



**MODUL BIOMEDIK 1
(KES 504)**

**MODUL SESI KE-3
PROTEIN DAN ASAM NUKLEAT**

**DISUSUN OLEH
Dr. Henny Saraswati, S.Si, M.Biomed**

**UNIVERSITAS ESA UNGGUL
2021**

PROTEIN DAN ASAM NUKLEAT

A. Kemampuan Akhir Yang Diharapkan

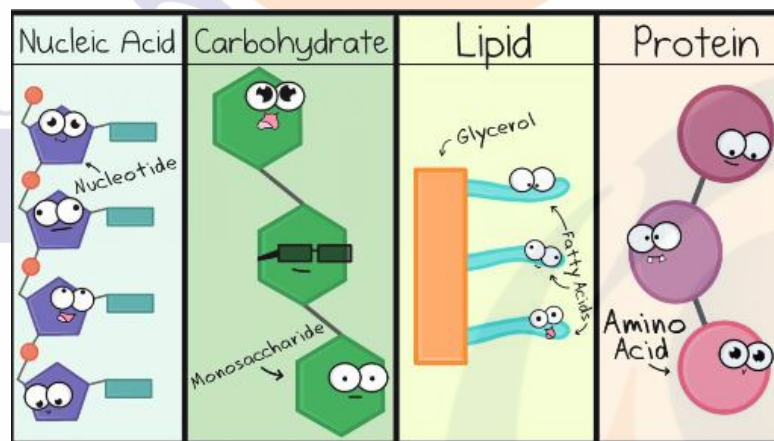
Setelah mempelajari modul ini, diharapkan mahasiswa mampu :

1. Menjelaskan struktur dan fungsi protein.
2. Menjelaskan cara kerja enzim.
3. Menjelaskan macam-macam asam nukleat.
4. Menjelaskan sintesis protein.
5. Menjelaskan penyakit defisiensi protein.

B. Uraian dan Contoh

Pada pembelajaran minggu lalu kita telah mempelajari karbohidrat dan lipid sebagai molekul kehidupan. Saat ini kita akan mempelajari bentuk molekul kehidupan yang lain, yaitu protein dan asam nukleat.

Sebagai pendahuluan, kita akan mengingat bahwa molekul kehidupan disebut juga dengan **makromolekul**. Hal ini disebabkan karena ukuran molekulnya yang besar.



Gambar 1. Beberapa molekul yang termasuk dalam makromolekul adalah asam nukleat, karbohidrat, lipid dan protein. Masing-masing tersusun atas molekul-molekul yang lebih kecil.

1. Protein

Protein di dalam tubuh organisme dikenal memiliki beberapa fungsi, antara lain sebagai **enzim** yang dapat mengkatalisis suatu reaksi kimia dalam tubuh, membentuk struktur sel dan jaringan tubuh, sebagai cadangan makanan yang dapat diubah menjadi energi, sebagai penyusun antibodi dan sitokin yang berperan dalam sistem imunitas tubuh dan berperan dalam komunikasi sel.

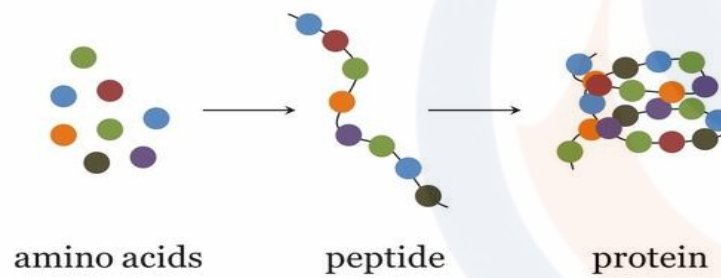
Suatu reaksi dapat dikatalisis atau dipercepat prosesnya dengan menggunakan enzim. Contoh reaksi katalis yang terjadi dalam tubuh manusia adalah proses pemecahan laktosa dari susu atau produk susu. Reaksi ini dikatalisis dengan enzim lactase. Jika seseorang tidak dapat menghasilkan enzim ini dalam tubuhnya, maka organ pencernaan tidak akan secara sempurna mencerna laktosa dan dapat mempengaruhi kesehatannya. Kondisi individu seperti ini disebut *lactose intolerant*.

Kemudian protein juga berperan sebagai komunikasi antar sel. Jadi, sel satu dengan lainnya perlu saling berkomunikasi sehingga akan menghasilkan aktivitas tubuh yang baik. Seperti contohnya pada proses pertumbuhan. Kelenjar pituitary pada otak akan mengeluarkan hormon yang memicu perbanyakan sel dan perbaikan sel, termasuk pada sel-sel tulang, sehingga terjadi proses pertumbuhan tubuh. Hormon pertumbuhan ini adalah protein yang memberikan sinyal pertumbuhan kepada sel. Nah, inilah yang disebut dengan komunikasi sel. Sel-sel dari jaringan pituitary memberikan informasi kepada sel-sel lain untuk memperbanyak diri dan juga melakukan perbaikan jika ada kerusakan.

Struktur protein

Sedemikian pentingnya fungsi dari protein, maka kita harus mempelajari molekul besar satu ini. Bagaimana dengan strukturnya? Seperti makromolekul lain, maka protein juga tersusun dari molekul-molekul kecil. Pada protein, molekul-molekul penyusunnya adalah **asam-asam amino**.

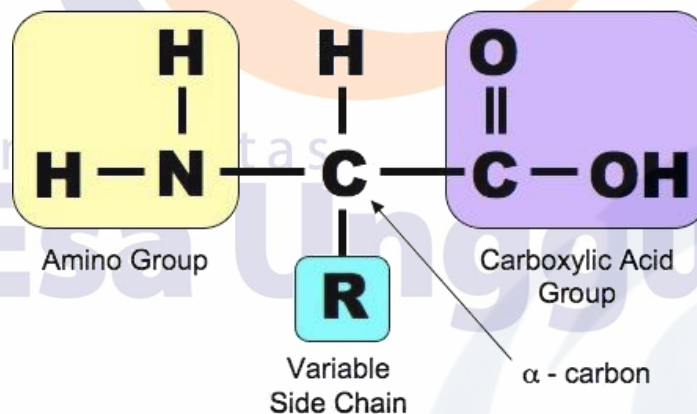
Asam-asam amino ini akan saling berikatan membentuk rantai yang panjang disebut dengan **peptida**. Dimana satu atau beberapa peptida ini akan membentuk protein (Gambar 2).



Gambar 2. Asam-asam amino akan membentuk peptida, yang kemudian akan membentuk protein.

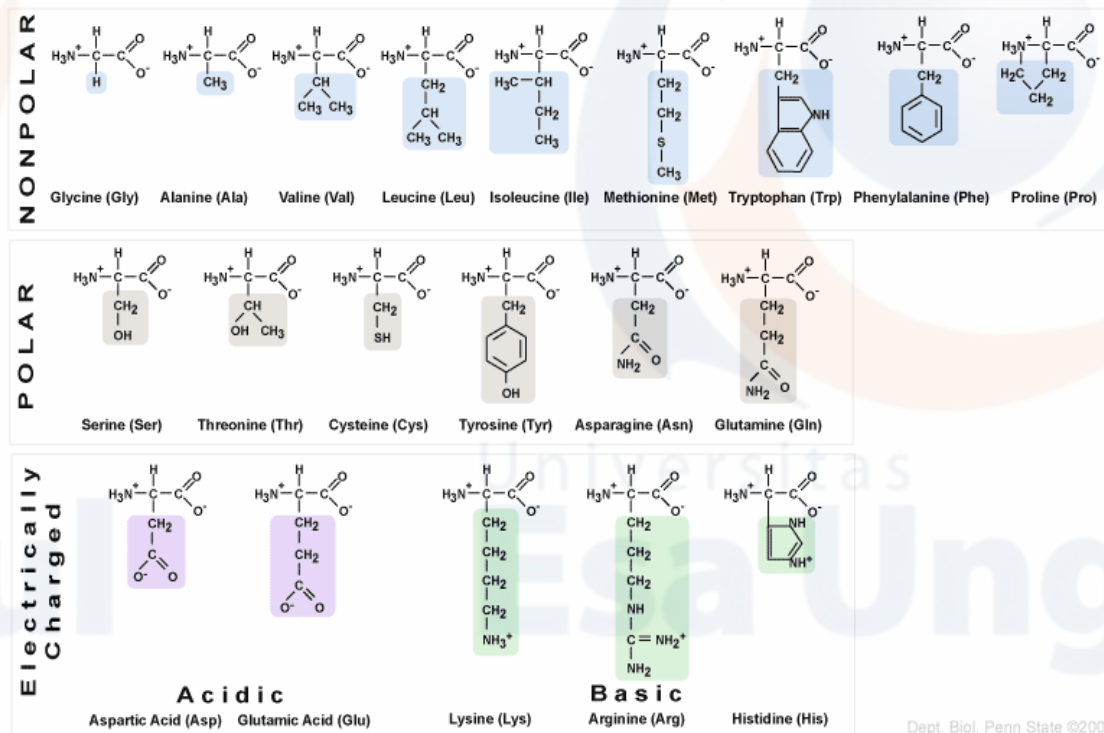
Lalu kita juga perlu mengetahui struktur molekul dari asam amino itu sendiri. Asam amino tersusun dari :

1. Gugus Karboksil
2. Gugus Amino
3. Rantai samping
4. Karbon α



Gambar 3. Struktur asam amino yang terdiri dari gugus karboksil, gugus amino, rantai samping dan atom karbon α .

Rantai samping akan bervariasi sesuai untuk setiap asam amino. Apa maksudnya? Jadi di dalam tubuh diketahui terdapat **20 jenis asam amino**. Rantai samping pada struktur asam amino ini akan berbeda untuk setiap asam amino.

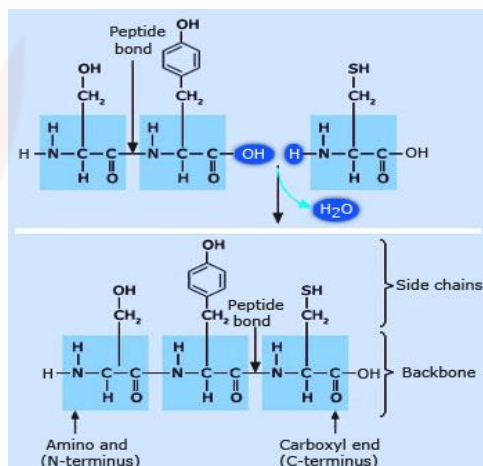


Dept. Biol. Penn State ©2002

Gambar 4. Terdapat 20 jenis asam amino yang ada di dalam tubuh organisme.

Kita bisa melihat ke-20 jenis asam amino yang ada di dalam tubuh organisme pada gambar 4. Terdapat glisin, alanin, valin dan lain-lain. Anda juga dapat melihat perbedaan rantai samping untuk setiap asam amino (berwarna hijau, ungu atau coklat muda). Sangat bervariasi bukan?

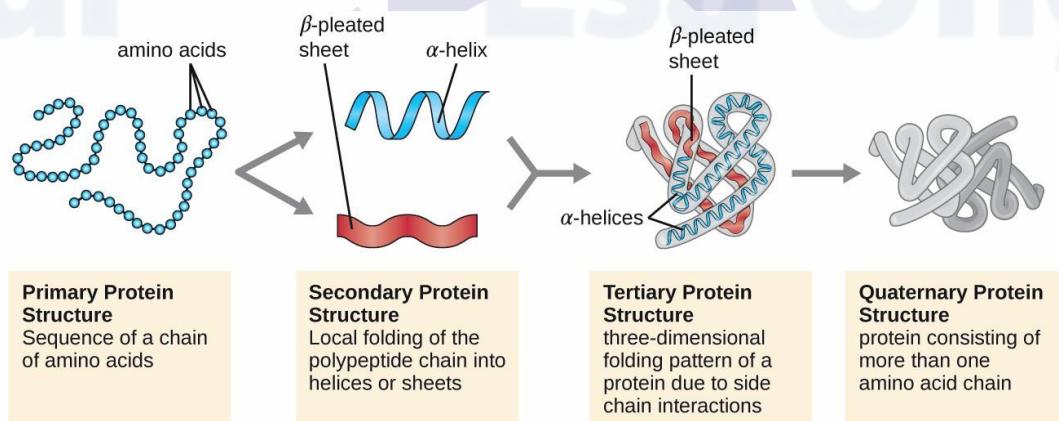
Asam-asam amino ini dapat saling berikatan membentuk rantai yang panjang (polimer) disebut **polipeptida**. Proses pembentukan polimer ini melalui reaksi dehidrasi dan ikatan yang terjadi antara asam amino satu dengan yang lain adalah **ikatan peptida**.



Gambar 5. Reaksi dehidrasi akan membentuk polipeptida. Ikatan yang terjadi antar asam amino adalah ikatan peptida.

Tingkatan Bentuk Protein

Agar protein ini dapat berfungsi, maka protein ini akan menjadi struktur yang lebih kompleks. Tadi kita mengenal protein dalam bentuk polipeptida. Ini adalah **struktur primer**. Kemudian beberapa polipeptida akan membentuk struktur α -helix dan β -sheets yang kita sebut dengan **struktur sekunder**. Antara rantai samping-rantai samping beberapa nukleotida yang membentuk polipeptida dapat saling berikatan, sehingga akan membentuk **struktur tersier**. Selain itu, beberapa protein tersusun atas lebih dari satu polipeptida yang disebut dengan sub unit. Beberapa sub unit ini akan membentuk protein yang fungsional. Bentuk protein ini disebut dengan **struktur kuartener**.

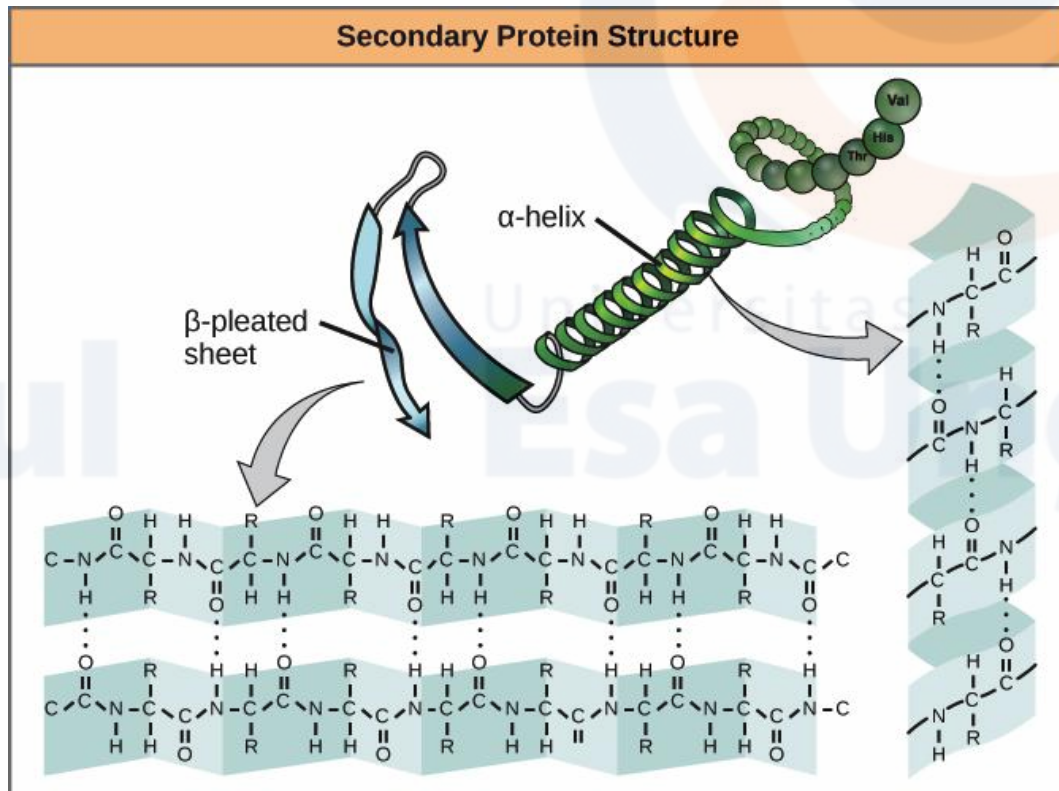


Gambar 6. Tingkatan struktur protein terdiri dari struktur primer, sekunder, tersier dan kuartener.

Struktur α -helix bisa terjadi ketika ada ikatan hidrogen antara gugus karboksil ($C=O$) dari nukleotida satu dengan gugus amino ($N-H$) dari nukleotida lain. Letak nukleotida-nukleotida yang saling berikatan ini dekat. Sehingga akan membentuk untai yang berulir (Gambar 7). Sedangkan bentuk β -sheet terjadi jika ada 2 rantai polipeptida yang letaknya berdekatan dan membentuk ikatan hidrogen antara gugus karboksil dan aminonya (Gambar 7).

Selain strukturnya, protein juga dapat dibedakan berdasarkan fungsinya. Protein ada di tubuh organisme dengan bermacam-macam fungsi, seperti sebagai biokatalis (berupa enzim), membentuk struktur tubuh organisme dan lain-lain.

Sehingga protein dapat dibedakan berdasarkan jenisnya seperti protein enzim, protein structural, protein transport dan lain-lain. Silakan melihat Tabel 1.



Gambar 7. Struktur α -helix dan β -sheet pada struktur sekunder protein (sumber: www.khanacademy.org).

Tabel 1. Jenis-jenis Protein.

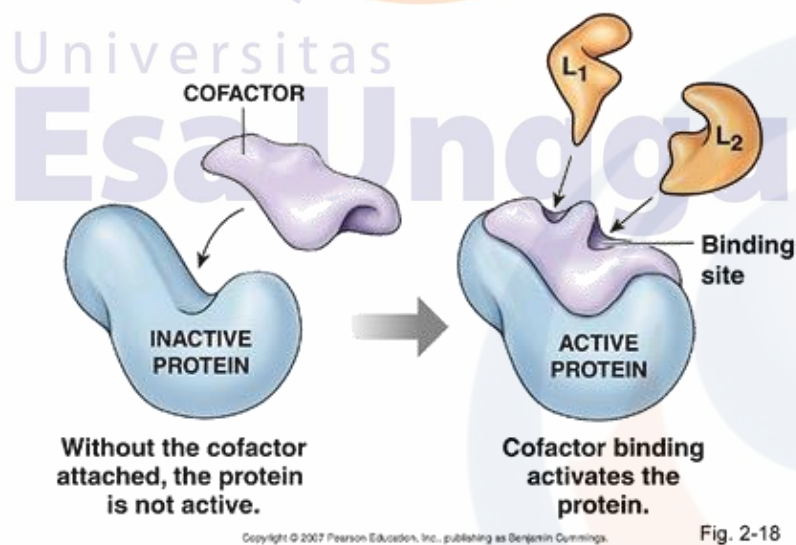
FUNGSI	JENIS	CONTOH
Katalitik	Enzim	Lipase, Protease, Isomerase, Papain
Struktural	Protein struktural	Kolagen (pengikat jaringan dan tulang); α -Keratin (rambut, kulit); Elastin, Fibroin (serat sutra), Proteoglikan.
Penyimpanan (zat makanan)	Protein transport	Kasein (susu); Ovalbumin (telor); Feritin (penyimpan besi); Gliadin (gandum), dll
Pengangkutan (zat makanan)	Protein transport	Serum Albumin (asam lemak), Hemoglobin (oksigen), Lipoprotein (lipid)
Motil (mekanik)	Protein Kontraktil	Aktin, Miosin (otot), Tubulin, Kinesin

Pengatur/ regulator (metabolisme)	Protein Hormon	Insulin; Hormon tumbuh; Represor (mengatur biosintesis enzim); Hormon Paratiroid (mengatur transport Ca^{2+})
Perlindungan (kekebalan, darah)	Antibodi Protein Penggumpal	Imunoglobulin, vaksin Fibrinogen, Trombin
Tanggap toksik	Protein Toksin	Bisa ular, toksin bakteri (bortulisme, difteri); Risin (tumbuhan beracun)

Enzim

Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, bahwa enzim adalah protein. Struktur enzim ini dapat dilengkapi dengan ko-faktor yang berupa molekul organik dan ion logam. Fungsi dari ko-faktor ini adalah membantu enzim dalam proses katalis suatu reaksi, yaitu mempercepat reaksi kimia yang sering terjadi di dalam tubuh makhluk hidup. Sehingga dengan adanya ko-faktor ini protein akan aktif sebagai enzim. Jika tidak, maka enzim akan tidak aktif.

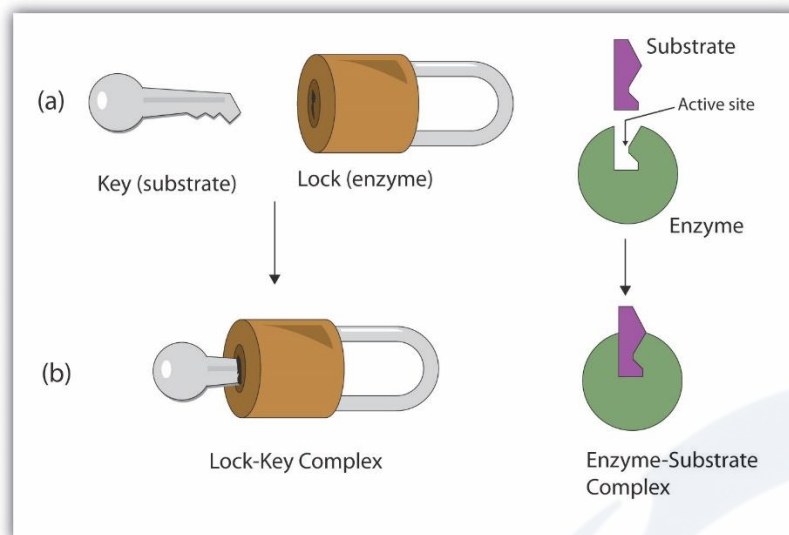
Enzim bekerja secara spesifik terhadap substratnya. Apa itu substrat? Substrat adalah bahan yang akan diubah oleh enzim, contohnya enzim lipase akan bekerja pada lipid (substrat). Selain spesifik terhadap substrat, enzim juga akan menghasilkan produk yang spesifik. Contohnya pada lipase tadi akan memecah lipid menjadi asam lemak dan gliserol (produk).



Gambar 8. Enzim akan aktif jika berikatan dengan ko-faktor yang membantunya dalam proses katalis suatu reaksi.

Spesifikasi kerja enzim sering disebutkan seperti mekanisme kunci dan gembok (*key and lock*). Kalian kemungkinan besar sudah tahu bagaimana cara kerja kunci dan gemboknya dalam kehidupan sehari-hari bukan? Bagaimana prinsip kerjanya? Ya, kunci gembok hanya akan dapat membuka gembok tertentu saja. Tidak dapat digunakan untuk membuka semua gembok. Hal ini terjadi karena gembok dan kuncinya harus memiliki pola kunci yang sama. Jika berbeda, maka kunci tidak akan dapat membuka gembok.

Seperti itu juga prinsip kerja enzim. Molekul ini hanya akan bekerja pada substrat tertentu. Tidak akan dapat bekerja pada substrat yang lain. Contohnya lipase memiliki substrat lipid. Lipase akan bekerja memecah lipid. Enzim ini akan bekerja hanya pada lipid, tidak pada substrat lain seperti karbohidrat atau protein misalnya. Hal ini dikarenakan enzim dan substratnya memiliki pola daerah pengikatan yang sama.

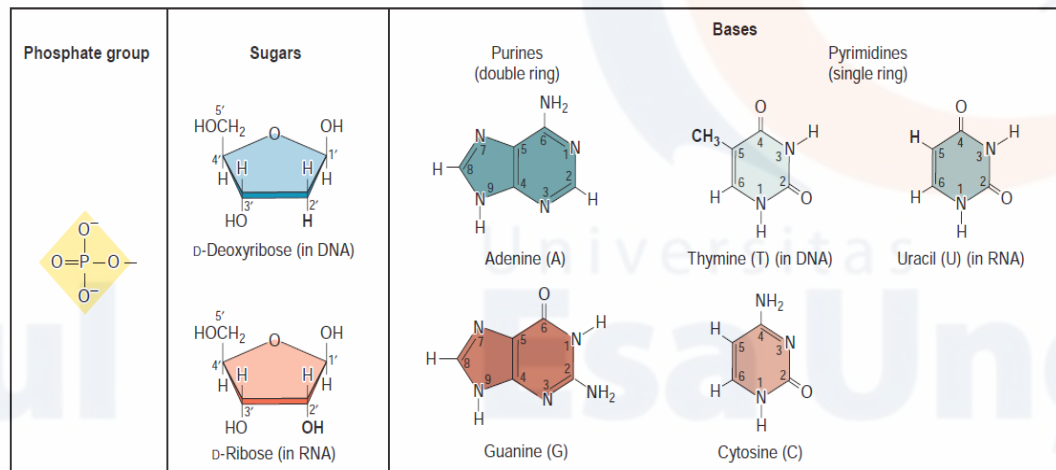


Gambar 9. Enzim memiliki prinsip kerja seperti kunci dan gembok, spesifik terhadap substrat tertentu.

2. Asam Nukleat

Asam nukleat dalam organisme terdapat dalam bentuk DNA (*Deoxyrinobonucleic Acid*) dan RNA (*Ribonucleic Acid*). Molekul asam nukleat tersusun dari polimer **nukleotida** yang panjang (polimer nukleotida). Nah, satu molekul nukleotida ini sendiri tersusun atas :

1. Gugus fosfat,
2. Gula,
3. Basa nitrogen.



Gambar 10. Molekul-molekul penyusun nukleotida, yaitu fosfat, gula dan basa-basa nitrogen.

Jika kita liha pada gambar 10, terlihat bahwa basa-basa nitrogen itu ada beberapa macam. Antara lain **Adenin (A)**, **Timin (T)** atau **Urasil (U)**, **Guanin (G)** dan **Sitosin (C)**. Basa-basa nitrogen ini dapat dikelompokkan menjadi 2 kelompok besar, yaitu :

1. **Purin**, terdiri dari adenin dan guanin.
2. **Pirimidin**, terdiri dari timin, sitosin dan urasil.

Molekul DNA

Molekul DNA di dalam sel kita merupakan pembawa informasi genetik dari suatu organisme. Informasi genetik ini kita kenal dengan nama **gen**. Molekul DNA bisa tersusun dari ribuan hingga puluhan ribu gen yang diturunkan dari kedua orang tua yaitu ayah dan ibu. Manusia sendiri diketahui memiliki 20.000 -25.000 gen yang mencirikan individu tersebut. Gen bisa mencirikan warna rambut, warna kulit, tinggi badan, bentuk alis dan lain-lain yang diwariskan dari kedua orang tua. Gen atau DNA merupakan polimer nukleotida yang tersusun dari beberapa basa

nitrogen yaitu adenin, guanin, timin dan sitosin. Kode-kode basa-basa nitrogen inilah yang merupakan kode genetik pada DNA. Perhatikan gambar berikut.

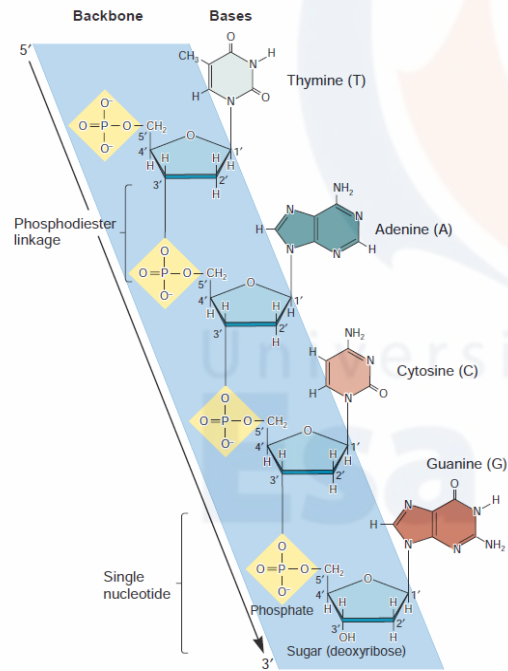
```
>NC_000018.10:c63320280-63123346 Homo sapiens chromosome 18, GRCh38.p13 Primary Assembly
GAGGGGGCGGTGGGTGCTCAGAGGAGGGCTCTTTCTTTCTTTTGAATGAACCGTGTGACGTT
ACGCACAGGAAACCGGTGGGTGTCAGAGAATGAAGTAAGAGGACAGGCACCACAGCCCCGCTCCCGC
CCCCCTCTCCCGCGCCCGCCCTCCGCGCGCTGCCGCGCCCGCGCGCTCCCGCGCGCGCTCT
CCGTGGCCCGCGCGCTGCGCGCGCGCGCTGCGAGGAAGGTGCCGGGGCTCCGGGCCCTCCCTGCC
GGCGGCGCTCAGCGCTCGAGCGGGCTGCGCGCGGGAGCTCCGGGAGGCGGCGTAGCCAGCGCGCGC
CGCAGGACAGGAGGAGGAGAAAGGGTGCAGCGCGGAGGCGGGTGCAGCGGTGGGGTGCAGCGGAAG
AGGGGGTCCAGGGGGGAGAACTTCGTAGCAGTCATCTTTTATGAAAAAGGGAAAAATAAACCTC
CCCCACCCTCTCTCCACCCCTCGCGCACACACAGCGCGGGCTTAGCGCTCGGCACCGG
CGGGCCAGGCGCGCTCGCTTCATTATCCAGCAGCTTTTCGAAAAATGCATTGCTGTTCCGAGTTTA
ATCAGAAGAGGATTCCTGCCCTCCGTCGCCGCTCTTCATCGTCCCTCTCCCTGTCTCTCTCTGGG
AGGCGTGAAGCGGTCCCGTGGATAGAGATTATGCTGTGCCGCGCGTGTGCGCGCGTGAATATGC
CGAGAAGGGGAAACATCACAGGACTTCGCGAATACCGACTGAAAATTGTAATCATCTGCCGCGC
GCTGCCTTTTTTTTCTCGAGCTCTGAGATCTCCGGTTGGGATTCTGCGGATTGACATTTCTGTGAA
GCAGAAGTCTGGGAATCGATCTGGAATCCTCCTAATTTTACTCCCTCTCCCGCGACTCCTGATTCAT
TGGGAAGTTTCAATCAGCTATAACTGGAGAGTGCTGAAGATTGATGGGATCGTTGCCTTATGCAATTTGT
TTTGGTTTTACAAAAAGGAACTTGACAGAGGATCATGCTGACTTAAAAATACAAGTAAGTTCTCTGC
ACAGGAAATTTGTTTAAATGTAATTTCAATGGAAACCTTTGAGATTTTTTACTTAAAGTGCTTCGAGTA
AATTTAATTTCCAGGAGCTTAATACATCTTTTATGCGGTGTTAGTGTGTATGCCCTGCTTTC
ACTCAGTGTGTACAGGGAACGCACCTGATTTTTTACTATTAGTTTGTTTTTCTTTAACCTTTCAGCA
TCACAGAGGAAGTAGACTGATTAACAATACTTACTAATAAACGTGCCCTATGAATAAAGATCCGA
AAGGAATTGGAATAAAATTTCTGCATCTCATGCCAAGGGGGAACACAGAAATCAAGTGTTCGCGTG
ATTGAAGACACCCCTCGTCCAAGATGCAAGCACATCCAATAAATAGCTGGATTATAACTCCTCTTC
TTTCTCTGGGGCGTGGGGTGGGAGCTGGGGCGAGAGGTGCCGTTGCCCGCGTGTCTTCTCTGGG
AAGGATGGCGCAGCTGGGAGAACAGGGTACGATAACCGGGAGATAGTGATGAAGTACATCCATTATAAG
```

Gambar 11. Kode genetik pada gen BCL-2 manusia (sumber: www.ncbi.nlm.nih.gov).

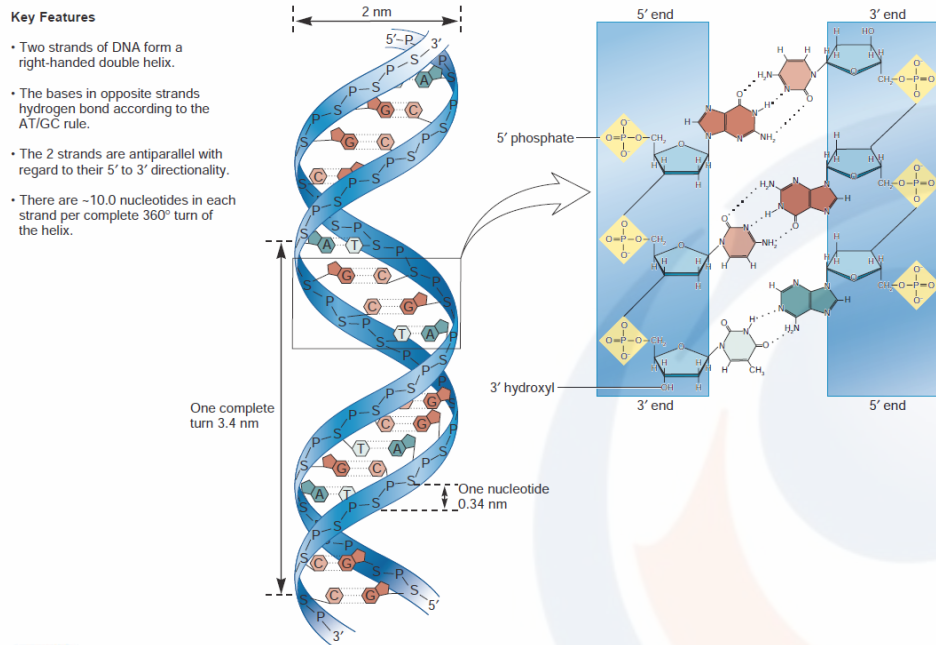
Pada gambar 11 terlihat adanya kode-kode A, C, G dan T yang berulang-ulang. Inilah yang disebut dengan kode genetik yang kita kenal dari susunan basa-basa nitrogennya, seperti A merujuk pada adenin, C pada sitosin, G pada guanin dan T pada timin. Jadi seperti inilah kode gen di dalam sel kita. Pada gambar di atas adalah Sebagian kode genetik yang terdapat pada gen BCL-2 manusia. Gen ini berperan dalam pengaturan proses apoptosis sel (kematian sel). Kerusakan pada gen ini bisa berpengaruh pada proses kematian sel sehingga dapat berperan dalam kejadian penyakit kanker. Apakah kalian sudah bisa membayangkan bentuk gen kita?

Kembali kepada molekul DNA yang kita bahas sebelumnya. Molekul DNA merupakan polimer nukleotida yang panjang. Perhatikan gambar 12. Pada gambar tersebut terdapat beberapa nukleotida yang saling berikatan membentuk polimer panjang. Terdapat ikatan antara satu nukleotida dengan nukleotida lain, yang disebut dengan ikatan fosfodiester. Ikatan ini terjadi antara molekul gula pada

nukleotida satu dengan gugus fosfat pada nukleotida lainnya. Ikatan gula-fosfat akan membentuk *backbone* (tulang punggung) dengan basa nitrogen di sisi lain.



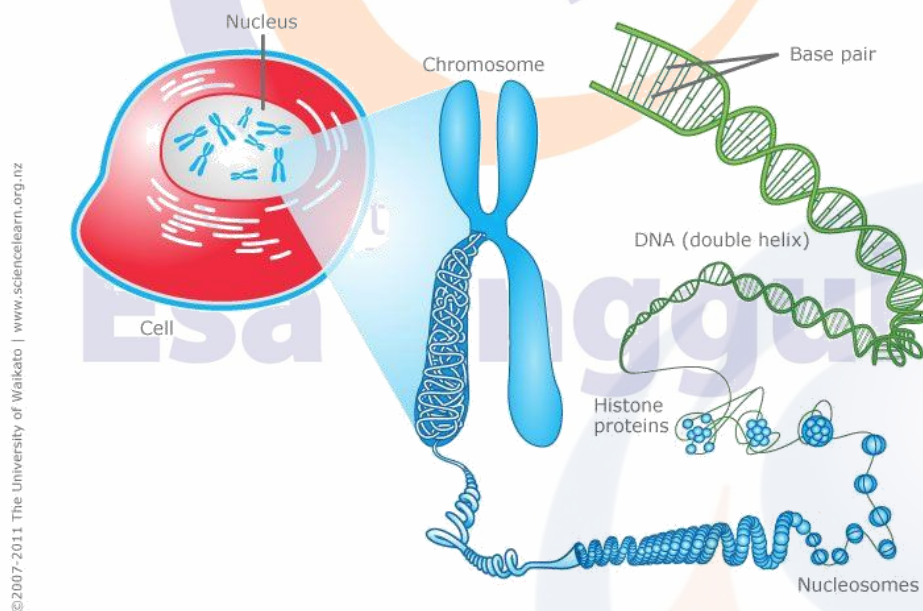
Gambar 12. Satu untai DNA yang tersusun dari polimer nukleotida yang saling berikatan dengan ikatan fosfodiester.



Gambar 13. Molekul DNA pada inti sel berbentuk untai ganda (*double helix*).

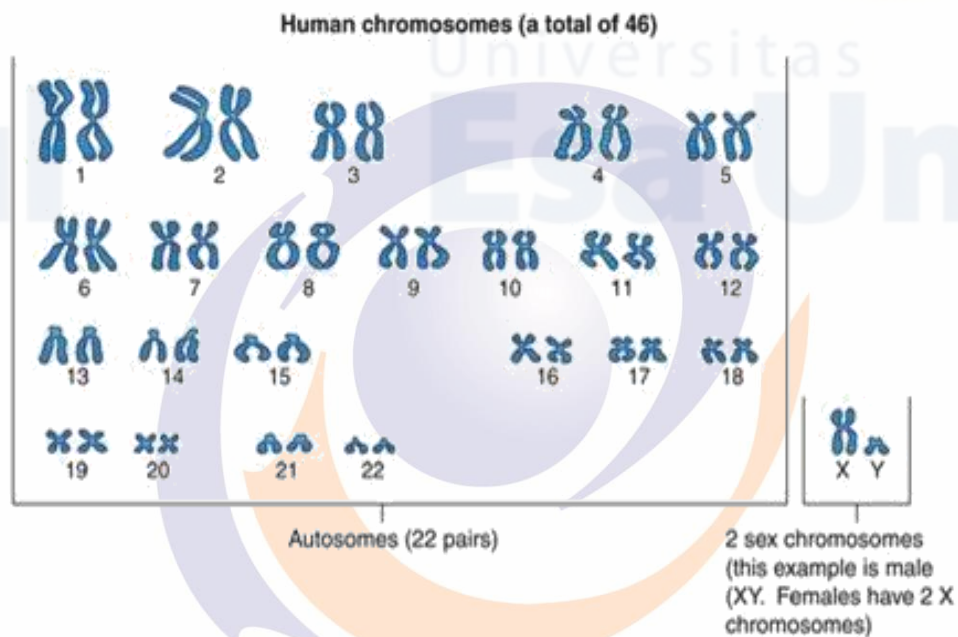
Di dalam inti sel, DNA ini tersusun dari dua untai yang berpilin yang disebut dengan DNA untai ganda (*double helix*) (gambar 13). Antara untai yang satu dengan untai yang lain akan terikat pada basa-basa nitrogennya yang saling berpasangan. Jadi basa nitrogen Adenin (A) akan selalu berikatan dengan basa nitrogen Timin (T), dan basa Guanin (G) akan selalu berikatan dengan sitosin (C). Mengapa bisa terbentuk struktur yang berpilin? Hal ini karena adanya sifat hidrofobik dan hidrofilik pada molekul DNA. Basa-basa nitrogen bersifat hidrofobik sedangkan backbone bersifat hidrofilik. Sehingga basa-basa nitrogen ini akan terletak di bagian dalam, menghindari kontak langsung dengan molekul air yang banyak terdapat di dalam inti sel.

Karena tersusun dari puluhan, ratusan bahkan jutaan kode genetik, maka DNA akan terbentuk seperti pita yang sangat panjang. Namun, bagaimana bisa DNA ini terdapat di dalam inti sel yang sangat kecil? Jawabannya adalah dengan membentuk *supercoil*. Jadi bersama dengan protein histon, DNA akan terkemas lebih kompak, membentuk kromosom dan bisa masuk ke dalam inti sel. Perhatikan gambar berikut.



Gambar 14. Molekul DNA akan terkemas bersama dengan histon membentuk struktur yang kompak disebut kromosom dan dapat masuk ke dalam inti sel.

Tahukah kalian ada berapa kromosom dalam sel manusia? Jawabannya adalah 46 kromosom atau 23 pasang kromosom. Makhluk hidup lain ada yang jumlah kromosomnya kurang dari ini, bahkan lalat buah hanya memiliki 8 pasang kromosom. Kromosom pada manusia bisa dibedakan menjadi 22 pasang kromosom tubuh (autosom) dan 1 pasang kromosom kelamin (*sex chromosome*). Pada Wanita kromosom kelaminnya ada XX sedangkan pada pria kromosom kelaminnya adalah XY.

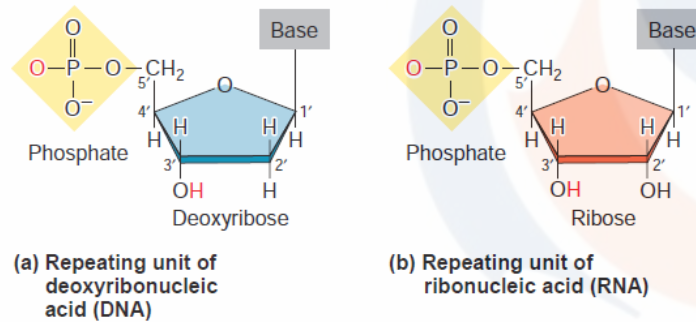


Gambar 15. Kromosom manusia ada 46 kromosom terdiri dari 22 pasang autosom dan 1 pasang *sex chromosome*.

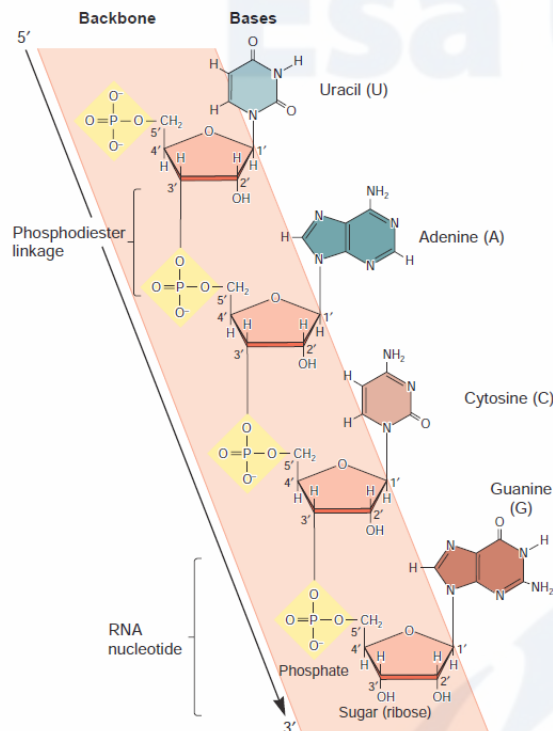
Molekul RNA

Molekul RNA juga merupakan asam nukleat. Perbedaannya dengan molekul DNA terletak pada jenis gula dan salah satu basa nitrogen penyusunnya. Pada RNA gula penyusunnya adalah ribosa. Masih ingatkah kalian pada pembelajaran minggu lalu, termasuk golongan manakah ribosa ini, monosakarida, disakarida atau polisakarida?

Perbedaan lain RNA dibandingkan dengan DNA adalah jumlah untainya. Jika DNA beruntai ganda, maka RNA memiliki bentuk untai tunggal.

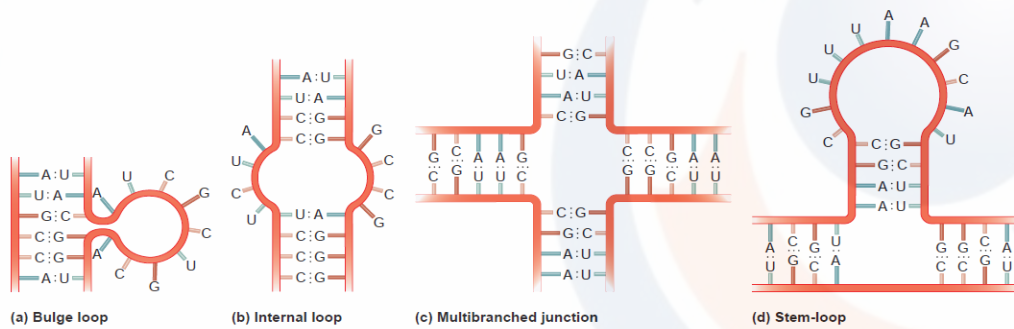


Gambar 16. Perbedaan jenis gula penyusun DNA (a) dengan RNA (b).



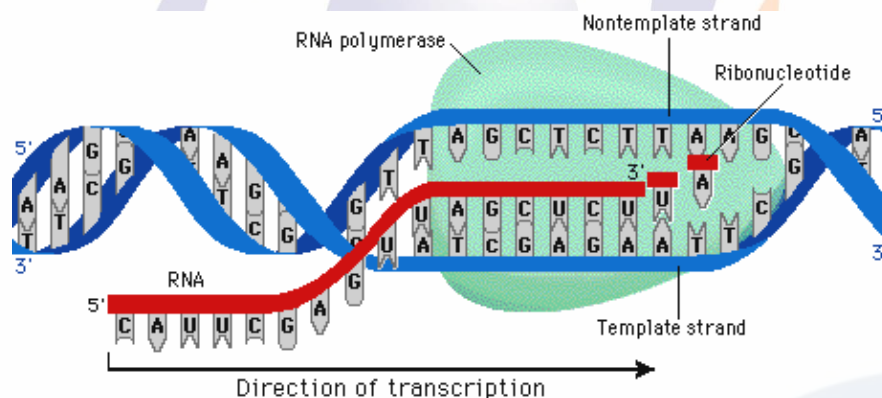
Gambar 17. Molekul RNA terdapat dalam bentuk untai tunggal di dalam sel.

Meskipun terdapat dalam bentuk untai tunggal, namun antara basa-basa nitrogen untai ini bisa juga saling berpasangan dan berikatan. Sehingga akan menghasilkan bentuk-bentuk yang khas. Tahukah kalian darimanakah RNA ini terbentuk? Molekul ini terbentuk dari hasil penerjemahan kode-kode genetik DNA. Artinya akan terbentuk nukleotida baru yang berpasangan dengan basa nitrogen DNA. Proses ini disebut dengan proses transkripsi.



Gambar 18. Beberapa bentuk RNA di organisme.

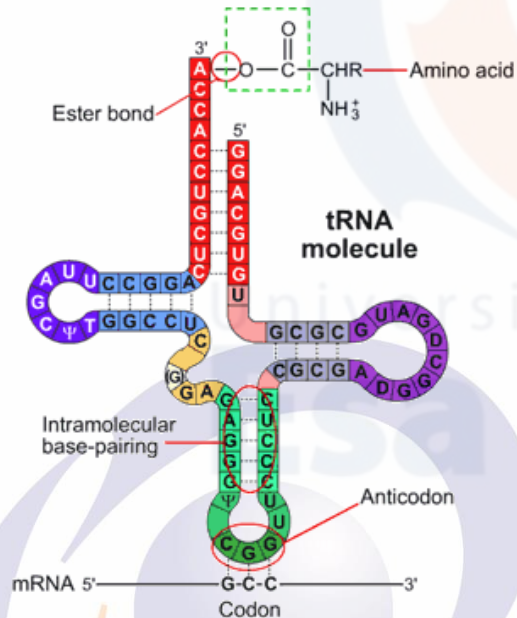
Proses transkripsi dapat dilihat pada gambar 19. Dimana pada gambar tersebut terlihat bahwa RNA (warna merah) terbentuk dari hasil penterjemahan kode genetik DNA. Jenis RNA yang dihasilkan dari proses transkripsi adalah **mRNA (messenger RNA)**. Untuk lebih jelasnya kalian dapat melihat video 1 yang terdapat pada e-learning.



Gambar 19. Proses transkripsi membentuk RNA.

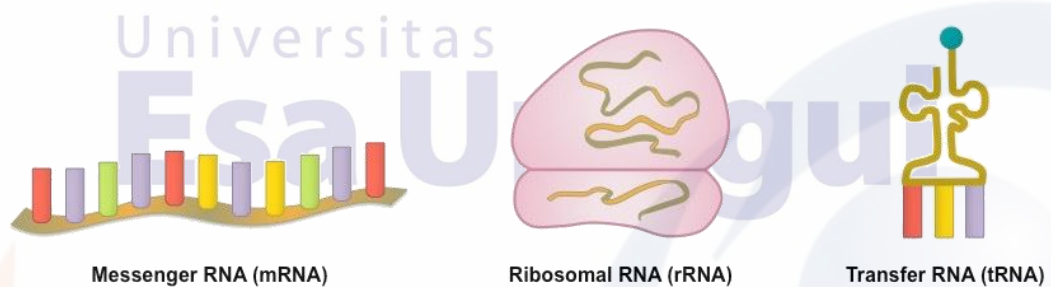
Bentuk molekul RNA lainnya adalah **tRNA (transfer RNA)** yang membawa asam amino dan penting dalam proses sintesis protein. Proses ini disebut dengan translasi. Untuk proses translasi ini dapat kalian lihat di video 2 pada e-learning. Molekul tRNA ini secara spesifik hanya membawa 1 asam amino. Sehingga ada tRNA yang membawa glisin, ada yang membawa adenin dan lain-lain. Jenis asam amino yang dibawa ini sesuai dengan kode antikodon pada tRNA, dimana antikodon ini berpasangan dengan kodon di mRNA (gambar 20).

Selain itu RNA juga merupakan penyusun organel ribosom yang disebut dengan rRNA (*ribosomal RNA*). Ribosom merupakan organel yang sangat penting dalam proses translasi.



Gambar 20. Struktur tRNA yang membawa asam amino.

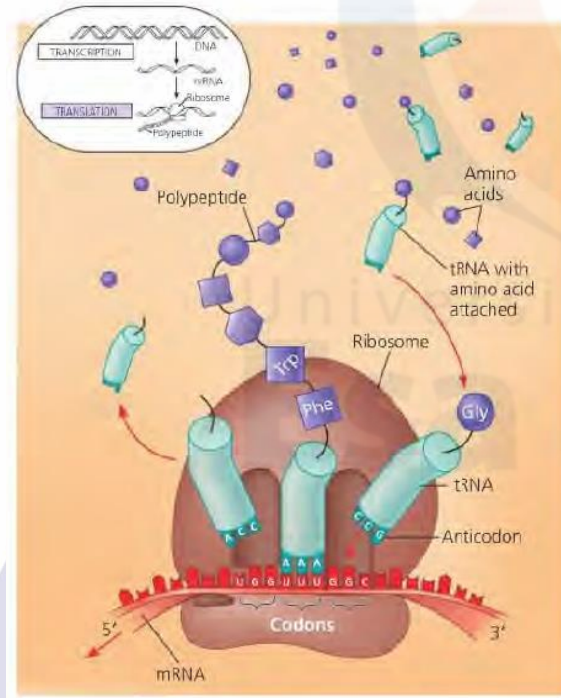
Jadi RNA ini ada beberapa bentuk, yaitu mRNA, tRNA dan rRNA yang kesemuanya penting dalam proses transkripsi dan translasi.



Gambar 21. Bentuk-bentuk RNA dalam organisme.

Translasi yang berperan dalam sintesis protein dimulai ketika mRNA keluar dari sitoplasma menuju ke ribosom. Pada ribosom ini, kode-kode genetik pada kodon mRNA akan diterjemahkan oleh tRNA yang membawa asam-asam amino. Proses pembentukan protein akan terjadi dengan pemanjangan rantai asam-

asam amino sesuai dengan kode yang dibawa oleh mRNA. Rantai asam-asam amino yang panjang ini disebut dengan protein.



Gambar 22. Proses translasi yang menghasilkan protein.

Dari paparan di atas, kita mengetahui beberapa peran atau fungsi dari sam nukleat, yaitu :

- Berperan dalam pembentukan/sintesis protein
- Membawa kode genetik yang diwariskan
- Mengkode gen-gen yang diperlukan dalam aktivitas organisme
- Sebagai tambahan, di dalam bidang bioteknologi dapat dimanfaatkan dalam pembuatan vaksin, rekayasa genetika dan terapi gen

C. Latihan

- a. Apa yang menyusun protein?
- b. Ikatan apa yang terjadi asam amino satu dengan yang lain?
- c. Struktur DNA dalam sel dalam bentuk

D. Kunci Jawaban

- a. Asam amino.
- b. Ikatan peptida.
- c. Untai ganda (*double helix*).

E. Daftar Pustaka

- 1. Reece, J.B et al. Campbell Biology. 6th Ed. Benjamin Cummings. Boston. 2011.