang sama. Kecepatan ion bergantung angka banding *m/z*. Pada dasarnya MALDI berkaitan dengan teknik ionisasi sampel dalam sumber ion, sedangkan TOF membahas tentang teknik yang membedakan ion dalam penganalisis.⁴

Penganalisis masa

Penganalisis masa MALDI-TOF terdapat dua jenis:⁴ *linear*, di jenis ini, penganalisis MALDI-TOF bekerja secara sederhana, hanya mengukur waktu yang diperlukan oleh ion tertentu bergerak dari satu ujung

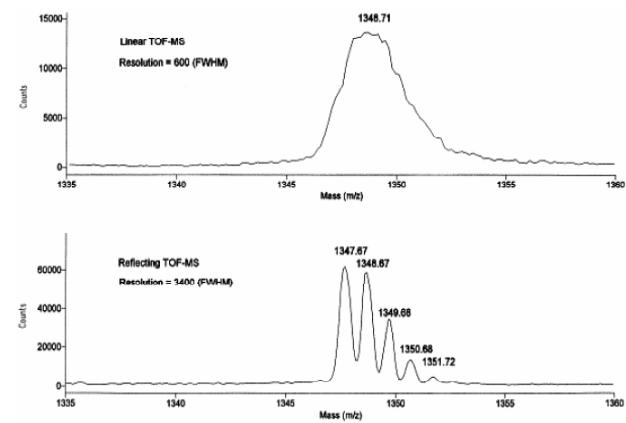


Gambar 2. Bagan MALDI-TOF *mass spectrometer* jenis *linear* dan *reflectron*.⁴

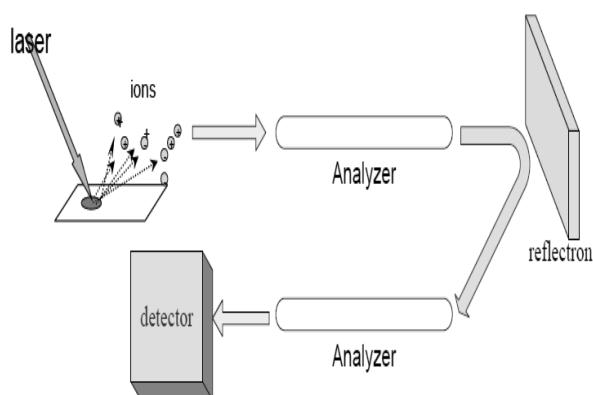
ke ujung yang lain. Jenis *refletron*, cara bekerjanya hampir sama dengan jenis *linear* yaitu mengukur waktu yang diperlukan ketika ion tertentu tersebut membentur *reflectron*, maka akan dipantulkan dan bergerak ke arah detektor. *Reflectron*, akan memfokuskan ion yang memiliki nilai *m/z* yang sama, dan membuatnya mencapai detektor dalam waktu yang sama yang hasil mendeksnnya akan lebih cermat (lihat Gambar 2).⁴

Penyelesaian yang dihasilkan dari kedua jenis penganalisis tersebut berbeda. Di jenis *linear* diperoleh penyelesaian yang rendah, sebaliknya jenis *reflectron* akan diperoleh penyelesaian yang tinggi.⁴ Kedua spektrum masa tersebut dihasilkan dari sampel yang sama. Di jenis *reflectron* dapat dilihat empat (4) spektrum masa dengan puncak yang jelas, sementara di jenis *linear* empat puncak tersebut bergabung menjadi satu, sehingga sulit untuk dibedakan (lihat Gambar 3).

Surface Enhanced Laser Desorption Ionization-Time of Flight (SELDI-TOF) adalah modifikasi tatalangkah yang digunakan di MALDI-TOF.^{1,5,6} Pertama kali diperkenalkan oleh Hutchens dan Yip pada tahun



Gambar 3. Perbedaan spektrum masa antara jenis *linear* dan *reflectron*.⁴

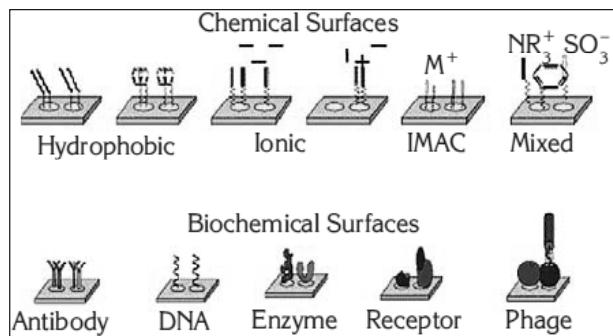


1993.¹⁰ SELDI-TOF merupakan pendekatan baru dalam penemuan petanda biologis yang menggabungkan teknik kromatografi dan *mass spectrometry*. Satu kelebihan dari SELDI-TOF adalah kemampuannya untuk mengekspresikan profil protein dengan cepat dari bermacam sampel biologis dan klinis.^{11,12} Di SELDI-TOF-MS digunakan *protein chip arrays*, yang telah dikenal dan digunakan selama ini dari *Ciphergen Biosystems Inc.*² Permukaan kromatograf yang terdiri dari susunan *chip* protein merupakan rancangan tertentu yang unik untuk meletakkan protein dari sampel yang berupa campuran kompleks berdasarkan sifat yang dimilikinya seperti hidrofobisitas, muatan dan lain sebagainya (lihat Gambar 4).^{11,12}

Kromatografi *protein chip array* kimiawi terdiri atas: hidrofobik, hidrofilik, kationik, anionik dan *Metal Ions for Immobilized Metal Affinity Binding (IMAC)* spot. *Surface protein chip array* yang bersifat biokimiawi dirancang untuk *coupling* biomolekul dalam pemeriksaan: antigen-antibodi, percobaan pengikatan *binding DNA-protein*, *coupling* enzim dan dari zat fag, interaksi reseptor ligan.^{11,12} Tatalangkah yang dilakukan untuk mendeteksi petanda biologis protein sangat sederhana. Beberapa mikroliter sampel diletakkan di atas *protein chip surface* yang telah ditentukan kondisi khasnya. Kekhasan protein diperoleh melalui penerapan seri pencucian dengan pelarut atau bufer yang sesuai untuk memisahkan protein yang tidak terikat dan substansi yang dapat mempengaruhi, seperti: garam, deterjen dan lipid.

Hanya protein yang secara aktif berinteraksi dengan *spot surface* yang dianalisis dalam peralatan seri *Protein Biosistem* karena semua komponen lainnya telah dicuci. Salah satu keuntungan yang sangat jelas dari *surface enhanced* ini adalah bahwa komponen seperti: garam, deterjen, lipid, yang sering menimbulkan masalah dengan alat analitik harus dihilangkan.^{11,12}

Setelah penambahan sampel dan *washing buffer*, lebih lanjut ditambahkan *Energy Absorbing Matrix (EAM)* ke dalam *spot protein chip array*, seperti di MALDI. *Energy absorbing matrix* ini akan memudahkan

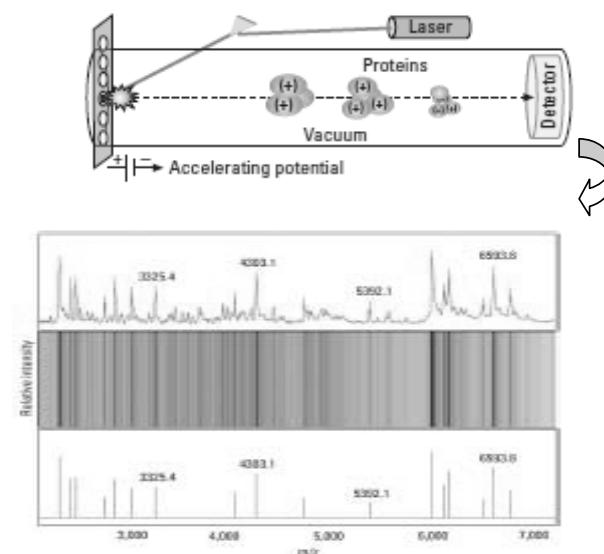


Gambar 4. Jenis *protein chip arrays*.¹⁰

desorpsi dan ionisasi. Sinar laser kemudian diarahkan ke atas sampel di *spot*. Selama aktivasi laser, sampel mengalami iradiasi, desorpsi dan ionisasi untuk melepaskan ion dalam bentuk gas dari *protein chip array*. Lebih lanjut ion yang berbentuk gas tersebut masuk ke dalam TOF-MS yang akan mengukur angka banding m/z molekul ion dari setiap protein berdasarkan kecepatannya melalui ruang kedap udara. *Time of flight* berhubungan secara terbalik dengan nilai m/z . Hasil yang muncul digambarkan dalam bentuk grafik seperti yang terlihat di Gambar 5, m/z digambarkan dalam sumbu x dan intensitas di sumbu y.¹¹⁻¹⁴

Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) memiliki kelebihan antara lain: penerapan dan perolehan sampel yang sederhana, daya penggeraan yang berlebihan (lebih dari 1536 sampel setiap *plate*) dapat dianalisis ulang, waktu yang singkat, toleran terhadap cemaran seperti: garam, deterjen dan bufer serta dapat menjangkau modifikasi pasca translasional. Sedangkan kekurangan dari alat ini adalah banyak variabel persiapan sampel untuk analit yang berbeda-beda, ada tekanan isyarat, terdapat perbedaan puncak di sampel yang sama, bias terhadap protein yang terdapat dalam jumlah besar. Dengan demikian kondisi tersebut memerlukan pembagian, rentang masa yang terbatas, yaitu tidak dapat mengukur protein dengan berat molekul lebih dari 100 kDa dan ada daya untuk melampaui kecocokan data.^{9,15,16}

Surface Enhance Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (SELDI-TOF MS) memiliki keuntungan antara lain: kemampuan melakukan pemeriksaan dalam jumlah besar, otomatis, volume sampel yang diperlukan sedikit, memberikan



Gambar 5. Bagan SELDI-TOF MS dan luarannya dari atas ke bawah: spectra, gel, map views.¹²

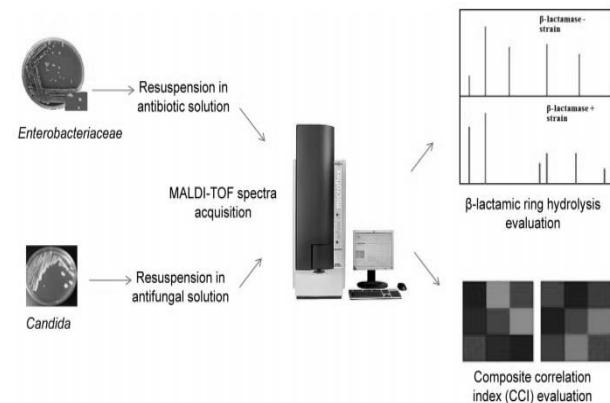
penyelesaian yang lebih tinggi di rentang masa yang rendah, mudah digunakan dan dapat menganalisis peptida atau polipeptida yang berukuran lebih kecil dari 20 kDa. Besar jumlah pemeriksaan sampai ratusan (lebih dari 96 sampel setiap bioprosesor hanya memerlukan waktu yang singkat, sehingga memungkinkan untuk membandingkan keragaman dari pasien ke pasien. Ditambahkan pula sehubungan ada *chromatographic protein chip surface* baik kimiawi ataupun biokimiawi memungkinkan untuk memurnikan dan mendeteksi subset protein dari cairan tubuh yang banyak mengandung bermacam protein. Penjangkauan terhadap modifikasi pasca translasional dan tidak memerlukan alat untuk bioinformatik yang canggih.^{9-12,15}

Kekurangan dari SELDI-TOF adalah penjelasan yang penting menghilang, tidak dapat digunakan untuk protein dengan berat molekul lebih dari 100 kDa. Di samping itu deteksi protein terikat terbatas, terdapat permasalahan pra dan pasca analitik, penyelesaian dan kecermatan masa lebih rendah dibandingkan dengan MALDI-TOF dan kinerja dapat berubah pada saat kelimpauan waktu.^{9-12,15}

Umumnya MALDI-TOF ini diterapkan untuk:¹ Untuk mendeteksi senyawa yang khusus seperti fosfatidilkolin, yaitu molekul berukuran kecil yang hasil mencerna serta perkembangan dari reaksi enzimatiknya; Untuk identifikasi protein tertentu. *Matrix assisted laser desorption ionization-time of flight* (MALDI-TOF) juga digunakan untuk menentukan identitas protein melalui *Peptide Mass Fingerprinting* (PMF). Teknik ini telah digunakan untuk mengidentifikasi sejumlah besar 2-D gel spot bakteri penyebab penyakit *Pseudomonas aeruginosa*. Tatalangkah ini biasanya berupa *gel tryptic digestion* yang diikuti oleh pengukuran masa dari peptidanya. Hasil mengukur kemudian dibandingkan dengan pangkalan data; Untuk identifikasi organisme tertentu, contohnya untuk mengidentifikasi bakteri melalui *protein finger printing*, yaitu bakteri mengekspresikan protein yang unik dengan masa 2 – 20 kDa. MALDI TOF MS juga dapat mendeteksi antimikrobal resisten, antara lain ada galur *carpenemase* di *beta lactamase* yang positif (lihat Gambar 6).¹⁷

MALDI-TOF maupun SELDI-TOF pada saat ini lebih banyak diterapkan untuk penemuan petanda biologis penyakit. Istilah “PROTEOM” (*the PROTein complement of genOME*) muncul pertama kali diperkenalkan oleh Marc Wilkins pada tahun 1995,¹⁸ peralatan tersebut digunakan untuk menganalisis proteom dalam rangka penemuan petanda biologis penyakit. Proteom berkaitan dengan kajian sistematis, yang kemudian disandikan dan diekspresikan oleh genom.

Keberadaan pilihan *splicing* dari pre-mRNA untuk membentuk ekson, digabungkan dengan modifikasi

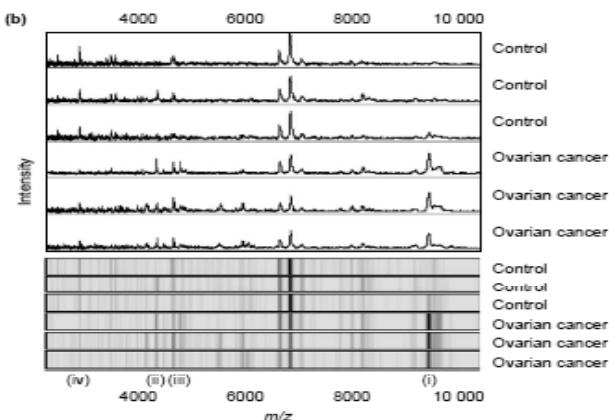


Gambar 6. Penerapan MALDI-TOF MS dalam deteksi resistensi *microbial* terhadap antibiotik.¹⁷

protein pasca *translational*, peredaran protein dan lokalisasi subselular. Seperti halnya interaksi protein dengan efektor sekunder, satu gen menyandi populasi protein tertentu, tidak hanya satu seperti yang telah diyakini sebelumnya, bahwa satu genotif adalah untuk satu fenotif. Proteom bersifat sangat dinamik, karena seluruh komplemen yang diekspresikan protein dalam berbagai bentuk dapat dengan cepat berubah sebagai respons terhadap rangsangan lingkungan. Hal tersebut sangat berbeda dengan genom yang lebih bersifat stabil, sehingga proteom diyakini sangat berguna untuk menganalisis perkembangan penyakit dan respons pengobatan, yang dapat menjembatani jurang pemisah antara sekuens genom dan perilaku selular.⁹

Pasien kanker mengalami banyak perubahan dalam pola spektrum protein dalam darah. Perubahan terjadi di puncak spektrum yang berasal dengan molekul yang dilepaskan dari tumor dan yang dihasilkan sebagai respons lokal dan jauh terhadapnya.

Hal yang sama, molekul pengatur akan dilepaskan dari tumor dan akan memindahkan hasil protein oleh jaringan yang letaknya jauh seperti *acute phase reactant* yang dihasilkan oleh hati. Sistem imun juga akan menghasilkan reaksi terhadap hasilan tumor dengan dilepaskannya isi seluler ke dalam peredaran darah. Perubahan molekuler lain dapat dipindahkan oleh tumor seperti terdapatnya molekul khas yang diekskresi atau dimetabolisme oleh ginjal atau sistem bilier-kolorektal. Keberadaan enzim proteolitik yang khas dihasilkan oleh sel di sekitar tumor, juga akan mempengaruhi pola protein dalam serum dan cairan tubuh lainnya. Di samping itu, keberadaan protein karier yang mengikat molekul yang lebih kecil akan mempengaruhi analisis. Semua kekuatan perubahan molekuler ini dalam spektrum serum protein akan membentuk pola spektrum yang khas akan keberadaan penyakit tertentu misalnya tumor jenis tertentu (lihat Gambar 7).¹⁹



Gambar 7. Protein profiling antara pasien sehat dan karsinoma ovarium.¹⁴

SIMPULAN DAN SARAN

Bidang proteomik telah membuat kemajuan yang sangat pesat. Dalam sepuluh tahun terakhir ini, analisis proteomik dengan teknologi berlandaskan *mass spectrometry* seperti MALDI dan SELDI-TOF sangat berhasil-guna dalam memberikan penjelasan dari sampel yang kompleks dan menafsirkan pola spektrum yang muncul dengan kemasan analisis perangkat lunak. MALDI-TOF dan SELDI-TOF MS yang bekerja terutama di protein plasma dan peptida dengan berat molekul kecil, yang bernilai diagnostik yang besar dalam fisiologis dan patologis sistemik. MALDI-TOF dan SELDI-TOF MS adalah penunjuk yang sangat penting dalam sistemik seperti aterosklerosis, gangguan gizi, strok, cedera organ tubuh utama, gangguan hemostatik, respons tahap akut, infeksi dan gangguan kerja ginjal.

Walaupun tampaknya masih jauh untuk dapat menjangkau teknologi baru seperti yang telah sedikit diuraikan di atas, perkembangan hendaknya selalu diikuti. Hal-hal yang berkaitan dengan proteom, peptidom dan peralatan diagnostik yang berlandaskan *mass spectrometry* lainnya perlu dipahami lebih mendalam lagi dalam upaya penemuan petanda biologis untuk mendiagnosis dini penyakit tertentu termasuk pemantauan pengobatannya, sehingga akan dapat menurunkan angka kesakitan dan kematiannya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Annesley T, Rockwood AL, Sherman NE. Mass Spectrometry. In: CA. Burtis, ER. Ashwood, DE. Bruns, eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. Fourth Ed., USA, Elsevier Saunders, 2006; 165-190.
2. Drees JC, Wu AHB. Analytical Techniques. In: ML. Bishop, EP. Fody, LE. Schoeff, eds. Clinical Chemistry techniques, principles, correlations. Sixth Ed., USA, Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2010; 154-162.
3. Huck CW, Rainer M, Bakry R, Bonn GK. Genomics-Metabolomics-Proteomics Perspectives for The Future. In: Gunther K. Bonn, ed. On Genomics, Metabolomics, Proteomics: Perspectives for The Futures. Yogyakarta, Universitas Gadjah Mada, 2010; 5-15.
4. Lu C. Introduction to Mass Spectrometer. <http://www.bioacademy.gr/bioinformatic/courses/Helsinki%207-11May07-projets/Introduction520t0%20Mass%20Spectrometry.pdf> (Accessed on: 28.02.2011).
5. Tuma RS. MALDI-TOF Mass Spectrometry: Getting a Feel for How It Works. Oncol Times, 2003; 25(19): 26.
6. Anonim. Proteomics/Protein Identification-Mass Spectrometry/ Types Mass Spectrometry. <http://en.wikipedia.org/wiki> (Accessed on: Desember 28, 2015)
7. Leopold PE, Palmer-Toy DE. Mass Spectrometry. In: K.Lewandrowski, ed. Clinical Chemistry Laboratory Management and Clinical Correlations. Philadelphia USA, Lippincott Williams & Wilkins, 2002; 403-412.
8. Elssner T, Kostrzewa M. CLINPROT-a MALDI-TOF MS based system for biomarker discovery and analysis. Clin Proteomics, 2006; 8:167.
9. Ahmed FE. Application of MALDI/SELDI Mass Spectrometry to Cancer Biomarker Discovery and Validation. Curr Proteomics, 2008; 5: 224-252.
10. Hutchens TW and Yip TT. New desorption strategies for the mass spectrometric analysis of macromolecules. Rapid Commun Mass Spectrom, 1993; 7: 576-580.
11. Bons JAP, Wodzig WKWH, de Boer D, Drent M, van Diejen-Visser MP. Application of SELDI-TOF-MS in Protein Profiling: Promises and Pitfalls. Jugoslov Med Biohem, 2006; 25: 201-210.
12. Visser VD, Bons JAP, de Boer D, Wodzig WKWH. Application of SELDI-TOF-MS in Protein Profiling: State of The Art. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk, 2007; 32: 88-93.
13. Issaq HJ, Conrads TP, Prieto, DaRue A, Tirumalai R, Veenstra TD. SELDI-TOF MS for Diagnostics Proteomics. Anal Chem. 2003; 149-155.
14. Vorderwulbecke S, Cleverley S, Weinberger SR, Wiesner A. Protein Quantification by The SELDI-TOF-MS-Based ProteinChip®System. Nature Methods, 2005; 2(5): 393-395.
15. Engwegen JYMN, Gast Marie-Christine W, Schellens JHM, Beijnen JH. Clinical Proteomics: Searching for Better Tumour Markers with SELDI-TOF Mass Spectrometry. Trends in Pharm Sci, 2006; 27(5): 251-257.
16. Pusch W, Kostrzewa M. Application of MALDI-TOF Mass Spectrometry in Screening and Diagnostic Research. Curr Pharm Design, 2005; 11: 2577-2591.
17. Carolis ED, Vella A, Vaccaro L, Torelli R, Spanu T, Barbara Fiori B and *et al.* Application of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology. J Infect Dev Ctries, 2014; 8(9):1081-1088.
18. Wilkins MR, Sanchez JC, Gooley AA, Appel RD, Humphrey-Smith I, Hochstrasser DF, Williams KL. Progress with Proteome Projects: Why All Proteins Expressed by a Genome Should be Identified and How to Do It. Biotech. Gen. Eng. Rev. 1995; 13: 19-50.
19. Grizzle WE, Semmes OJ, Bigbee W, Zhu L, Malik G, Oelschlager DK, Manne B, Manne U. The Need for Review and Understanding of SELDI/MALDI Mass Spectroscopy Data Prior to Analysis. Cancer Informatics, 2005; 86-95.