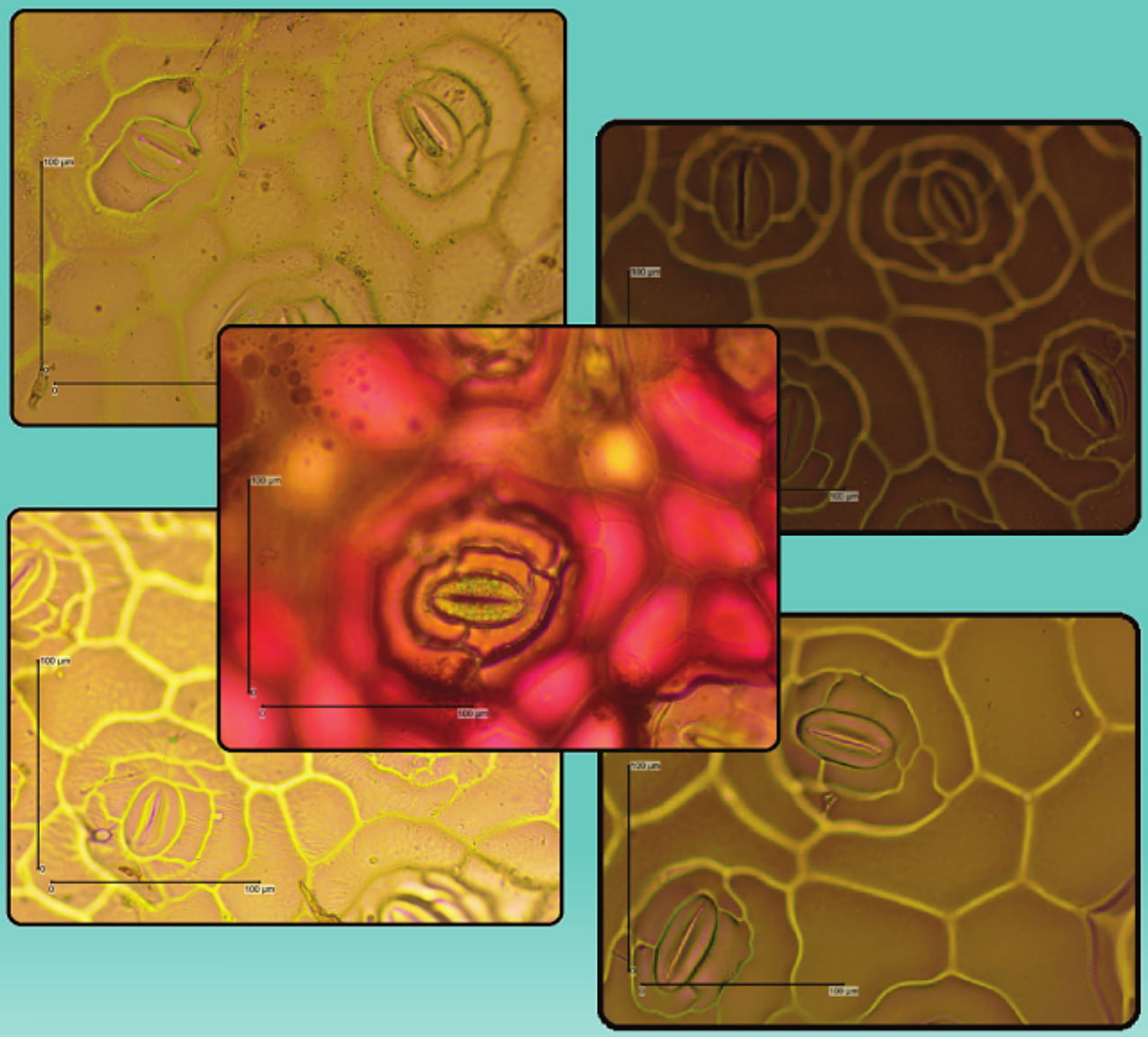
P-ISSN 0126-1754
E-ISSN 2337-8751
Terakreditasi Peringkat 2
21/E/KPT/2018
Volume 18 Nomor 2, Agustus 2019

Berita Biologi

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati



Berita Biologi	Vol. 18	No. 2	Hlm. 125 - 253	Bogor, Agustus 2019	ISSN 0126-1754

Pusat Penelitian Biologi - LIPI

BERITA BIOLOGI

Vol. 18 No. 2 Agustus 2019
Terakreditasi Berdasarkan Keputusan Direktur Jendral Penguatan Riset dan Pengembangan, Kemenristekdikti RI
No. 21/E/KPT/2018

Tim Redaksi (*Editorial Team*)
Andria Agusta (Pemimpin Redaksi, *Editor in Chief*)
(Kimia Bahan Alam, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Kusumadewi Sri Yulita (Redaksi Pelaksana, *Managing Editor*)
(Sistematika Molekuler Tumbuhan, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Gono Semiadi
(Mammalogi, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Atit Kanti
(Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Siti Sundari
(Ekologi Lingkungan, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Arif Nurkanto
(Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Kartika Dewi
(Taksonomi Nematoda, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Dwi Setyo Rini
(Biologi Molekuler Tumbuhan, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Desain dan Layout (*Design and Layout*)
Liana Astuti

Kesekretariatan (*Secretary*)
Nira Ariasari, Budiarjo

Alamat (*Address*)
Pusat Penelitian Biologi-LIPI
Kompleks Cibinong Science Center (CSC-LIPI)
Jalan Raya Jakarta-Bogor KM 46,
Cibinong 16911, Bogor-Indonesia
Telepon (021) 8765066 - 8765067
Faksimili (021) 8765059
Email: berita.biologi@mail.lipi.go.id
jurnalberitabiologi@yahoo.co.id
jurnalberitabiologi@gmail.com

Keterangan foto cover depan: Stomata *Begonia* pada seksi Platycentrum dan Bracteibegonia
(*Notes of cover picture*): (*Stomata of Begonia sect. Platycentrum and Bracteibegonia)*
sesuai dengan halaman 181 (*as in page 181*).

P-ISSN 0126-1754
E-ISSN 2337-8751
Terakreditasi Peringkat 2
21/E/KPT/2018
Volume 18 Nomor 2, Agustus 2019

Berita Biologi

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati

Berita Biologi	Vol. 18	No. 2	Hlm. 125 – 253	Bogor, Agustus 2019	ISSN 0126-1754

Pusat Penelitian Biologi - LIPI

Ucapan terima kasih kepada
Mitra Bebestari nomor ini
18(2) – Agustus 2019

Dr. Renny Kurnia Hadiaty, Sc,D.
(Taksonomi Ikan, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Prof. Dr. Tukirin Partomihardjo
(Ekologi Hutan dan Biogeografi Pulau, Ketua Forum Pohon Langka Indonesia)

Prof. Dr. Ir Subyakto M.Sc.
(Biokomposit, Pusat Penelitian Biomaterial - LIPI

Prof. Dr. Andria Agusta
(Kimia Bahan Alam, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Dra. Djamhuriyah S. Said M.Si.
(Limnologi, Pusat Penelitian Limnologi - LIPI)

Dr. Ir. Daisy Wowor M.Sc.
(Krustasea/Karsinologi, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Dr.Wawan Sujarwo
(Etnobotani, Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya 'Eka Karya Bali' - LIPI)

Dr. Eng Desriani, M.Si.
(Bioteknologi Kesehatan, Pusat Penelitian Bioteknologi - LIPI)

Dr. Apon Zaenal Mustopa, M.Sc.
(Mikrobiologi dan Biologi Molekuler, Pusat Penelitian Bioteknologi - LIPI)

Dr. Himmah Rustiami, M.Sc.
(Taksonomi Tumbuhan, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Deden Girmansyah, M.Si.
(Taksonomi Tumbuhan (Begoniaceae), Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Dr. Yuyu Suryasari M.Sc.
(Pemuliaan dan Genetika Tumbuhan), Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Dr. Yuzammi
(Taksonomi Araceae dan Biologi Reproduksi Araceae, PKT Kebun Raya Bogor - LIPI)

Fahmi S.Pi., M.Phil.
(Iktiologi (Elasmobranchii), Pusat Penelitian Oseanografi - LIPI)

Dr. Ir. Djumanto, M.Sc.
(Manajemen sumberdaya perikanan, Departemen Perikanan, Fakultas Pertanian - UGM)

Dr.Ir. Rudhy gustiano, M.Sc.
(Pemuliaan dan Genetika, Prof. Dr. Ir. Rudhy Gustiano, M.Sc.

Dr. Heddy Julistiono
(Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Wara Asfiya M.Sc.
(Serangga/Entomologi, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Dr. Nurainas
(Taksonomi Tumbuhan, Biologi, FMIPA - Universitas Andalas)

Berita Biologi
Jurnal Ilmu-ilmu Hayati

DOI: 10.14203/beritabiologi.v18i2.3705
P-ISSN 0126-1754
E-ISSN 2337-8751

PERKEMBANGAN SEL MAMALIA *CHINESE HAMSTER OVARY* (CHO) DALAM PRODUKSI OBAT BERBASIS PROTEIN

[Development of Mammalian Cell *Chinese Hamster* Ovary (CHO) in the Production of Protein Based Drugs]

Adi Santoso

Pusat penelitian Bioteknologi LIPI. Jl. Raya Bogor Km. 46 Cibinong Science Center, 16911
email: adi.santoso@lipi.go.id

ABSTRACT

Chinese hamsters ovary (CHO) and its derivative such as CHO-DXB11 cells, CHO-K1, CHO-DG44 and CHO-S are mammalian cells that are often used for production of therapeutic protein drugs. The CHO cells often used for protein production have several advantages including 1) host cells that are safe to use in drug production, 2) the level of production of proteins produced can be increased by amplifying genes using methotrexate (MTX), 3) having the capacity to make post-translation modificationsand 4) CHO cells can be adapted to grow in suspension. The high need for protein-based drugs triggers the development of basic knowledge and innovation in production of recombinant proteins. The impressive technological advances in CHO cell technology have made these cells can be used to produce proteins around 10 g/liter in order to meet the market demand. The first protein successfully produced using CHO mammalian cells was the therapeutic Tissue Plasminogen Activator (r-tPA, Activase) protein used for stroke patients. The presence of this drug is quickly followed by several other types of drugs. In this review, history of development of CHO cells, the contribution of CHO cells to basic research, progress of effective line cell screening and development technology are discussed.

Key words: *Chinese hamster ovary,* CHO, therapeutic protein, mammalian cell

ABSTRAK

Sel hamster china (*Chinese hamster ovary*, CHO) dengan beberapa sel turunannya seperti sel CHO-DXB11, CHO-K1, CHO-DG44 dan CHO-S adalah sel mamalia yang sangat sering digunakan untuk produksi obat protein terapetik. Sel CHO sering digunakan untuk produksi protein mempunyai beberapa keunggulan antara lain 1) sel inang yang aman untuk digunakan dalam produksi obat, 2) tingkat produksi protein yang dihasilkan dapat ditingkatkan dengan melakukan amplifikasi gen dengan penambahan methotrexate (MTX) pada media, 3) mempunyai kapasitas untuk melakukan modifikasi paska translasi dan 4) sel CHO dapat diadaptasikan untuk tumbuh secara suspensi. Tingginya kebutuhan terhadap obat berbasis protein memicu perkembangan pengetahuan dasar dan inovasi dalam produksi protein rekombinan. Kemajuan teknologi yang sangat impresif pada teknologi kultur sel CHO telah membuat sel ini dapat digunakan untuk memproduksi protein sekitar 10 g/liter dalam rangka untuk memenuhi permintaan pasar obat berbasis protein. Protein pertama berhasil diproduksi dengan menggunakan sel mamalia CHO adalah protein terapetik *Tissue Plasminogen Activator* (r-tPA, Activase) yang digunakan untuk pasien penyakit stroke. Kehadiran obat ini dengan cepat diikuti oleh beberapa jenis obat lainnya. Pada review ini, sejarah tentang perkembangan sel CHO dan turunannya, kontribusi sel CHO terhadap penelitian dasar dibidang biomedis, kemajuan teknologi skrining dan pengembangan sel lestari yang efektif dibahas secara detil.

Kata kunci: *Chinese hamster ovary,* CHO, protein terapetik, sel mamalia.

PENDAHULUAN

Meningkatnya pasar obat berbasis protein tumbuh secara signifikan karena disebabkan oleh meningkatnya penyakit kronis, meningkatnya umur populasi dan meningkatnya teknologi produksi obat jenis ini (Kim *et al*., 2012, Zhu, 2013, Gupta dan Sukhla , 2016; Gupta dan Shukla, 2017). Secara global nilai penjualan obat berbasis protein pada tahun 2014 mencapai $162 milyar dan diharapkan pada tahun 2020 dapat mencapai sekitar $278 milyar dollar (Calo dan Marto, 2012; Walsh, 2014). Obat-obatan jenis ini banyak digunakan dalam berbagai jenis penyakit termasuk diantaranya adalah berbagai macam jenis penyakit kanker, anemia, rematik, berbagai macam penyakit yang berhubungan dengan darah dan kardiovaskular (Tabel 1).

Berbeda dengan obat berbasis molekul kecil yang diproduksi secara kimia, obat berbasis molekul besar (protein) diproduksi dalam sel hidup dengan menggunakan teknologi rekayasa genetika. Produksi suatu obat berbasis protein diawali dengan mendesain suatu DNA dimana DNA tersebut kemudian ditransfeksikan ke dalam suatu sel inang (*host cell*). Dengan menggunakan perlakukan tertentu sel inang akan menghasilkan protein yang diingankan yang ahirnya setelah melalui proses panjang akhirnya akan menghasilkan obat berbasis protein (Jayapal *et al*., 2007).

Agar suatu protein dapat berfungsi secara biologis dengan efektif maka protein yang bersangkutan harus mempunyai struktur yang tepat yaitu memiliki pola struktur tiga dimensi yang benar

*Diterima: 11 Desember 2018 - Diperbaiki: 16 April 2019 - Disetujui: 10 Mei 2019

Tabel 1. Beberapa jenis obat protein terapetik yang diproduksi pada sel CHO (Jayapal *et al*., 2007). [*Several kinds of therapeutic proteins produced in CHO cells* (Jayapal *et al*., 2007).]

Produk Obat (*Drug*)	Tipe (*Type*)	Kegunaan (*Use*)	Perusahaan (*Company*)
Avastin	Anti VEGF mAb	*Colon and Lung cancers* (Kanker Usus dan Paru)	Genentech
Aranesp	Erythropoietin	Anemia	Amgen
Herceptin	Anti-HER2 mAb	(*Breast cancer*) Kanker Payudara	Genentech
Enbrel	TNF receptor fusion	*Rematoid arthritis* (radang kronis pada sendi)	Amgen, Wyeth
Rituxan	Anti-CD20 mAb	*Non-Hodgkin Lymphoma* (kanker getah bening)	Genentech
Activase	Tissue plasminogen activator	*Acute myocardial infraction* (serangan jantung)	Genentech
Benefix	Factor IX	*Hemophilia* (Hemofilia)	Wyeth
Campath	Anti-CD52 mAb	*Leukemia*	Genzyme, Bayer
Rebif	Interferon Beta	*Multiple Schlerosis* (Sklerosis ganda)	Serono
Pulmozyme	Deoxyribonuclease 1	*Cystic fibrosis* (Sistik fibrosis)	Genentech

dan telah melalui proses modifikasi paska translasi yang tepat (Jayapal *et al*., 2007). Pada protein terapetik yang tergolong suatu glikoprotein maka proses modifikasi paska translasi yang dalam hal ini adalah proses glikosilasi harus berjalan dengan benar. Dalam proses glikosilasi yang terjadi dalam sel inang, beberapa unit karbohidrat yang sangat spesifik diintegrasikan pada protein yang dihasilkan (Walsh *et al*., 2005; Weerapana *et al*., 2006). Proses glikosilasi untuk keperluan obat manusia biasanya dilakukan dalam sel mamalia hal ini karena sel inang seperti bakteria tidak mampu untuk melakukan proses glikosilasi seperti pada sel mamalia (Jayapal *et al*., 2007). Beberapa sel seperti 3T3, CHO, BHK, HeLa dan HepG2 sering digunakan dalam riset rekombinan protein. Walaupun banyak jenis sel mamalia yang tersedia tetapi sekitar 70% protein rekombinan yang beredar sampai saat ini diproduksi dengan menggunakan sel CHO (Jayapal *et al*., 2007; Kim *et al*., 2012, Zhu, 2013; Xu *et al*., 2011). Sebagian besar obat bioteknologi yang diproduksi pada sel CHO menggunakan proses kultur *batch. sistem fed-batch* banyak digunakan untuk meningkatkan hasil produksi protein terapetik dalam kultur sel (Reinhart *et al*., 2018; Huang *et al*., 2010).

Protein pertama yang diproduksi dengan menggunakan sel mamalia CHO adalah protein terapetik *tissue plasminogen activator* (tPA, Activase) yang disetujui penggunaannya untuk pasien penyakit stroke oleh FDA pada tahun 1987 (Walsh, 2014; Lai *et al*., 2013). Hak patentnya obat ini dipegang oleh pabrik obat di Amerika Serikat, Genentech. Munculnya obat ini dengan cepat diikuti oleh beberapa jenis obat lain yang juga diproduksi dengan menggunakan sel inang CHO (Lai *et al*., 2013). Kemajuan teknologi yang semakin cepat serta meningkatnya pasar obat berbasis protein membuat kemajuan teknologi dan inovasi pada sel CHO juga semakin berkembang cepat.

Aplikasi *Chinese hamster* dalam sel kultur mamalia

Chinese hamster (*Cricetulus griseus*) pertama kali digunakan sebagai spesimen dalam laboratorium adalah pada tahun 1919 (Jayapal *et al*., 2007). Pada saat itu binatang ini sering digunakan untuk penelitian epidemiologi karena hewan ini dapat menularkan beberapa macam jenis penyakit (Schmidt *et al*., 1970). Sel mamalia CHO yang berasal dari sel ovary *chinese hamster* pertama kali

digunakan dalam suatu penelitian pada laboratorium Dr. Theodore T. Puck in 1956 (Puck, 1957; Puck, 1985) di departemen biokimia pada Universitas Colorado di Denver, Amerika Serikat. Dr. Puck berhasil mengisolasi dan menumbuhkan sel ovary yang berasal dari *chinese hamster* betina untuk tumbuh dengan cepat dan dapat ditumbuhkan secara *in vitro* pada cawan petri.

Pengembangan selanjutnya yang dapat disebut sebagai titik awal dari sel CHO adalah pengembangan sel CHO-DXB11 pada tahun 1980 (Florian, 2013). Tujuan dari dikembangkannya sel ini adalah untuk proses skrining dalam pengembangan *cell lines* (sel lestari) dan untuk meningkatkan amplifikasi gen. Pada sistim skrining ini hanya sel CHO-DXB11 yang memiliki gen DHFR (yang disisipkan melalui plasmid) yang dapat tumbuh. Dengan menggunakan sel CHO-DXB11 obat berbasis protein terapetik pertama berhasil diproduksi, yaitu obat tPA (*tissue plasminogen activator)* yang digunakan oleh pasien penyakit stroke (Lai *et al.*, 2013).

Setelah CHO-DXB11, turunan selanjutnya dari sel CHO adalah sel CHO-DG44. Perbedaan sel CHO DG44 dengan sel CHO-DXB11 adalah terletak pada kandungan DHFR pada sel yang bersangkutan. Apabila pada sel CHO-DXB11 kandungan DHFR masih tersisa walaupun sedikit, tetapi pada sel CHO DG44 tidak mengandung DHFR sama sekali. Pada sel ini kedua lokus gen DHFR pada kromosom nomer 2 telah dihilangkan (Florian, 2013). Telah dihapusnya gen DHFR membuat kloning pada sel ini menjadi lebih mudah. Sel ini telah banyak digunakan untuk memproduksi berbagai macam obat protein terapetik (Urlaub *et al.*, 1983; Urlaub *et al.*,1986; Jayapal *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2012, Zhu, 2013; Xu *et al.*, 2011).

Selain beberapa jenis sel CHO diatas, pada tahun 1964 diketahui bahwa turunan dari sel CHO dapat tumbuh secara suspensi, yaitu sel CHO-S. Klon sel CHO-S adalah klon yang diturunkan secara langsung dari sel CHO-K1 (Florian, 2013). Klon CHO-S diklon berdasarkan kemampuannya untuk dapat tumbuh secara suspensi dan efisiensi tansfeksi yang tinggi. Saat ini sel CHO-S banyak digunakan untuk mempoduksi berbagai macam jenis obat berbasis protein dalam skala besar.

Keuntungan penggunaan sel CHO dalam produksi protein

Lebih dari 20 tahun setelah disetujuinya penggunaan obat protein terapetik tPA untuk penderita stroke oleh badan perijinan obat Amerika Serikat, *Food and Drug Administration* (FDA), penggunaan sel CHO sebagai sel inang untuk produksi protein terapetik telah meningkat dengan sangat tajam. Beberapa alasan peningkatan penggunaan sel CHO antara lain adalah: 1) sel CHO aman dan mempunyai resiko yang rendah terhadap kemungkinan terkontaminasi oleh virus manusia (Boeger *et al.*, 2005), 2) walaupun produksi protein dalam sel CHO tergolong rendah (*low specific productivity*) tetapi hal ini dapat ditingkatkan dengan menggunakan sel seperti CHO-DG44 dimana proses amplifikasi gen dapat dilakukan dengan menggunakan MTX (methotrexate) sehingga produksi protein dapat ditingkat beberapa kali lipat (Lai *et al.*, 2013), 3) sel CHO mempunyai kapasitas yang tinggi untuk melakukan proses modifikasi paska translasi. Hal ini membuat protein yang diproduksi mempunyai struktur glikosilasi yang kompatibel dengan sistim dalam tubuh manusia dan akan aktif secara biologis sehingga mempunyai fungsi seperti yang diharapkan (Ghaderi *et al.*, 2012), dan 4) sel CHO yang pada awalnya selalu tumbuh secara *attachment* dan selalu membutuhkan serum dalam pertumbuhannya, tetapi dengan melakukan proses adaptasi, sel CHO dapat tumbuh secara suspensi dengan menggunakan media yang bebas dari serum (*serum free media*) (Kim *et al.*, 2012).

Secara umum peningkatan yang sangat signifikan terhadap sel CHO adalah karena kemajuan dalam pembentukan klon dengan produksi yang tinggi dan stabil. Karena alasan inilah maka sel CHO saat ini menjadi pilihan utama untuk produksi obat berbasis protein terapetik yang mempunyai tipe glikoprotein (Boeger *et al.*, 2005; Kim *et al.*, 2012; Wiberg *et al.*, 2006).

Kontribusi sel CHO dalam penelitian dasar di bidang biomedis

Sampai pada pertengahan abad ke 20, isolasi dan karakterisasi sel mutant mamalia untuk studi sitogenetik mengalami kesulitan sehingga riset dalam bidang ini sering menemui kegagalan. Hal ini karena

sel mamalia pada umumnya adalah diploid. Tidak seperti pada mikroba yang pada umumnya adalah haploid, hal ini membuat studi semacam ini pada mikroba menjadi lebih mudah. Tetapi dengan keberadaan sel CHO dimana pada beberapa gen nya mengalami *hemizygous* yang disebabkan oleh inaktivasi pada beberapa gennya, maka studi sitogenetik pada sel mamalia mulai berkembang (Chasin dan Urlaub., 1975). *Hemizygous* adalah suatu keadaan dimana organisme diploid hanya memiliki satu *copy* gen. Dengan keberadaan sel CHO banyak penelitian dasar dalam bidang biomedis telah dilakukan, misal dalam bidang biologi sel, toksikologi, biokimia dan genetik (Puck, 1985).

Salah satu studi dalam bidang sel biologi dengan menggunakan sel CHO yang banyak memberikan dampak pada bidang biomedis adalah studi yang menyangkut dengan mutagenesis dan sel yang bersifat auksotrop (*auxothrop*) (Puck dan Kao., 1967). Auksotrop adalah ketidakmampuan suatu organisme untuk mensintesis senyawa organik tertentu yang diperlukan untuk pertumbuhannya. Dengan diketahuinya suatu senyawa organik tertentu dapat mempengaruhi pertumbuhan suatu sel tertentu, maka sel yang bersifat auksotrop sangat banyak digunakan dalam dunia penelitian. Hal ini karena dengan mengatur penggunaan senyawa organik tertentu maka proses kloning atau skrining pada sel tertentu dapat dilakukan dengan presisi yang tinggi. Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, sel CHO yang mengalami mutasi pada gen DHFR sering digunakan dalam proses pengembangan sel CHO untuk memproduksi obat berbasis protein tertentu (Jayapal *et al.*, 2007).

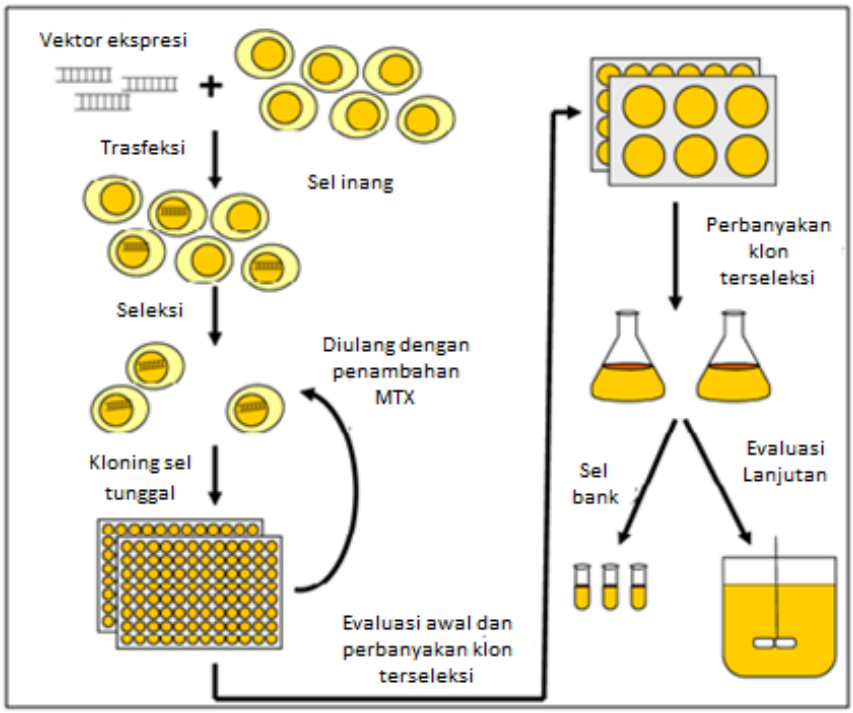
Studi mengenai kerusakan dan perbaikan molekul DNA adalah salah satu bidang dimana sel CHO banyak digunakan sebagai model. Suatu sel CHO mutant yang mengalami kesulitan dalam melakukan perbaikan DNA dapat diisolasi kemudian gen yang berhubungan dengan sifat-sifat ini dapat dipelajari dengan tingkat presisi yang tinggi (Batista *et al*., 2006). Beberapa studi dalam bidang biomedis dengan menggunakan sel CHO juga banyak dilakukan termasuk diantaranya adalah studi mengenai kafein (Fernandez *et al.*, 2003), pestisida (Soloneski *et al.*, 2002), terapi gen dan treatment penyembuhan beberapa jenis kanker (Cai *et al.*, 2001).

Strategi pengembangan sel line pada sel CHO-DG44

Pengembangan suatu *cell line* atau sel lestari untuk produksi obat protein terapetik adalah suatu pekerjaan yang kompleks, membutuhkan waktu yang lama dan memakan biaya yang cukup besar (Gambar 1). Setiap klon dapat memberikan reaksi yang berbeda sehingga upaya yang signifikan sangat dibutuhkan agar klon yang mempunyai karakter produksi yang tinggi dan sel yang stabil bisa didapatkan (Kim *et al.*, 2013; Lai *et al.*, 2013; Jayapal *et al.*, 2007). Sel CHO yang umum digunakan dalam pengembangan sel lestari untuk produksi obat berbasis protein saat ini adalah sel CHO dimana gen DHFR nya telah dieliminasi (*DHFR negative*). Hal ini dilakukan karena sel jenis ini mempunyai sistim skrining sel yang mudah untuk dilakukan (Kaufman dan Sharp., 1982; Kim *et al.*, 2013; Lai *et al.*, 2013; Jayapal *et al.*, 2007). Standard waktu yang dibutuhkan untuk pengembangan sel lestari dapat memakan waktu mencapai sekitar enam bulan untuk setiap kandidat obat. Waktu yang dibutuhkan ini kadang bisa lebih lama lagi bila harus memasuki tahap evaluasi untuk efikasi dan keamanan (Jayapal *et al.*, 2007).

Tahap pertama yang dilakukan pada proses pengembangan sel lestari adalah proses transfeksi dimana pada proses ini DNA yang mengkode protein yang diinginkan diintegrasikan kedalam nukleus sel inang yang dalam hal ini penulis mengambil contoh sel CHO-DG44. Terdapat beberapa cara yang bisa dilakukan pada proses transfeksi, antara lain dengan cara presipitasi dengan kalsium fosfat, elektroporasi, lipofectin atau bahkan juga dapat menggunakan retrovirus (Japayapal *et al.*, 2007). Lokasi dimana gen yang akan diintroduksikan (*gene of our interest*, GOI) akan terintegrasi pada genom sel inang terjadi secara acak (Wurm, 2004; Davies 2013; Wurtele *et al*., 2003). Beberapa strategi telah dilakukan (Lai *et al*., 2013) agar posisi GOI yang dintroduksikan dapat menempati posisi yang tepat sehingga dapat meninginduksi proses transkripsi dengan kuat yang pada akhirnya dapat meningkatkan produksi protein yang didapat.

Setelah proses transfeksi, langkah selanjutnya yang dilakukan adalah skrining (*selection*) awal untuk mendapatkan klon sel yang akan digunakan



Gambar 1. Tahapan dalam pengembangan sel lestari untuk produksi obat terapetik protein (Lai *et al.*, 2013). [*Steps involved in cell line development for production of therapeutic protein* (Lai *et al.*, 2013)].

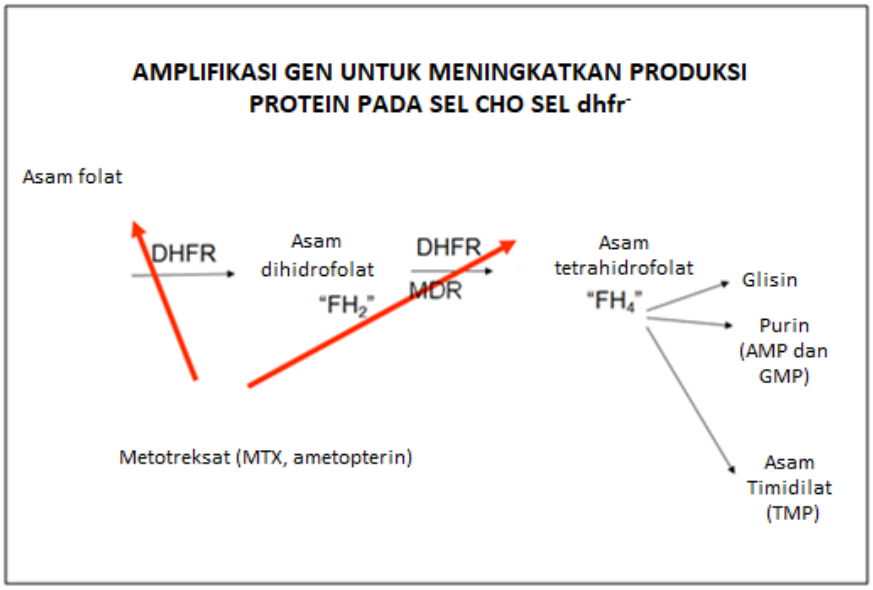
dalam proses amplifikasi gen (*gene amplification*) dengan menggunakan DHFR dengan cara menambahkan MTX pada media yang digunakan. Seperti telah dijelaskan sebelumnya, untuk mendapatkan hasil yang maksimal pada tahap ini, peningkatan amplifikasi gen yang masimal dapat dilakukan secara bertahap dengan konsentrasi MTX yang telah dketahui sebelumnya. Penambahan MTX pada media secara drastis akan meningkatkan proses seleksi sel. Pada tahap ini mayoritas sel yang tidak berhasil dalam mengintegrasikan GOI akan mati dan sebaliknya sel yang berhasil dalam mengintegrasikan GOI pada sel genom akan tetap tumbuh karena keberadaan gen DHFR pada plasmid yang digunakan. Pada tahap ini jumlah gen (*gene copy number*) GOI yang terintegrasi pada genom sel yang hidup meningkat dengan cepat (Lai *et al.*, 2013; Kaufman dan Sharp., 1982; Kim *et al.*, 2013; Jayapal *et al.*, 2007).

Skrining kedua (Gambar 1) selanjutnya dilakukan terhadap sel yang didapat dari hasil amplifikasi gen dengan MTX. Karena sel yang didapat pada proses amplifikasi gen ini sangat bervariasi maka proses skrining yang dilakukan selanjutnya (skrining kedua) adalah skrining terhadap setiap individu sel (*Single cell cloning or limiting dilution cloning*) (Gambar 1). Diharapkan, pada tahap ini, sel CHO-DG44 yang memiliki sifat yang diinginkan bisa didapat. Skrining terhadap setiap *individual cell* tergolong rumit, dapat memakan waktu yang lama dengan biaya yang mahal (Jayapal *et al.*, 2007; Lai *et al.*, 2013; Kim *et al.*, 2013). Sel yang didapat pada skrining tahap dua ini kemudian ditumbuhkan beberapa kali untuk mengevaluasi pertumbuhan dan viabilitasnya (*clone evaluation and expansion of selected clones*). Beberapa evaluasi pada skala yang lebih besar pada beberapa kondisi tertentu juga dilakukan. Sel yang berhasil melewati beberapa evaluasi lanjutan ini ahirnya akan akan dilakukan untuk menghasilkan protein dalam uji klinis dan non klinis (Jayapal *et al.*, 2007; Lai *et al.*, 2013; Kim *et al.*, 2013).

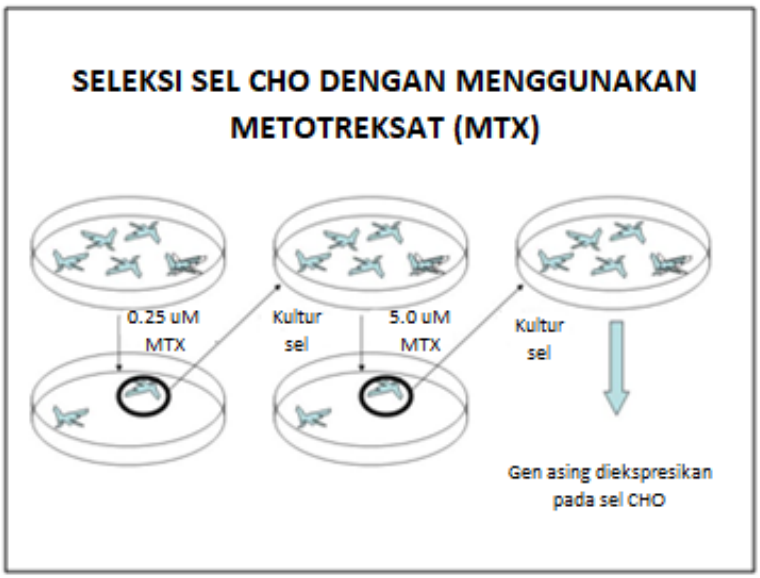
Amplifikasi gen dengan menggunakan DHFR

Salah satu tahapan yang sangat penting dalam produksi obat berbasis protein adalah tahap pegembangan sel lestari (*cell line development*) (Sommeregger, 2013; Lai *et al.*, 2013; Kim *et al.*, 2012). Dalam tahap ini untuk mendapatkan sel yang potensial untuk uji biologis dan beberapa uji awal lainnya membutuhkan ketelitian yang sangat tinggi. Untuk mempermudah proses ini maka proses skrining sel yang tepat dan cepat untuk dilakukan sangat penting. Keberadaan sistim skrining dengan mengunakan sel DHFR negatif pada sel lestari CHO-DXB11 dan CHO-DG44 membuat kedua sel ini sangat popular digunakan dalam produksi obat berbasis protein. Dalam sistim skrining ini prinsipnya adalah untuk meningkatkan produksi protein maka GOI yang terintegrasi juga harus ditingkatkan (Kaufman *et al.*, 1981; Kaufman *et al.*, 1985; Weidle *et al.*, 1988; Biedler dan Spengler *et al.*, 1976; *Urlaub dan Chasin., 1980).* Asam folat sangat penting fungsinya dalam tubuh, antara lain untuk biosintesis asam dihidrofolat, tetrahidrofolat, beberapa reaksi yang terlibat dalam biosintesis AMP, GMP dan TMP, oleh karena itu secara umum asam folat terlibat dalam pembelahan sel dan beberapa fungsi yang lain (Chen *et al.*, 1984; Bailey dan Ayling *et al.*, 2009). Penambahan MTX yang mempunyai struktur hampir sama dengan asam folat (Gambar 2) akan menghambat enzim DHFR. Terhambatnya enzim DHFR secara umum akan direspon oleh sel dengan cara meningkatkan jumlah gen DHFR. Karena lokasi dari gen DHFR dan GOI yang diintroduksikan sangat berdekatan maka meningkatnya *copy number gen* DHFR akan diikuti dengan meningkatnya *copy number* GOI (Biedler dan Spengler, 1976; Pallavicini *et al.*, 1990; Wurm, 1990).

Secara teori kemampuan produktivitas setiap klon sangat tergantung secara acak oleh posisi dimana GOI yang diintroduksikan terletak dalam genom, respon suatu sel terhadap penambahan MTX dan sifat intrinsik dari protein yang terekspresikan (Lai *et al.*, 2013). Untuk memaksimalkan peningkatan produksi protein yang kita inginkan, strategi dalam penggunaan MTX dapat dilakukan secara bertahap (*step wise*) seperti yang tertulis pada Gambar 3 (Gibco, 2011). Konsentrasi MTX dapat diawali sebanyak 0.05 µM, 0,1 µM, 0,25 µM, 0,5 µM dst tergantung level ekspresi protein yang diinginkan dan waktu yang tersedia.



Gambar 2. Amplifikasi gen dihydrofolate reductase pada sel CHO yang resistant terhadap methotrexate (Biedler dan Spengler, 1976). [*Amplification of the dihydrofolate reductase gene in methotrexate-resistant Chinese hamster cells*] (Biedler dan Spengler, 1976).



Gambar 3. Strategi penggunaan MTX secara bertahap untuk meningkatkan produksi protein pada sel lestari DHFR negatif (Biedler dan Spengler, 1976). [*Strategy on the use of step wise increasing of MTX to increase protein production in DHFR negative cell line*] (Biedler dan Spengler, 1976).

Rekayasa sel dalam pengembangan sel line untuk produksi protein

Sejak digunakannya sel CHO pertama kali pada tahun 1919 sampai saat ini dalam berbagai macam penelitian telah mengalami kemajuan yang sangat signifikan (Florian., 2013). Pada sekitar akhir tahun 1970an produksi protein pada sel CHO sebanyak 100 mg/liter sudah dapat dikatakan suatu keberhasilan yang baik (Jayapal *et al*., 2002). Tetapi saat ini dengan berbagai macam sentuhan teknologi seperti proses skrining, media yang digunakan dan bioproses telah membuat produksi protein pada sel ini dapat mencapai 1–10 g/liter (Kim *et al*., 2012). Walaupun kemajuan teknologi sel CHO sudah cukup tinggi, tetapi sebenarnya dengan masih tingginya perbedaan antar sel dalam suatu klon dan masih belum diketahuinya sumber yang pasti dari variasi antar sel semacam ini membuat hal ini masih menjadi suatu tantangan besar dalam teknologi sel CHO (Florian, 2013). Hal ini sebenarnya karena kurang diketahuinya dengan pasti mengenai biologi dan fisiologi dari sel ini (Jayapal *et al*., 2007). Selain itu, sistem secara produksi ini memiliki keterbatasan teknologi antara lain: laju pertumbuhan spesifik yang rendah, konsentrasi sel tergolong rendah, konsumsi tinggi terhadap sumber karbon dan energi, yaitu glukosa dan glutamin. Konsekuensi dari ini semua adalah tingginya konsentrasi metabolit yang tidak diinginkan, terutama laktat dan amonium (Altamirano *et al*., 2013). Hal ini dapat membatasi rentang hidup kultur sel dan kualitas protein yang dikehendaki. Secara umum ahirnya hal ini dapat menyebabkan menurunnya produktivitas protein yang diinginkan (Schröder, 2008; Lim *et al*., 2010; Omasa *et al*., 2010; Sunley dan Butler, 2010; Dietmair *et al*., 2011). Sehubungan dengan masalah ini, studi terdahulu (Gupta *et al*., 2017) telah mengekspresikan gen PYC2 yang memproduksi piruvat karboksilase dalam sel CHO dengan tujuan untuk meningkatkan fluks piruvat kedalam siklus TCA sehingga akumulasi asak laktat dapat berkurang sebesar 4 kali lipat. Menurunnya asam laktat ahirya dapat meningkatkan densitas dan viabilitas sel yang pada ahirnya dapat meningkatkan produksi protein dan memperbaiki profil struktur glikoprotein yang dihasilkan (Gupta *et al*., 2017).

Beberapa strategi rekayasa sel CHO untuk meningkatkan karakteristik sel CHO terutama dalam hal pertumbuhan sel dan produksi protein telah dicoba terutama dalam hal untuk

meningkatkan umur produktif sel CHO dan produktivitasnya dalam mensintesis protein yang diinginkan. Salah satu tujuan dalam strategi ini adalah dengan cara mengurangi kematian sel dan menginduksi pertumbuhan sel pada tahap sangat awal. Peningkatan produksi semacam ini melibatkan banyak faktor, antara lain seperti komponen yang mengatur silus sel, protein folding, protein transport dan sekresi protein (Kim *et al.,* 2012).

KESIMPULAN

Secara umum, peningkatan yang signifikan dalam produksi protein terapetik dengan menggunakan sel CHO telah dicapai melalui pertumbuhan sel, peningkatan produksi dan rekayasa sel CHO yang lebih baik. Sedangkan secara khusus, dua strategi besar yang telah digunakan untuk mencapai kemajuan ini adalah dalam hal pengembangan sel lestari dan bioproses sel kultur yang melibatkan perkembangan media yang digunakan. Mengingat sifat suatu sel dan responnya dalam suatu kondisi kultur tertentu sangat bervariasi maka pengembangan kultur sel lestari yang stabil adalah sangat kritikal.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI yang telah mendanai penelitian mengenai sel mamalia CHO.

DAFTAR PUSTAKA

Altamirano, C., Berrios, J., Vergara, M. and Becerra, S., 2013. Advances in improving mammalian cells metabolism for recombinant protein production, *Electronic Journal of Biotechnology, 16*(3), pp. 1–14.

Bailey, S.W. and Ayling, J.E., 2009. The extremely slow and variable activity of dihydrofolate reductase in human liver and its implications for high folic acid intake. *PNAS, 106* (36), pp. 15424–15429.

Batista, L.F., Chigancas, V., Brumatti, G., Amarante-Mendes, G.P. and Menck, C.F., 2006. Involvement of DNA replication in ultraviolet-induced apoptosis of mammalian cells. *Apoptosis,*11, pp. 1139–1148.

Biedler, J.L. and Spengler, B.A., 1976. A novel chromosome abnormality in human neuroblastoma and antifolate resistant Chinese hamster cell lines in culture. *Journal of the National Cancer Institute*, *57*, pp. 683–689.

Boeger, H., Bushnell, D.A., Davis, R., Griesenbeck, J., Lorch, Y., Strattan, J.S., Westover, K.D. and Kornberg, R.D., 2005. Structural basis of eukaryotic gene transcription. *FEBS Lett, 579*, pp. 899–903.

Cai, Y., Ludeman, S.M., Wilson, L.R., Chung, A.B. and Dolan, M.E., 2001. Effect of O6-benzylguanine on nitrogen mustard-induced toxicity, apoptosis, and mutagenicity in Chinese hamster ovary cells. *Molecular Cancer Therapeutics, 1*, pp. 21–28.

Calo, F.A.B. and Marto, A.H., 2012. Biosimilars: company strategies to capture value from the biologics market. *Pharmaceuticals*, *5*, pp. 1393–408.

Chasin, L.A. and Urlaub, G., 1975. Chromosome-wide event accompanies the expression of recessive mutations in tetraploid cells. *Science*, *187*, pp. 1091–1093.

Chen, MJ., Shimada, T., Moulton, A.D., Cline, A., Humphries, R.K., Maizel, J. and Nienhuis AW., 1984. The functional human dihydrofolate reductase gene. *The Journal of Biological Chemistry*, *259*(6), pp. 3933–3943.

Davies, S.L., Lovelady, C.S., Grainger, R.K., Racher, A.J., Young, R.J. and James, D.C.,2013. Functional heterogeneity and heritability in CHO cell populations. *Biotechnol. Bioeng,110*, pp. 260–274.

Dietmair, S., Nielsen, L.K. and Timmins, N.E., 2011. Engineering a mammalian super producer. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, *86*(7), pp. 905–914.

Fernandez, M.J., Lopez, A. and Santa-Maria, A., 2003. Apoptosis induced by different doses of caffeine on Chinese hamster ovary cells. *Journal of Applied Toxicology, 23*, pp. 221–224.

Florian, M.W., 2013. CHO Quasispecies: Implications for Manufacturing Processes. *Processes,1*, pp. 296–311.

Ghaderi, D., Zhang, M., Hurtado-Ziola, N. and Varki, A., 2012. Production platforms for biotherapeutic glycoproteins. Occurrence, impact, and challenges of non-human sialylation. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews, 28*, pp. 147–175.

Gibco: User Manual – Freedom^{tm} DG44 Kit 2011. Catalog no. A13737-01.

Gupta. S.K. and Shukla, P., 2016. Advanced technologies for improved expression of recombinant proteins in bacteria: perspectives and applications. *Critical Reviews in Biotechnology, 36*, pp. 1089–1098.

Gupta, S.K. and Shukla, P., 2017. Microbial platform technology for recombinant antibody fragment production: A review. *Critical Reviews in Biotechnology*, *43*, pp. 31–42.

Gupta, S.K., Santosh, K.S., Ankit, S., Vaibhav, H.H., Nalagel, D.S., Hiralal, K., Nikhil, B.C. and Pratyoosh, S., 2017. Metabolic engineering of CHO cells for the development of a robust protein production platform. *PLoS ONE*, *12*(8), e0181455.

Huang,Y.M., Hu, W., Rustandi, E., Chang, K., Yusuf, M.H. and Ryll, T., 2010. Maximizing productivity of CHO cell -based fed-batch culture using chemically defined media conditions and typical manufacturing equipment. *Biotechnology Progress*, *26*, pp. 1400–1410.

Jayapal, K.P., Wlaschin, K.F., Hu, W.S. and Yap M.G., 2007. Recombinant protein therapeutics from CHO cells-20 years and counting. *Chemical Engineering Progress, 103*, pp. 40–47.

Kaufman, R.J. and Schimke, R.T., 1981. Amplification and loss of dihydrofolate reductase genes in a Chinese hamster ovary cell line. *Molecular and Cellular Biology,12*, pp. 1069–1076.

Kaufman, R.J. and Sharp, P.A., 1982. Amplification and expression of sequences cotransfected with a modular dihydrofolate reductase complementary dna gene. *Journal of Molecular Biology*, *159*, pp. 601–621.

Kaufman, R.J., Wasley, L.C., Spiliotes, A.J., Gossels, S.D., Latt, S.A., Larsen, G.R. and Kay, R. M., 1985. Coamplification and co-expression of human tissue-type plasminogen activator and murine dihydrofolate reductase sequences in Chinese Hamster Ovary cells. *Molecular and Cellular Biology*, *5*, pp. 1750–1759.

Kim, J.Y., Kim, Y.G. and Lee, G.M., 2012. CHO cells in biotechnology for production of recombinant

proteins: current state and further potential. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *93*, pp. 917–930.

Lai,T., Yang,Y. and Kong,S. 2013. Advances in Mammalian Cell Line Development Technologies for Recombinant Protein Production. *Pharmaceuticals*, *6*, pp. 579–603.

Lim, Y., Wong, N.S.C., Lee, Y.L., Ku, S.C.Y., Wong, D.C.F. and Yap, M.G.S., 2010. Engineering mammalian cells in bioprocessing-current achievements and future perspectives. *Biotechnology Applied Biochemistry*, *55*(4), pp. 175–189.

Omasa, T., Onitsuka, M. and Kim, W.D., 2010. Cell engineering and cultivation of Chinese hamster ovary (CHO) cells. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, *11*(3), pp. 233–240.

Pallavicini, M.G., DeTeresa, P.S., Rosette, C., Gray, J.W. and Wurm, F.M., 1990. Effects of Methotrexate (MTX) on Transfected DNA Stability in Mammalian Cells. *Molecular and Cellular Biology, 10*, pp. 401–404.

Puck, T.T., 1957. The genetics of somatic mammalian cells. *Adv. Biology. Medical Physics, 5*, pp. 75–101.

Puck, T.T., 1985. Development of the Chinese Hamster Ovary (CHO) Cell for Use in Somatic Cell Genetics. In *Molecular Cell Genetics*; Gottesman, M.M., ed.; John Wiley and Sons: New York, NY, USA, pp. 37–64.

Puck, T.T. and Kao, F.T., 1967. Genetics of somatic mammalian cells. V. Treatment with 5-bromodeoxyuridine and visible light for isolation of nutritionally deficient mutants. *PNAS*, *58*, pp. 1227–1234.

Reinhart, D., Damjanovic, L., Kaisermayer, C., Sommeregger, W., Gili, A., Gasselhuber, B., Castan, A., Mayrhofer, P., Grünwald-Gruber, C. and Kunert R., 2018. Bioprocessing of Recombinant CHO-K1, CHO-DG44, and CHO-S: CHO Expression Hosts Favor Either mAb Production or Biomass Synthesis. *Biotechnology Journal*, *1700686*, pp. 1–11

Schmidt, F.L., Leslie, L.G,, Schultz, J.R. and Gerritsen G.C., 1970. Epidemiological studies of the Chinese hamster. *Diabetologia. 6*(3), pp. 154–157.

Schroder, M., 2008. Engineering eukaryotic protein factories. *Biotechnology Letters*, *30*(2), pp. 187–196.

Soloneski, S., Gonzalez, M., Piaggio, E., Reigosa, M.A. and Larramendy, M.L., 2002. Effect of dithiocarbamate pesticide zineb and its commercial formulation, azzurro. III. Genotoxic evaluation on Chinese hamster ovary (CHO) cells. *Mutation Research, 15*, pp. 201–212.

Sommeregger, W., Gili, A., Sterovsky, T., Casanova, E. and Kunert, R., 2013. Powerful expression in Chinese Hamster Ovary cells using bacterial artificial chromosomes: Parameters influencing productivity. *BMC Proceedings*, *7*(S6), P2.

Sunley, K. and Butler, M., 2010. Strategies for the enhancement of recombinant protein production from mammalian cells by growth arrest. *Biotechnology Advances*, *28* (3), pp. 385–394.

Urlaub, G. and Chasin, L.A., 1980. Isolation of Chinese hamster cell mutants deficient in dihydrofolate reductase activity. *PNAS, 77* (7), pp. 4216–4220.

Urlaub, G., Kas, E., Carothers, A.M. and Chasin, L.A., 1983. Deletion of the diploid dihydrofolate reductase locus form cultured mammalian cells. *Cell*, *33*, pp. 405–412.

Urlaub, G., Mitchell, P.J., Kas, E., Chasin, L.A., Fumanage, V.L., Myoda, T.T. and Hamlin, J., 1986. Effect of gamma rays at the dihydrofolate reductase locus: Deletions and inversions. *Somatic Cell and Molecular Genetics*, *12*, pp. 555–566.

Walsh, G., 2014. Biopharmaceutical benchmarks. *Nature Biotechnology, 32*(10), pp. 992–1000.

Walsh, C.T., Garneau-Tsodikova, J. and Gatto J.R., 2005. Protein posttranslational modifications: the chemistry of proteome diversifications. *Angewandte Chemie International Edition, 44*(45), pp. 7342–7372.

Weerapana, E. and Imperiali, B., 2006. Asparagine-linked protein glycosylation: from eukaryotic to prokaryotic systems. *Glycobiology, 16*(6), pp 91R–101R.

Weidle, U.H., Buckel, P. and Wienberg, J., 1988. Amplified expression constructs for human tissue type plasminogen activator in CHO cells: Instability in the absence of selective pressure. *Gene*, *66*, pp. 193–203.

Wiberg, F.C., Rasmussen, S.K., Frandsen, T.P., Rasmussen, L.K., Tengbjerg, K., Coljee, V.W., Sharon, J., Yang, C.Y., Bregenholt, S. and Nielsen, L.S., 2006. Production of target-specific recombinant human polyclonal antibodies in mammalian cells. *Biotechnology and Bioengineering, 94*, pp. 396–405.

Wurm, F.M., 1990. Integration, amplification and stability of plasmid sequences in CHO cell cultures. *Biologicals, 18*, pp. 159–164.

Wurm, F.M., 2004. Production of recombinant protein therapeutics in cultivated mammalian cells. *Nature Biotechnology, 22*, pp. 1393–1398.

Wurtele, H., Little, K.C. and Chartrand, P.,2003. Illegitimate DNA integration in mammalian cells. *Gene therapy, 10*, pp. 1791–1799.

Xu, J., Ge, X. and Dolan, M.C., 2011. Towards high-yield production of pharmaceutical proteins with plant cell suspension cultures. *Biotechnology Advances, 29,* pp. 278–299.

Zhu, J., 2012. Mammalian cell protein expression for biopharmaceutical production. *Biotechnology Advances, 30*, pp. 1158–1170.

Pedoman Penulisan Naskah Berita Biologi

Berita Biologi adalah jurnal yang menerbitkan artikel kemajuan penelitian di bidang biologi dan ilmu-ilmu terkait di Indonesia. Berita Biologi memuat karya tulis ilmiah asli berupa makalah hasil penelitian, komunikasi pendek dan tinjauan kembali yang belum pernah diterbitkan atau tidak sedang dikirim ke media lain. Masalah yang diliput harus menampilkan aspek atau informasi baru.

Tipe naskah

1. **Makalah lengkap hasil penelitian (*original paper*)**
   Naskah merupakan hasil penelitian sendiri yang mengangkat topik yang *up to date*. Tidak lebih dari 15 halaman termasuk tabel dan gambar. Pencantuman lampiran seperlunya, namun redaksi berhak mengurangi atau meniadakan lampiran.
2. **Komunikasi pendek (*short communication*)**
   Komuniasi pendek merupakan makalah hasil penelitian yang ingin dipublikasikan secara cepat karena hasil termuan yang menarik, spesifik dan atau baru, agar dapat segera diketahui oleh umum. Hasil dan pembahasan dapat digabung.
3. **Tinjauan kembali (*review*)**
   Tinjauan kembali merupakan rangkuman tinjauan ilmiah yang sistematis-kritis secara ringkas namun mendalam terhadap topik penelitian tertentu. Hal yang ditinjau meliputi segala sesuatu yang relevan terhadap topik tinjauan yang memberikan gambaran '*state of the art*', meliputi temuan awal, kemajuan hingga issue terkini, termasuk perdebatan dan kesenjangan yang ada dalam topik yang dibahas. Tinjauan ulang ini harus merangkum minimal 30 artikel.

Struktur naskah

1. **Bahasa**
   Bahasa yang digunakan adalah Bahasa Indonesia atau Inggris yang baik dan benar.
2. **Judul**
   Judul diberikan dalam bahasa Indonesia dan inggris. Judul ditulis dalam huruf tegak kecuali untuk nama ilmiah yang menggunakan bahasa latin, Judul harus singkat, jelas dan mencerminkan isi naskah dengan diikuti oleh nama serta alamat surat menyurat penulis dan alamat email. Nama penulis untuk korespondensi diberi tanda amplop cetak atas (*superscript*). Jika penulis lebih dari satu orang bagi pejabat fungsional penelitian, pengembangan agar menentukan status sebagai kontributor utama melalui penandaan simbol dan keterangan sebagai kontributor utama dicatatan kaki di halaman pertama artikel.
3. **Abstrak**
   Abstrak dibuat dalam dua bahasa, bahasa Indonesia dan Inggris. Abstrak memuat secara singkat tentang latar belakang, tujuan, metode, hasil yang signifikan, kesimpulan dan implikasi hasil penelitian. Abstrak berisi maksimum 200 kata, spasi tunggal. Di bawah abstrak dicantumkan kata kunci yang terdiri atas maksimum enam kata, dimana kata pertama adalah yang terpenting. Abstrak dalam Bahasa Inggris merupakan terjemahan dari Bahasa Indonesia. Editor berhak untuk mengedit abstrak demi alasan kejelasan isi abstrak.
4. **Pendahuluan**
   Pendahuluan berisi latar belakang, permasalahan dan tujuan penelitian. Perlu disebutkan juga studi terdahulu yang pernah dilakukan terkait dengan penelitian yang dilakukan.
5. **Bahan dan cara kerja**
   Bahan dan cara kerja berisi informasi mengenai metode yang digunakan dalam penelitian. Pada bagian ini boleh dibuat sub-judul yang sesuai dengan tahapan penelitian. Metoda harus dipaparkan dengan jelas sesuai dengan standar topik penelitian dan dapat diulang oleh peneliti lain. Apabila metoda yang digunakan adalah metoda yang sudah baku cukup ditulis sitasinya dan apabila ada modifikasi maka harus dituliskan dengan jelas bagian mana dan hal apa yang dimodifikasi.
6. **Hasil**
   Hasil memuat data ataupun informasi utama yang diperoleh berdasarkan metoda yang digunakan. Apabila ingin mengacu pada suatu tabel/ grafik/diagram atau gambar, maka hasil yang terdapat pada bagian tersebut dapat diuraikan dengan jelas dengan tidak menggunakan kalimat 'Lihat Tabel 1'. Apabila menggunakan nilai rata- rata maka harus menyertakan pula standar deviasinya.
7. **Pembahasan**
   Pembahasan bukan merupakan pengulangan dari hasil. Pembahasan mengungkap alasan didapatkannya hasil dan arti atau makna dari hasil yang didapat tersebut. Bila memungkinkan, hasil penelitian ini dapat dibandingkan dengan studi terdahulu.
8. **Kesimpulan**
   Kesimpulan berisi infomasi yang menyimpulkan hasil penelitian, sesuai dengan tujuan penelitian, implikasi dari hasil penelitian dan penelitian berikutnya yang bisa dilakukan.
9. **Ucapan terima kasih**
   Bagian ini berisi ucapan terima kasih kepada suatu instansi jika penelitian ini didanai atau didukungan oleh instansi tersebut, ataupun kepada pihak yang membantu langsung penelitian atau penulisan artikel ini.
10. **Daftar pustaka**
    Tidak diperkenankan untuk mensitasi artikel yang tidak melalui proses *peer review*. Apabila harus menyitir dari "laporan" atau "komunikasi personal" dituliskan '*unpublished*' dan tidak perlu ditampilkan di daftar pustaka. Daftar pustaka harus berisi informasi yang *up to date* yang sebagian besar berasal dari *original papers* dan penulisan terbitan berkala ilmiah (nama jurnal) tidak disingkat.

Format naskah

1. Naskah diketik dengan menggunakan program Microsoft Word, huruf New Times Roman ukuran 12, spasi ganda kecuali Abstrak spasi tunggal. Batas kiri-kanan atas-bawah masing-masing 2,5 cm. Maksimum isi naskah 15 halaman termasuk ilustrasi dan tabel.
2. Penulisan bilangan pecahan dengan koma mengikuti bahasa yang ditulis menggunakan dua angka desimal di belakang koma. Apabila menggunakan Bahasa Indonesia, angka desimal ditulis dengan menggunakan koma (,) dan ditulis dengan menggunakan titik (.) bila menggunakan bahasa Inggris. Contoh: Panjang buku adalah 2,5 cm. Lenght of the book is 2.5 cm. Penulisan angka 1-9 ditulis dalam kata kecuali bila bilangan satuan ukur, sedangkan angka 10 dan seterusnya ditulis dengan angka. Contoh lima orang siswa, panjang buku 5 cm.
3. Penulisan satuan mengikuti aturan *international system of units*.
4. Nama takson dan kategori taksonomi ditulis dengan merujuk kepada aturan standar yang diakui. Untuk tumbuhan menggunakan *International Code of Botanical Nomenclature* (ICBN), untuk hewan menggunakan International *Code of Zoological Nomenclature* (ICZN), untuk jamur *International Code of Nomenclature for Algae*, *Fungi and Plant* (ICFAFP), *International Code of Nomenclature of Bacteria* (ICNB), dan untuk organisme yang lain merujuk pada kesepakatan Internasional. Penulisan nama takson lengkap dengan nama author hanya dilakukan pada bagian deskripsi takson, misalnya pada naskah taksonomi. Penulisan nama takson untuk bidang lainnya tidak perlu menggunakan nama author.
5. Tata nama di bidang genetika dan kimia merujuk kepada aturan baku terbaru yang berlaku.
6. Untuk range angka menggunakan en dash (–), contohnya pp.1565–1569, jumlah anakan berkisar 7–8 ekor. Untuk penggabungan kata menggunakan hyphen (-), contohnya: masing-masing.
7. Ilustrasi dapat berupa foto (hitam putih atau berwarna) atau gambar tangan (*line drawing*).
8. Tabel
   Tabel diberi judul yang singkat dan jelas, spasi tunggal dalam bahasa Indonesia dan Inggris, sehingga Tabel dapat berdiri sendiri. Tabel diberi nomor urut sesuai dengan keterangan dalam teks. Keterangan Tabel diletakkan di bawah Tabel. Tabel tidak dibuat tertutup dengan garis vertikal, hanya menggunakan garis horisontal yang memisahkan judul dan batas bawah.

8. Gambar
   Gambar bisa berupa foto, grafik, diagram dan peta. Judul gambar ditulis secara singkat dan jelas, spasi tunggal. Keterangan yang menyertai gambar harus dapat berdiri sendiri, ditulis dalam bahasa Indonesia dan Inggris. Gambar dikirim dalam bentuk .jpeg dengan resolusi minimal 300 dpi, untuk *line drawing* minimal 600dpi.
9. Daftar Pustaka
   Sitasi dalam naskah adalah nama penulis dan tahun. Bila penulis lebih dari satu menggunakan kata 'dan' atau *et al*. Contoh: (Kramer, 1983), (Hamzah dan Yusuf, 1995), (Premachandra *et al*., 1992). Bila naskah ditulis dalam bahasa Inggris yang menggunakan sitasi 2 orang penulis maka digunakan kata 'and'. Contoh: (Hamzah and Yusuf, 1995). Jika sitasi beruntun maka dimulai dari tahun yang paling tua, jika tahun sama maka dari nama penulis sesuai urutan abjad. Contoh: (Anderson, 2000; Agusta *et al*., 2005; Danar, 2005). Penulisan daftar pustaka, sebagai berikut:

   a. **Jurnal**
      Nama jurnal ditulis lengkap.
      Agusta, A., Maehara, S., Ohashi, K., Simanjuntak, P. and Shibuya, H., 2005. Stereoselective oxidation at C-4 of flavans by the endophytic fungus *Diaporthe* sp. isolated from a tea plant. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, *53*(12), pp.1565–1569.
   b. **Buku**
      Anderson, R.C. 2000. *Nematode Parasites of Vertebrates, Their Development and Tramsmission*. 2nd ed. CABI Publishing. New York. pp. 650.
   c. **Prosiding atau hasil Simposium/Seminar/Lokakarya.**
      Kurata, H., El-Samad, H., Yi, T.M., Khammash, M. and Doyle, J., 2001. Feedback Regulation of the Heat Shock Response in*Eschericia coli*. *Proceedings of the 40th IEEE Conference on Decision and Control*. Orlando, USA. pp. 837–842.
   d. **Makalah sebagai bagian dari buku**
      Sausan, D., 2014. Keanekaragaman Jamur di Hutan Kabungolor, Tau Lumbis Kabupaten Nunukan, Kalimanan Utara. Dalam: Irham, M. & Dewi, K. eds. *Keanekaraman Hayati di Beranda Negeri*. pp. 47–58. PT. Eaststar Adhi Citra. Jakarta.
   e. **Thesis, skripsi dan disertasi**
      Sundari, S., 2012. Soil Respiration and Dissolved Organic Carbon Efflux in Tropical Peatlands. *Dissertation*. Graduate School of Agriculture. Hokkaido University. Sapporo. Japan.
   f. **Artikel online.**
      Artikel yang diunduh secara online ditulis dengan mengikuti format yang berlaku untuk jurnal, buku ataupun thesis dengan dilengkapi alamat situs dan waktu mengunduh. Tidak diperkenankan untuk mensitasi artikel yang tidak melalui proses peer review misalnya laporan perjalanan maupun artikel dari laman web yang tidak bisa dipertangung jawabkan kebenarannya seperti wikipedia.
      Himman, L.M., 2002. A Moral Change: Business Ethics After Enron. San Diego University Publication. *http:ethics.sandiego.edu/LMH/oped/Enron/index.asp*. (accessed 27 Januari 2008) bila naskah ditulis dalam bahasa inggris atau (diakses 27 Januari 2008) bila naskah ditulis dalam bahasa indonesia

Formulir persetujuan hak alih terbit dan keaslian naskah
Setiap penulis yang mengajukan naskahnya ke redaksi Berita Biologi akan diminta untuk menandatangani lembar persetujuan yang berisi hak alih terbit naskah termasuk hak untuk memperbanyak artikel dalam berbagai bentuk kepada penerbit Berita Biologi. Sedangkan penulis tetap berhak untuk menyebarkan edisi cetak dan elektronik untuk kepentingan penelitian dan pendidikan. Formulir itu juga berisi pernyataan keaslian naskah yang menyebutkan bahwa naskah adalah hasil penelitian asli, belum pernah dan tidak sedang diterbitkan di tempat lain serta bebas dari konflik kepentingan.

Penelitian yang melibatkan hewan
Setiap naskah yang penelitiannya melibatkan hewan (terutama mamalia) sebagai obyek percobaan/penelitian, wajib menyertakan *'ethical clearance approval*' terkait animal *welfare* yang dikeluarkan oleh badan atau pihak berwenang.

Lembar ilustrasi sampul
Gambar ilustrasi yang terdapat di sampul jurnal Berita Biologi berasal dari salah satu naskah yang dipublikasi pada edisi tersebut. Oleh karena itu, setiap naskah yang ada ilustrasinya diharapkan dapat mengirimkan ilustrasi atau foto dengan kualitas gambar yang baik dengan disertai keterangan singkat ilustrasi atau foto dan nama pembuat ilustrasi atau pembuat foto.

Proofs
Naskah *proofs* akan dikirim ke penulis dan penulis diwajibkan untuk membaca dan memeriksa kembali isi naskah dengan teliti. Naskah proofs harus dikirim kembali ke redaksi dalam waktu tiga hari kerja.

Naskah cetak
Setiap penulis yang naskahnya diterbitkan akan diberikan 1 eksemplar majalah Berita Biologi dan *reprint*. Majalah tersebut akan dikirimkan kepada *corresponding author*

Pengiriman naskah
Naskah dikirim secara online ke website berita biologi: *http://e-journal.biologi.lipi.go.id/index.php/berita_biologi*

Alamat kontak
Redaksi Jurnal Berita Biologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI
Cibinong Science Centre, Jl. Raya Bogor Km. 46 Cibinong 16911
Telp: +61-21-8765067, Fax: +62-21-87907612, 8765063, 8765066,
Email: berita.biologi@mail.lipi.go.id
jurnalberitabiologi@yahoo.co.id atau
jurnalberitabiologi@gmail.com

BERITA BIOLOGI

Vol. 18(2) Agustus 2019

P-ISSN 0126-1754
E-ISSN 2337-8751

Isi (*Content*)

TINJAUAN ULANG (*REVIEW*)

PERKEMBANGAN SEL MAMALIA *CHINESE HAMSTER OVARY* (CHO) DALAM PRODUKSI OBAT BERBASIS PROTEIN [Development of Mammalian Cell Chinese Hamster Ovary (CHO) in the Production of Protein Based Drugs]
Adi Santoso ..... 125 – 133

MAKALAH HASIL RISET (*ORIGINAL PAPERS*)

BUDIDAYA UDANG GALAH (*Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879)) SISTEM AKUAPONIK BERBASIS POLIKULTUR DENGAN IKAN TAMBAKAN (*Helostoma temminckii* Cuvier, 1829) [The Polyculture Based Aquaponic System of Freshwater Prawn (*Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879)) and Kissing Gouramy (*Helostoma temminckii* Cuvier, 1829)]
Lies Setijaningsih, Bambang Gunadi dan Eddy Supriyono 135– 144

KERAGAMAN KERAPATAN KAYU BATANG DAN CABANG KOMUNITAS POHON DI HUTAN GUNUNG PAPANDAYAN, JAWA BARAT [Diversity of Tree Stem and Branch Wood Density in Forest of Mount Papandayan, West Java]
Eka Fatmawati Tihurua dan Endah Sulistyawati ..... 145 – 154

PREFERENSI PERTUMBUHAN BIBIT GEMBILI [*Dioscorea esculenta* (Lour.) Burkill ASAL BAHAN TANAM DAN TEKNIK PENANAMAN YANG BERBEDA [Gowth Preference on Different Seed Material and Planting Technique on Lesser Yam (*Dioscorea esculenta* (Lour.) Burkill)) Propagation]
Ning Wikan Utami, Peni Lestari dan Albert Husein Wawo ..... 155 – 163

SKRINING AWAL AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIOKSIDAN EKSTRAK SEMUT (INSECTA: FORMICIDAE) DARI GARUT- JAWA BARAT [A Preliminary Screening of Antibacterial and Anti-oxidant Activities of Ant (Insecta: Formicidae) Extracts Collected from Garut – West Java]
Oscar Efendy, Ahmad Fathoni, Praptiwi, Mohammad Fathi Royyani, Dewi Wulansari dan Andria Agusta ..... 165 – 173

TIPE STOMATA TIGA PULUH DUA JENIS BEGONIA ALAM INDONESIA KOLEKSI KEBUN RAYA CIBODAS [The Stomata Type of Thirty Two Indonesian Native Begonia of Cibodas Botanical Garden Collection]
Muhammad Efendi ..... 175 – 183

PERSPEKTIF GENDER SUKU OSING DI BANYUWANGI DALAM PENILAIAN KEMANFAATAN TANAMAN [Gender Perspective of Osing Tribe in Banyuwangi in Assessment of Plant Benefits]
Budi Prasetyo , Tatik Chikmawati, Eko Baroto Walujo dan Ervizal A.M. Zuhud ..... 185 – 197

NISHAH KELAMIN, HUBUNGAN PANJANG-BERAT DAN UKURAN REPRODUKSI HIU *Hexanchus* spp. DI PERAIRAN SELATAN NUSA TENGGARA [Sex Ratio, Length-Weight Relationship and Reproductive Size of Sixgill Shark, *Hexanchus* spp. from Southern Nusa Tenggara Waters]
Agus Arifin Sentosa ..... 199 – 208

PENGARUH PADAT TEBAR LARVA TERHADAP PERTUMBUHAN DAN SINTASAN PADA IKAN UCENG (*Nemacheilus fasciatus*, Valenciennes 1846) [Effects of Larval Stocking Density on Growth and Survival of Barred Loach (*Nemacheilus fasciatus*, Valenciennes 1846)]
Jojo Subagja, Vitas Atmadi Prakoso, Otong Zenal Arifin dan Anang Hari Kristanto ..... 209 – 114

KERAGAMAN MORFOLOGI *Hoya purpureofusca* Hook.f. ASAL TAMAN NASIONAL GUNUNG GEDE PANGRANGO [Morphological Variation of *Hoya purpureofusca* Hook.f. from Gunung Gede Pangrango National Park]
Sri Rahayu, Kartika Ning Tyas dan Hary Wawangningrum ..... 215 – 223

PERBANDINGAN KARAKTERISASI BIOMETRIK IKAN LELE DUMBO DENGAN IKAN LELE AFRIKA (*Clarias gariepinus* BURCHELL, 1822) [Biometric Characterization of Lele Dumbo Compared to that of African Catfish (*Clarias gariepinus* Burchell, 1822)]
Bambang Iswanto, Imron, Rommy Suprapto dan Huria Marnis ..... 225 – 234

ANCAMAN JENIS IKAN ASING LOUHAN TERHADAP IKAN ENDEMIK DI DANAU MATANO, SULAWESI SELATAN [Threat of Alien Species Louhan to Endemic Fish in Lake Matano, South Sulawesi]
Syahroma Husni Nasution,Gadis Sri Haryani, Rahmi Dina dan Octavianto Samir ..... 235 – 245

KOMUNIKASI PENDEK (*SHORT COMMUNICATION*)

ISOLASI GEN SITRAT SINTASE BAKTERI *Pseudomonas aerugenosa* PS2 DARI RIZOSFER POHON KRUING (*Dipterocarpus* sp.) UNTUK MODEL KONSTRUKSI METABOLISME SEL MIKROALGA BERKARBO-HIDRAT RENDAH [Isolation of Citrate Synthase Gene of *Pseudomonas aeruginosa* PS2 Bacterium from Kruing Tree (*Dipterocarpus* sp.) Rizosphere for Construction Model of Low Carbohydrate Algal Cell Methabolism]
Dwi Susilaningsih, Asahedi Umoro, Fredrick Onyango Ochieng, Dian Noverita Widyaningrum, Hani Susanti, Hadi Susilo, I Nengah Swastika dan Utut Widyastuti ..... 247 – 253