

AKTIVITAS BEBERAPA PEPTIDA KADHERIN SINTETIK DALAM MENGHAMBAT REAGREGASI SEL

Ernawati Sinaga¹, Usman S.F. Tambunan², dan Teruna J. Siahaan³

¹Fakultas Biologi Universitas Nasional, Jakarta

²Jurusan Kimia FMIPA Universitas Indonesia, Depok

³Dept. of Pharmaceutical Chemistry, University of Kansas, Lawrence, KS 66047 USA,

ABSTRAK

Kadherin adalah senyawa-senyawa glikoprotein transmembran yang memiliki peran penting dalam berbagai proses biologis sel, antara lain dalam adhesi sel, kontak interselular, polarisasi sel, proses kompaksi embrio mencit dan dalam pembentukan *tight junction* pada sel-sel epitel. Pemahaman terhadap sifat, perilaku dan fungsi kadherin dapat dimanfaatkan untuk mencari metode diagnostik dan terapeutik terhadap berbagai penyakit dan kelainan, misalnya untuk diagnosis dan pengobatan tumor, memperbaiki penghantaran obat ke situs target dan menghambat adhesi patogen ke sel inang. Salah satu manifestasi fungsi kadherin adalah daya adhesi atau agregasi sel. Dalam rangka mempelajari dan memperdalam pemahaman tentang struktur, sifat dan fungsi kadherin, dalam penelitian ini diamati aktivitas beberapa peptida sintetik dalam menghambat reagregasi sel menggunakan sel-sel MDCK sebagai model. Hasil penelitian menunjukkan bahwa beberapa peptida sintetik yang sekuensnya diturunkan dari struktur primer kadherin, yaitu Ac-LFSHAVSSNG-NH₂ (HAV-10), Ac-QGADTPVGV- NH₂ (ADT-10), dan Ac-SHAVSS- NH₂ (HAV-6) dapat menghambat reagregasi sel, namun penghambatan ini hanya bersifat sementara.

Kata kunci: *peptida sintetik, reagregasi sel, kadherin, sel MDCK*

PENDAHULUAN

Kadherin adalah kelompok senyawa-senyawa glikoprotein transmembran yang memegang peranan penting dalam berbagai proses biologis, diantaranya dalam adhesi atau agregasi sel. E-kadherin ditemukan pada *junction* antar sel berbagai jenis sel, antara lain sel intestinal, hepar, ginjal, pada hampir semua sel-sel epitel dan pada sel-sel endotel kapiler. E-kadherin mempunyai peranan penting dalam adhesi sel, kontak interselular dan polarisasi sel. Selain itu E-kadherin juga berperan dalam proses kompaksi embrio mencit dan pembentukan *tight junction* pada sel-sel epitel (Takeichi, 1990 dan Takeichi, 1991). Dalam jaringan

susunan saraf pusat vertebrata ditemukan lebih dari 10 jenis kadherin, termasuk E-kadherin (Redies, 2000). N-kadherin ditemukan pada akson optik, sel-sel neuroepitel, jaringan otot dan beberapa jaringan epitel lainnya. N-kadherin berperan dalam pertumbuhan neurit pada astrosit, pada promosi ekstensi akson retinal serta pada pertumbuhan dan perkembangan sistem saraf pusat (Redies, 2000 dan Bruses, 2000).

Mengingat sangat luasnya peran kadherin dalam berbagai proses biologis, sejak dua dekade terakhir ini cukup banyak perhatian yang diberikan oleh para peneliti untuk mengungkapkan struktur, sifat dan fungsi dari berbagai tipe kadherin.

Diharapkan, pemahaman yang lebih mendalam terhadap kelompok glikoprotein ini akan dapat dimanfaatkan untuk mencari metode diagnostik dan pengobatan terhadap berbagai penyakit dan kelainan, misalnya untuk diagnosis dan pengobatan tumor, memperbaiki penghantaran obat ke situs target dan menghambat adhesi patogen ke sel inang.

Dalam rangka mempelajari dan memperdalam pemahaman tentang struktur, sifat dan fungsi kadherin, salah satu hal yang dapat dilakukan adalah mempelajari fungsi kadherin dan mekanisme biologis yang mendasarinya di tingkat molekuler. Dalam penelitian ini akan diamati aktivitas beberapa peptida sintetik dalam memodulasi salah satu fungsi kadherin, yaitu fungsinya dalam proses adhesi atau agregasi sel.

METODOLOGI PENELITIAN

Dalam penelitian dilakukan beberapa tahap pekerjaan, yaitu sintesis dan pemurnian peptida, kultur sel MDCK, serta analisis kemampuan peptida sintetik dalam menghambat reagregasi sel-sel MDCK.

A. Sintesis dan pemurnian peptida

Dalam penelitian ini dilakukan sintesis 4 senyawa peptida yang akan dievaluasi aktivitasnya dalam menghambat reagregasi sel, yaitu Ac-LFSHAVSSNG-NH₂ (HAV-10), Ac-QGADTPPVGV-NH₂ (ADT-10), dan Ac-SHAVSS-NH₂ (HAV-6). Seluruh peptida sintetik dilindungi kedua ujungnya dengan jalan asetilasi pada ujung amino dan amidasi pada ujung karboksilnya untuk mencegah hidrolisis.

Sintesis peptida dilakukan secara otomatis menggunakan metoda Sintesis Peptida Fasa Padat (SPPS) *Fast Fmoc chemistry*, yaitu metoda *Fmoc chemistry* yang ditingkatkan performansnya dengan penambahan katalisator HBTU (2-(1H-

benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronium heksafluorofosfat). Sintesis peptida dilakukan pada fasa padat resin aminometil-alanil (DOD resin) yang memiliki gugus Fmoc-4-metoksi-4-(γ -karboksi-propiloksi)-benzimidrilamin yang terikat pada resin melalui gugus alanil-aminometil tersebut. Setelah sintesis, peptida dilepaskan dari resin menggunakan asam trifluoroasetat (TFA) dengan menambahkan fenol sebagai *scavenger*. Larutan peptida dipisahkan dari resin dengan jalan menyaringnya ke dalam larutan asam asetat glasial 3% dan dibilas beberapa kali dengan dietileter untuk menghilangkan *scavenger* dan kontaminan lainnya.

Pemurnian peptida dilakukan dengan metoda HPLC preparatif. Pengujian kemurnian setiap fraksi peptida dilakukan dengan HPLC analitik. Fraksi-fraksi peptida yang dianggap cukup murni (kemurnian minimal 95%) dikumpulkan, dipekatkan dengan rotavaporator, lalu diliofilisasi. Peptida yang diperoleh dianalisis kembali kemurniannya dengan HPLC analitik dan kemudian disimpan pada suhu -20° C sebelum dianalisis dengan spektrometer massa dan NMR, dan digunakan dalam percobaan selanjutnya.

B. Kultur Sel MDCK

Kultur sel MDCK ATCC pasasi ke 24, diperoleh dari American Type Culture Collection (CCL-34). Seluruh pekerjaan yang menyangkut kultur sel dilakukan secara aseptik di dalam *biohazard hood* yang dilengkapi dengan *laminar air flow*, lampu ultra-violet, pipetor dan pompa hampa. Seluruh bahan dan alat yang digunakan terlebih dahulu disterilisasi dengan jalan diotoklaf selama 20 menit pada 121°C; untuk bahan-bahan yang mudah rusak karena pemanasan, sterilisasi dilakukan dengan jalan penyaringan menggunakan botol penyaring Nalgene.

1. Kultur sel di dalam flask:

Sel dikultur dalam flask khusus untuk kultur sel dalam media khusus untuk sel MDCK. Flask berisi kultur sel disimpan dalam inkubator pada suhu 37° C, RH 95-97%, dan konsentrasi CO₂ 5%. Media diganti sehari setelah inokulasi, dan sekali dua hari sesudahnya sampai dilakukan tripsinasi.

2. Kultur sel di dalam *well-plate*:

Untuk percobaan re-agregasi sel dikultur di dalam 24 *well-plate*. Cara penyimpanan dan media kultur yang digunakan sama dengan kultur sel di dalam flask, hanya saja inokulasi dilakukan dengan sel sejumlah lebih kurang 50.000 sel per *well* (24 *well-plate*). Kultur sel siap untuk digunakan dalam percobaan setelah berumur lebih kurang 6 hari.

3. Tripsinasi:

Kultur sel ditripsinasi setiap 4-6 hari bergantung pada kepadatan sel di dalam flask. Tripsinasi dilakukan jika sel sudah mencapai kepadatan (confluency) lebih kurang 80%. Tripsinasi dilakukan dengan larutan tripsin 0,25% yang mengandung 0,02% EDTA. Sebelum ditambahkan larutan tripsin, media kultur harus dibuang dan kultur sel dibilas dengan larutan PBS steril selama 5 menit. Setelah larutan PBS dibuang, kedalam flask ditambahkan 5 mL larutan tripsin-EDTA, flask digerakkan sedemikian rupa sehingga larutan tripsin membasahi seluruh lapisan sel. Setelah itu larutan tripsin segera dibuang, dan sel dibiarkan selama 5 menit pada suhu 37° C agar sel terlepas dari substrat dan terlepas satu sama lain. Kemudian ke dalam flask ditambahkan 10 mL media, media disemprotkan berulang-ulang ke atas seluruh lapisan sel sehingga lapisan sel runtuh dan tersuspensi ke dalam media. Untuk

subkultur, 2 mL suspensi sel segar dimasukkan ke dalam flask yang telah berisi 20 mL media.

C. Analisis kemampuan peptida dalam menghambat reagregasi sel

Kultur sel dalam 24 *well-plate* dibilas 3 x dengan larutan HBSS pH 7,4 yang tidak mengandung Ca²⁺ dan Mg²⁺, lalu diinkubasi dalam larutan yang sama selama 3 jam untuk menginduksi deagregasi lapis tunggal sel. Kultur sel kontrol dibilas dan diinkubasi dalam larutan HBSS pH 7,4 yang mengandung 2 mM Ca²⁺ dan 0,74 mM Mg²⁺. Setelah 3 jam, media diganti dengan larutan peptida uji dan kontrol dalam HBSS pH 7,4 yang mengandung 2 mM Ca²⁺ dan 0,74 mM Mg²⁺ untuk menginduksi reagregasi sel.

Pengamatan dilakukan paling lama sampai 5 jam masa inkubasi, dan setiap selang waktu tertentu dilakukan perekaman gambar sel dengan mikroskop fasa kontras yang dilengkapi dengan perangkat komputer.

HASIL DAN PEMBAHASAN

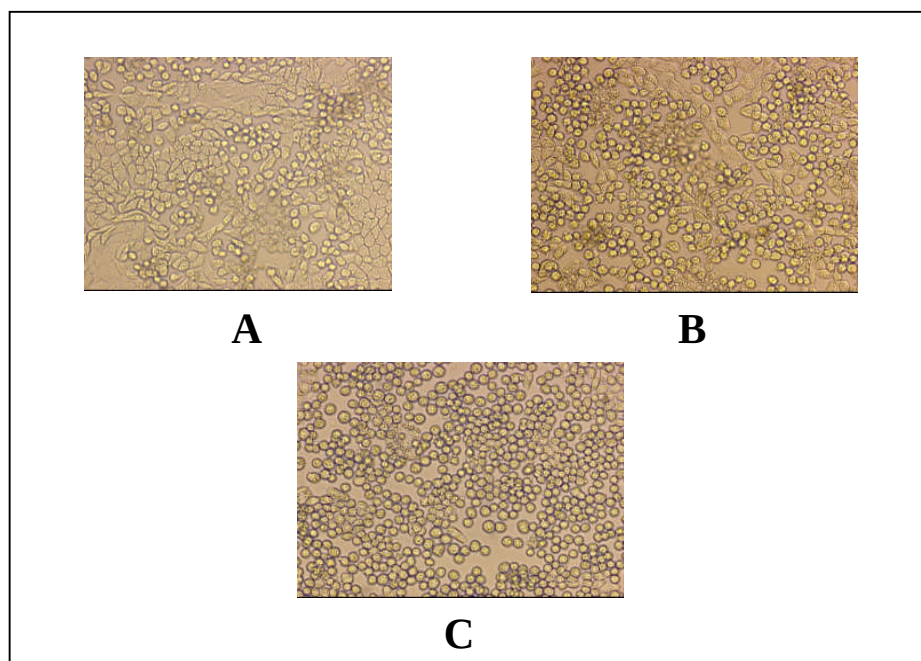
Agregasi sel adalah salah satu manifestasi dari fungsi kadherin. Kadherin memperantarai mekanisme adhesi sel yang bersifat Ca²⁺-dependent melalui interaksi homofilik antar molekul-molekul tersebut di dalam sel. Interaksi kadherin-kadherin ini akan membangun dan mempertahankan integritas *junction* antar sel. Gangguan terhadap fungsi kadherin akan berakibat pada rusaknya integritas *junction* antar sel, yang salah satu manifestasinya adalah hilangnya kemampuan adhesi sel yang tampak dari turunnya atau hilangnya kemampuan sel untuk melakukan agregasi.

A. Kemampuan deagregasi dan reagregasi sel MDCK

Sebelum menguji kemampuan peptida dalam menghambat reagregasi sel, terlebih dahulu diadakan percobaan untuk mendapatkan kondisi deagregasi sel yang sesuai. Hal ini penting agar prosedur deagregasi yang digunakan dalam percobaan masih cukup lunak sehingga

tidak merusak sistem adhesi sel secara irreversibel.

Gambar 1 menunjukkan lapis sel MDCK secara bertahap mengalami deagregasi. Sampai masa inkubasi 75 menit di dalam media yang tidak mengandung Ca^{2+} dan Mg^{2+} belum terjadi deagregasi sempurna (Gambar 1B), namun setelah 150 menit dapat dikatakan hampir seluruh lapis sel telah terdeagregasi menjadi sel-sel tunggal (Gambar 1C).



Gambar 1. Lapis tunggal sel MDCK mengalami deagregasi ketika diinkubasi dalam media yang tidak mengandung Ca^{2+} dan Mg^{2+} . Pada inkubasi 60 menit (A) dan 75 menit (B) belum terjadi deagregasi sempurna, namun setelah 150 menit (C) dapat dikatakan hampir seluruh lapis sel telah terdeagregasi menjadi sel-sel tunggal (perbesaran 100x).

Untuk menguji kemampuan reagregasi sel, maka sel-sel yang telah mengalami deagregasi tersebut dipindahkan kembali ke dalam media yang mengandung 2 mM Ca^{2+} dan Mg^{2+} . Jika sistem adhesi sel masih cukup baik, maka diharapkan sel-sel akan kembali melakukan agregasi.

Gambar 2 menunjukkan sel-sel tersebut ternyata dapat kembali mengalami agregasi sejak 30 menit masa pemulihan.

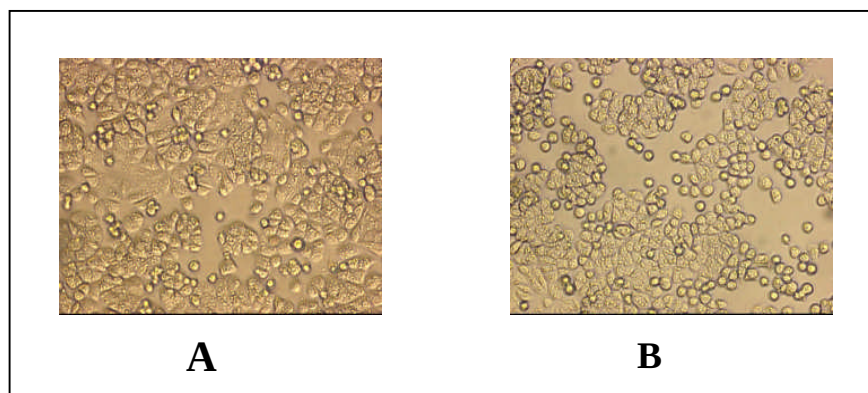
Proses reagregasi terus berlanjut, 1 jam setelah dipindahkan kembali ke dalam media yang mengandung Ca^{2+} dan Mg^{2+} sebagian besar sel sudah mengalami reagregasi (Gambar 2B), hanya sebagian kecil yang terlihat masih berbentuk sel tunggal mengapung di atas lapis sel tunggal yang terbentuk. Hasil pengamatan ini menunjukkan bahwa prosedur deagregasi yang digunakan terhadap sel-sel

tersebut sebelumnya cukup lunak sehingga tidak sampai merusak sistem adhesi sel tersebut.

B. Penghambatan reagregasi sel oleh peptida sintetik

Dalam percobaan ini dilakukan pengujian aktivitas penghambatan reagregasi sel oleh 2 dekapeptida kadherin yang

sebelumnya telah dibuktikan mampu memodulasi *junction* antar sel. Di samping itu, sebagai pembanding dilakukan pula pengujian terhadap peptida HAV-6, yaitu heksapeptida yang merupakan turunan HAV-10, yang dalam beberapa laporan penelitian menunjukkan kemampuan dapat mempengaruhi fungsi kadherin, yaitu dapat menurunkan resistansi listrik transepitel sel-sel MDCK



Gambar 2. Sel-sel MDCK mengadakan reagregasi pada masa pemulihan, yaitu setelah dipindahkan kembali ke dalam media yang mengandung 2 mM Ca^{2+} dan 0,74 mM Mg^{2+} . Gambar A adalah keadaan sel setelah 30 menit masa pemulihan dan B setelah 60 menit masa pemulihan (perbesaran 100x).

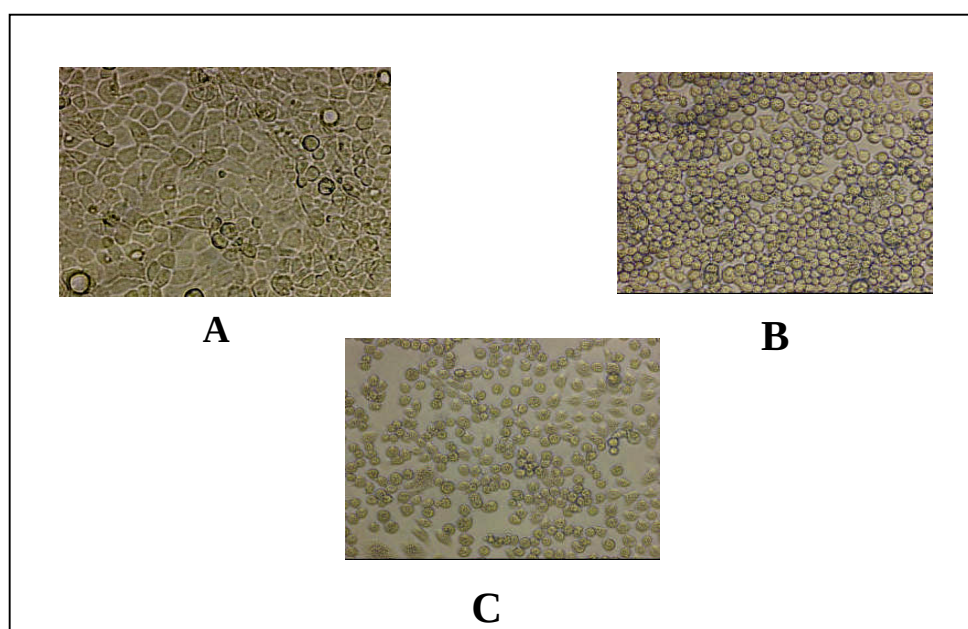
Hasil percobaan menunjukkan bahwa kedua dekapeptida efektif menghambat proses reagregasi sel-sel yang sebelumnya telah mengalami deagregasi dalam media tanpa Ca^{2+} dan Mg^{2+} . Dalam Gambar 3 jelas terlihat bahwa pada sel-sel sudah berlangsung reagregasi sel 1 jam setelah ke dalam media diberikan 2 mM Ca^{2+} dan 0,74 mM Mg^{2+} (Gambar 3A). Reagregasi ini berlangsung sebagai akibat dari pulihnya fungsi kadherin yang dalam aktivitasnya bergantung pada ketersediaan Ca^{2+} di dalam media. Akan tetapi, jika di dalam media terdapat peptida ADT-10, proses reagregasi terhambat, sehingga walaupun sudah dipulihkan keadaannya

selama 1 jam dalam media yang mengandung Ca^{2+} sel-sel masih belum mampu mengadakan reagregasi (Gambar 3B). Diperkirakan hal ini terjadi sebab peptida ADT-10 menghalangi interaksi kadherin-kadherin, sehingga proses adhesi sel tidak dapat berlangsung. Namun penghambatan reagregasi ini ternyata tidak dapat berlangsung dalam waktu yang panjang; lima jam setelah diinkubasi kembali dalam media yang mengandung Ca^{2+} , reagregasi mulai berlangsung walaupun di dalam media tetap ada peptida ADT-10. Gambar 3C menunjukkan proses reagregasi mulai berlangsung ditandai dengan mulai terbentuknya lapis tunggal

sel di dasar *well*, meskipun di latar depan masih banyak terlihat sel-sel yang mengapung dalam bentuk sel tunggal.

Ada beberapa kemungkinan yang dapat dikemukakan untuk menjelaskan hal ini. Pertama, ada kemungkinan peptida ADT-10 yang diaplikasikan mengalami degradasi setelah lebih dari lima jam berada dalam media. Degradasi peptida dapat berlangsung karena faktor-faktor fisikokimia larutan, atau dapat pula disebabkan oleh enzim-enzim yang

diproduksi oleh sel. Namun demikian, sebenarnya hal ini sudah diantisipasi dengan melindungi peptida-peptida yang disintesis, yaitu dengan asetilasi ujung amino dan amidasi ujung karboksil peptida. Namun sebagai-mana diketahui perlindungan pada kedua ujung peptida tersebut hanya efektif melindungi peptida dari efek hidrolisis oleh enzim-enzim eksopeptidase, namun tidak efektif terhadap daya kerja enzim-enzim endopeptidase.



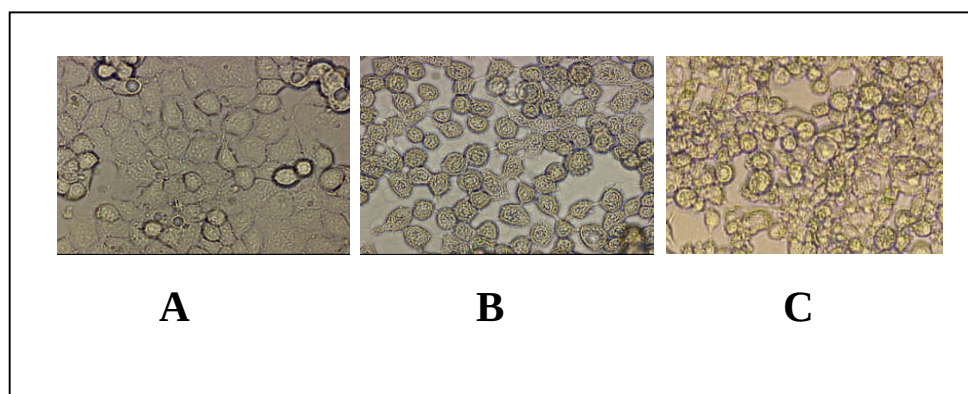
Gambar 3. Reagregasi sel-sel di dalam media yang mengandung 2 mM Ca^{2+} dan 0,74 mM Mg^{2+} dengan atau tanpa peptida ADT-10. Gambar A menunjukkan reagregasi sudah terjadi setelah 1 jam masa pemulihan, sedangkan sel pada gambar B tidak mampu melakukan reagregasi sebab di dalam media terdapat peptida ADT-10. Namun demikian, setelah lima jam pemulihan sel-sel mulai mengadakan reagregasi walaupun di dalam media terdapat peptida ADT-10 (gambar C)

Hal lain yang dapat menjadi penyebab tidak bertahannya dis-fungsi kadherin oleh perlakuan peptida adalah kemungkinan ada-nya mekanisme “*replenishment*” yang berlangsung di dalam sel. Beberapa ahli mengemukakan bahwa untuk menjaga integritas jaringan

epitel, sel-sel epitel memiliki mekanisme yang merupakan upaya untuk menjamin ketersediaan molekul-molekul kadherin di permukaan sel, yaitu di *junction* antar sel. Apabila karena sesuatu hal, molekul-molekul kadherin di permukaan sel mengalami pengurangan atau disfungsi,

maka sel akan memberikan respon biologis dengan cara memindahkan cadangan molekul-molekul kadherin di dalam sitoplasma ke permukaan sel (Shore dan Nelson, 1991). Meskipun teori ini belum

sepenuhnya terbukti, namun mekanisme tersebut mungkin saja menjadi penyebab timbulnya fenomena sebagaimana yang tampak pada percobaan ini.



Gambar 4. Peptida HAV-10 mampu menghambat reagregasi sel di dalam media yang mengandung 2 mM Ca^{2+} dan 0,74 mM Mg^{2+} (B), sedangkan dalam media tanpa peptida sel-sel sudah mengadakan reagregasi setelah sel-sel dipindahkan kembali ke dalam media yang mengandung 2 mM Ca^{2+} (A). Namun demikian setelah lima jam, tampak sel-sel mulai mengadakan reagregasi walaupun di dalam media terdapat peptida HAV-10. (Seluruh gambar direkam dengan perbesaran 400x).

Gambar 4 menampilkan efek peptida HAV-10 terhadap kemampuan reagregasi sel. Sebagaimana halnya peptida ADT-10, peptida ini pun mampu menghambat proses reagregasi sel yang sudah dipulihkan kondisinya dengan memberikan 2 mM Ca^{2+} 0,74 mM dan Mg^{2+} ke dalam media (Gambar 4B). Sebagai kontrol, pada Gambar 4A disajikan keadaan sel yang dipulihkan kondisinya dalam medium yang tidak mengandung peptida.

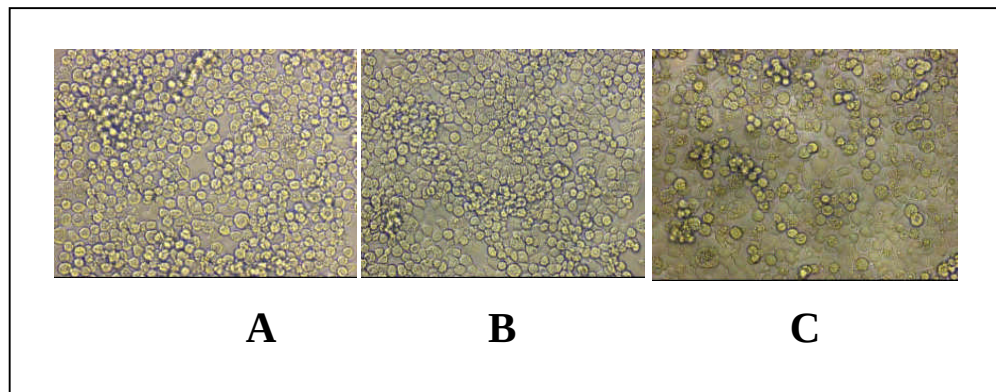
Tampak pada 90 menit masa pemulihan, sel-sel sudah mengalami reagregasi membentuk lapis sel tunggal di dasar *well* (gambar 4A). Namun demikian, seperti yang terjadi pada penghambatan reagregasi sel oleh peptida ADT-10, efek penghambatan oleh peptida HAV-10 ini pun tidak berlangsung seterusnya, lima jam setelah diinkubasi kembali dalam media

yang mengandung 2 mM Ca^{2+} dan 0,74 mM Mg^{2+} , sel-sel mulai terlihat mengadakan reagregasi (Gambar 4C).

Gambar 5 memperlihatkan bahwa peptida HAV-6 pun ternyata dapat menghambat reagregasi sel. Padahal sebagaimana yang dikemukakan dalam laporan penelitian sebelumnya, peptida ini menunjukkan aktivitas yang tidak begitu kuat dalam menurunkan nilai resistansi listrik transepitel (TEER) sel-sel MDCK. Sayangnya percobaan penghambatan reagregasi sel ini tidak bersifat kuantitatif, sehingga tidak dapat mengukur bagaimana perbandingan aktivitas penghambatan reagregasi sel dari masing-masing peptida tersebut. Namun paling tidak, dari hasil percobaan ini dapat diungkapkan bahwa peptida HAV-6, yang menunjukkan aktivitas

yang lemah pada pengujian menggunakan parameter nilai TEER, ternyata memiliki aktivitas penghambatan reagregasi sel yang cukup memadai. Ada kemungkinan, aktivitas HAV-6 lebih terlihat melalui percobaan penghambatan reagregasi ini sebab dalam percobaan ini petida kadherin bekerja terhadap junction antar sel yang belum terbentuk, sedangkan pada percobaan dengan parameter nilai TEER, peptida HAV-6 harus bekerja mengganggu *junction* yang sudah terbentuk. Dengan demikian akan lebih sukar bagi peptida HAV-10 untuk memodulasinya.

Merujuk pada hasil-hasil penelitian yang telah dilakukan oleh para peneliti lain, ternyata hasil ini konsisten dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Lutz dan kawan-kawan (Lutz dan Siahaan, 1997; Lutz, 1986). Peptida Ac-LYSHAVSSNG-NH₂ yang tidak menunjukkan aktivitas dalam menurunkan nilai TEER MDCK (Bruses, 2000; Alattia, Kurokawa, Ikura, 1999) ternyata masih menunjukkan aktivitas dalam menghambat reagregasi sel-sel BBME (Lutz dan Siahaan, 1997; Lutz, 1986), walaupun kekuatannya lebih rendah dibandingkan dengan peptida-peptida lain yang diuji.



Gambar 5. Peptida HAV-6 menghambat reagregasi sel di dalam media yang mengandung 2 mM Ca²⁺ dan 0,74 mM Mg²⁺ (A). Namun 4 jam setelahnya sel-sel sudah mengadakan reagregasi (B), dan pada lima jam masa pemulihan sudah terbentuk lapis tunggal sel yang mendekati sempurna dengan hanya sedikit sel tunggal yang masih mengapung di dalam media (C). (Seluruh gambar direkam dengan perbesaran 100x)

Lutz dan kawan-kawan melakukan kuantifikasi efek penghambatan reagregasi sel ini dan menggunakan besaran IC₅₀, yaitu konsentrasi peptida yang dibutuhkan untuk mencapai indeks agregasi 50%. Peptida Ac-LYSHAVSSNG-NH₂ memiliki IC₅₀ sebesar 31 µM, sedangkan peptida Ac-DRERIASTYTLFSHAVSS-NGNAVED-NH₂ mampu menghambat reagregasi sel BBME dengan IC₅₀ sebesar

0,008 µM setelah induksi reagregasi dilakukan selama 60 menit (Lutz et al., 1996).

Kelompok peneliti lain menguji efek penghambatan reagregasi beberapa galur sel oleh peptida LFSHAVSSNG-NH₂. Mereka melaporkan bahwa decapeptida ini mampu menghambat reagregasi sel MDCKts..srcC12 dengan I (indeks agregasi) sebesar 31 ± 4%, dan sel NM-e-

ras (berasal dari mencit) dengan I sebesar $15 \pm 2\%$ setelah induksi reagregasi selama 30 menit. Namun terhadap sel-sel yang berasal dari manusia aktivitasnya justru sedikit rendah, yaitu sebesar $47 \pm 2\%$ terhadap sel MCF-7/AZ dan sebesar $91 \pm 7\%$ terhadap sel VE-CHO C15a setelah 30 menit induksi reagregasi (Noe et al., 1999). Dalam penelitian ini juga dibuktikan bahwa peptida-yang berasal dari N-kadherin manusia, yaitu LRAHAVDING-NH₂ dan CARFHLRAHAVDINGNQVE-NG-NH₂ tidak mampu menghambat reagregasi semua galur sel yang digunakan dalam penelitian tersebut, baik yang berasal dari manusia, anjing, mencit, maupun ayam dengan I antara 84-99%. Penghambatan reagregasi dengan antibodi anti E-kadherin ternyata menghasilkan nilai I yang sangat rendah, yaitu berkisar antara 2 - 11% setelah 30 menit induksi agregasi.

Dari Gambar 5 diperoleh kesan bahwa sifat penghambatan peptida HAV-6 terhadap reagregasi sel tidak berbeda dengan peptida ADT-10 dan HAV-10. Penghambatan hanya berlaku sementara, lima jam setelah sel diinkubasi kembali dalam media yang mengandung 2 mM Ca²⁺, sel-sel sudah hampir membentuk lapis tunggal sel yang sempurna.

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil percobaan yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa peptida ADT-10, HAV-10 dan HAV-6 dapat menghambat reagregasi sel, namun penghambatan ini hanya bersifat sementara. Lebih kurang lima jam setelah perlakuan, peptida sudah tidak efektif lagi menghambat proses reagregasi sel.

Hilangnya aktivitas peptida ini diduga disebabkan beberapa hal, antara lain oleh mekanisme *cadherin-replenishment* yang memacu pemindahan molekul-molekul kadherin cadangan yang

berada di sitosol ke daerah *junction* antar sel sebagai respon biologis terhadap terjadinya disfungsi kadherin. Alasan lain yang mungkin menjadi penyebab hilangnya aktivitas peptida ini adalah kemungkinan terdegradasinya peptida di dalam media. Untuk itu disarankan melakukan penelitian lebih lanjut, agar mekanisme hilangnya aktivitas peptide setelah beberapa waktu inkubasi dapat diketahui dengan jelas.

DAFTAR PUSTAKA

- Alattia J, Kurokawa H, Ikura M. Structural view of cadherin-mediated cell-cell adhesion. *Cellular and Molecular Life Sciences* 1999, 55: 359-367.
- Blaschuck OW, Sullivan R, David S, Poulliot Y. Identification of a cadherin cell adhesion recognition sequence. *Dev Biol* 1990, 139: 227-229.
- Bruses JL. Cadherin- mediated adhesion at the inter- neuronal synapse. *Curr Opin Cell Biol* 2000, 12: 593-597.
- Koch AW, Bozic D, Pertz O, Engel J. Homophilic adhesions by cadherins. *Curr Opin Struct Biol* 1999, 9: 275-281.
- Lutz KL. Recognition of cadherin-cadherin interaction sequences. Doctoral Dissertation. The University of Kansas, 1986.
- Lutz KL, Szabo LA, Thompsons DL, Siahaan TJ. Antibody recognition of peptide sequences from the cell-cell adhesion proteins: N- and E-cadherins. *Peptide Res* 1996, Vol 9/5: 233-239.
- Lutz KL, Siahaan TJ. Modulation of the cellular junction protein E-cadherin in bovine brain microvessel endothelial cells by cadherin peptides. *Drug Delivery* 1997, 4: 187-193.

- Noe V, Willems J, Vandekerckhove J, van Roy F, Bruyneel E, Mareel M. Inhibition of adhesion and induction of epithelial cell invasion by HAV-containing E-cadherin-specific peptides. *J Cell Sci* 1999, 112: 127-135
- Pouliot Y, Holland P, Blaschuck OW. Developmental regulation of a cadherin during the differentiation of skeletal myoblasts. *Dev Biol* 1990, 141: 292-298.
- Redies C. Cadherins in the central nervous system. *Progr Neurobiol* 2000, 61: 611-648.
- Shore EM, Nelson WJ. Biosynthesis of the cell adhesion molecule uvomorulin (E-cadherin) in Madin-Darby Canine Kidney epithelial cells. *J Biol Chem* 1991, 266: 19672-19680.
- Takeichi M. Cadherins: A molecular family important in selective cell-cell adhesion. *Annu Rev Biochem* 1990, 59: 237-252.
- Takeichi M. Cadherin cell adhesion receptors as a morphogenetic regulator. *Science* 1991, 251: 1451-1455. 111
- Tepass U, Truong K, Godt D, Ikura M, Peifer M. Cadherins in embryonic and neural morphogenesis. *Nature Rev Mol Cell Biol* 2000, 1: 91-100.
- Willem J, Bruyneel E, Noe V, Slegers H, Zweysen A, Mege R, Mareel M. Cadherin-dependent cell aggregation is affected by a decapeptide derived from rat extracellular super-oxide dismutase. *FEBS Letter* 1995, 363: 289-292.