

REKAYASA GENETIKA

Oleh

Alphonsus R. Quendangen *)

PENDAHULUAN.

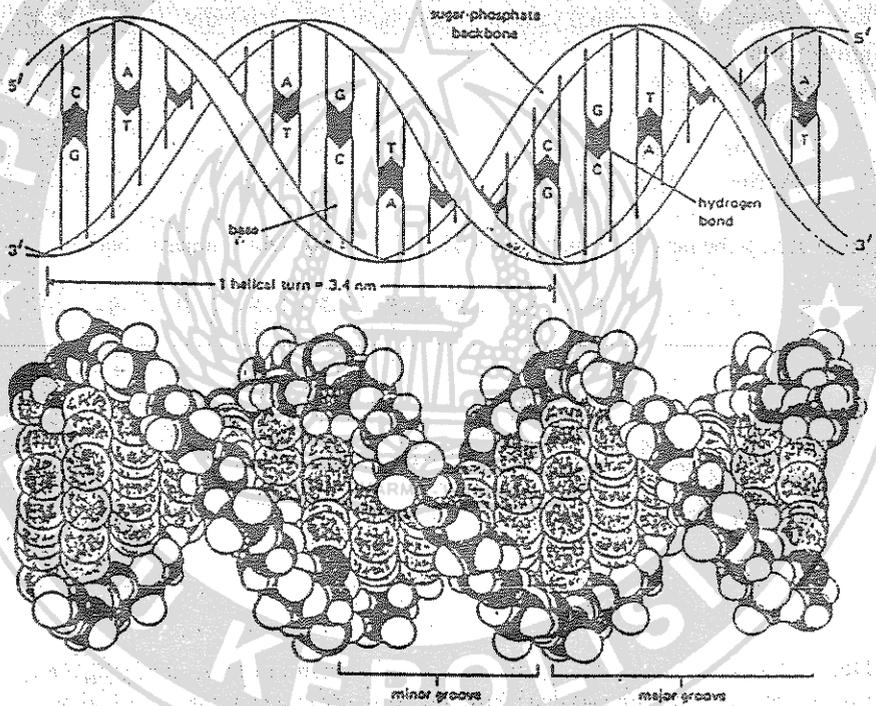
Seperti telah kita ketahui bersama, sifat-sifat suatu makhluk (termasuk manusia), diturunkan melalui apa yang disebut sebagai gen. Gen ini terangkai dalam suatu susunan benang DNA genom, yang terdapat di dalam inti sel. Gen-gen ini ternyata mempunyai peranan yang sangat besar di dalam menentukan bentuk kehidupan. Tubuh manusia, misalnya, mempunyai Gen yang sangat banyak, yang masing-masing mempunyai tugasnya sendiri-sendiri. Suatu perubahan kecil (mutasi) dari susunan kimia suatu Gen, dapat menyebabkan perubahan fungsi yang besar, atau hal yang tidak diinginkan pada individu tersebut, misalnya terjadi cacat tertentu seperti ketulian, jari berlebih, dan lain-lain. Kelainan yang timbul bergantung pada Gen mana yang mengalami mutasi.

Apabila mutasi ini bersifat tetap, dan dibawa pada saat diturunkan, maka cacat tersebutpun akan muncul pada keturunannya. Pada penelitian lebih lanjut, ditemukan bahwa susunan kimia Gen-Gen pada manusia, hewan, tumbuhan, bahkan pada kuman, sebenarnya terdiri dari unsur-unsur yang sama. Namun kombinasi unsur-unsur tersebut dalam satu Gen, dan kombinasi Gen-Gen dalam DNA sel ini adalah berlainan, sehingga terbentuk makhluk yang berlainan. Dengan tehnik laboratorium yang khusus, para ahli telah dapat memotong Gen tertentu, dan memindahkannya pada individu lain untuk di teliti sifat-sifatnya. Pemotongan Gen dan memasukkannya pada individu lain ini dapat dilakukan dengan suatu proses yang disebut kloning Gen (Gene cloning). Dalam tulisan ini, akan digambarkan secara singkat mengenai DNA, Gene, dan kloning Gene, sebagai suatu bahan pengetahuan umum.

*) Drg. Kapten Pol. Kasubbagastik Bagren Disdokkes Polri.

DNA:

Deoxyribo nucleic acid diketahui merupakan unsur yang sangat penting dalam inti sel, yang membawa sifat-sifat manusia/makhluk. DNA ini sebenarnya merupakan sepasang benang yang sangat panjang, yang berputar pada sumbu antaranya dan berbentuk Helix, sehingga ia disebut "Double Helix". Karena sangat panjang dan mudah putus, maka ia dilindungi oleh lingkaran/cincin-cincin protein.



Gambar Double Helix DNA.

Setiap benang DNA ini bila kita teliti lebih lanjut, sebenarnya terdiri atas 3 unsur utama, yaitu :

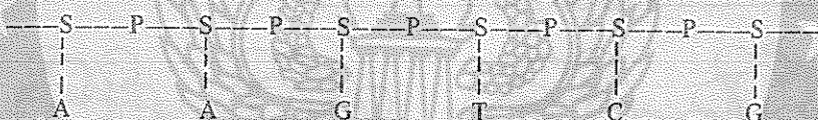
- Gula pentosa: Deoxy ribosa.
- Phosphat.
- Basa terminal.

Ketiga unsur ini saling berkait membentuk rantai yang panjang, yaitu satu benang DNA.

Unsur phosphat dan Deoxy ribosa akan terus berulang dalam rangkaian tersebut, namun basa terminal yang ada, akan bervariasi, dan hanya terdiri dari 4 jenis, yaitu :

- Adenine (A)
- Guanine (G)
- Thymine (T)
- Cytosine (C)

Jadi setiap benang mempunyai rangkaian kurang lebih sebagai berikut :

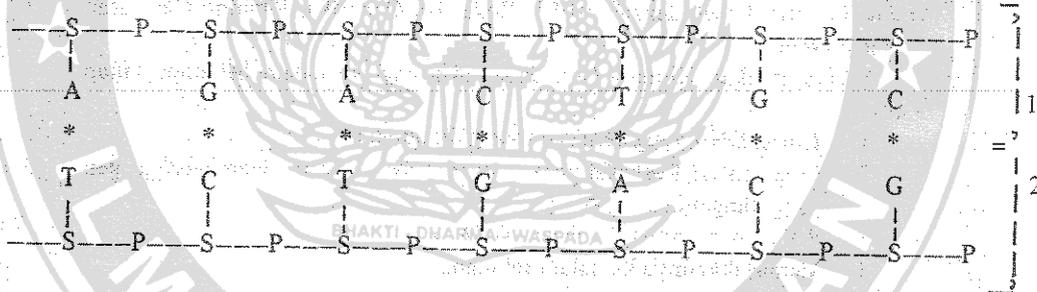


- S = Sugar (Pentosa/Deoxy ribosa)
- P = Phosphat
- A/G/T/C = Basa Terminal

Dalam bentuk di atas, dapat terlihat bahwa rangkaian terutama di pegang oleh unsur sugar (Deoxy ribosa) dan phosphat, sedangkan unsur basa terminal berpegang pada rangkaian unsur sugar-phosphat tadi. Oleh karena itu, hubungan sugar-phosphat ini sering di sebut sebagai tulang punggung DNA (DNA backbone). Urutan basa terminal (A,G,T,C) dalam suatu rangkaian adalah amat bervariasi. Susunan sejumlah basa terminal yang urutannya bervariasi inilah yang membentuk Gen. Suatu Gen yang mempunyai tugas/fungsi yang sama, akan mempunyai jumlah dan urutan basa terminal (AGTC) yang sama pula. Gen-Gen ini pun kemudian terangkai dalam satu rangkaian benang DNA.

Setiap benang DNA akan selalu mempunyai pasangannya yang melekat padanya. Pasangan kedua benang DNA tersebut, akan selalu berikatan dengan hubungan tertentu, dimana G pada benang yang satu akan selalu terikat/berpasangan dengan C pada benang yang lainnya, sedangkan A pada benang yang satu, akan selalu berpasangan dengan T pada benang yang lainnya. Dengan demikian, bila susunan basa terminal pada satu benang DNA diketahui urutannya, maka urutannya basa terminal pada benang pasangannya akan mudah diketahui pula.

Karena Gen maupun benang DNA selalu terdiri atas pasangan-pasangan basa terminal ini, dan variasi yang menentukan panjangnya Gen atau benang DNA ditentukan oleh pasangan basa terminal ini, maka panjang suatu Gene, atau sepasang benang DNA di ukur dengan satuan pasangan basa (base-pair = bp). Karena jumlah yang sangat besar, maka dikenal satuan Kbp atau kilo base-pair atau 1000 bp. Panjang DNA Genom manusia dalam setiap sel, adalah kurang lebih 3×10 pangkat 9 bp.



Keterangan : 1. dan 2 adalah benang DNA berpasangan.

* = ikatan antara 2 basa terminal.

Kloning Gen.

Gen-gen yang terikat pada benang DNA ini, mempunyai tugas masing-masing. Gen-gen dengan urutan basa terminal yang sama, akan memberikan hasil/sifat/ekspresi yang sama pula.

Bila kita ingin secara khusus mempelajari sifat suatu gen, atau bahkan memperoleh ekspresi/hasil dari suatu gen secara tersendiri terlepas dari gen-gen lain yang terikat pada benang DNA yang sama, maka kita harus memisah-

kan gen tersebut dari rangkaiannya. Namun dalam keadaan terputus demikian, gen tersebut tidak dapat berfungsi. Ia memerlukan beberapa pengatur lain (yang juga ditandai oleh suatu urutan basa terminal) yang mengatur pembelahan dan produksinya. Untuk itu, gen yang telah dipisahkan tadi harus dilekatkan pada suatu Molekul DNA lain, yang mempunyai unsur-unsur yang diperlukannya. Molekul DNA yang akan ditumpangangi ini harus mempunyai kelengkapan yang dibutuhkan gen untuk dapat berekspresi, namun ia tidak boleh memiliki gen yang dapat mengaburkan ekspresi gen yang dilekatkan. Molekul DNA baru yang telah ditumpangangi Gen tadi baru merupakan suatu bagian dari kelengkapan suatu sel, dan ia hanya akan dapat berfungsi di dalam sel hidup. Untuk itu, Molekul DNA baru ini harus dimasukkan ke dalam sel hidup lain, yang akan memberinya kehidupan.

Molekul DNA yang ditumpangangi Gen tadi disebut vektor dan ia berfungsi sebagai kendaraan/pengantar untuk masuk ke dalam sel inang (host-cell) yaitu sel hidup yang akan menampung/memelihara molekul gabungan tadi.

Pekerjaan memotong, melekatkan dan memasukkan gen-gen ke dalam sel inang ini kita kenal dengan istilah Rekayasa Genetika, Kloning Gen, atau "gene cloning".

Secara ringkas, Kloning Gen dapat kita bagi ke dalam beberapa tahap yaitu :

1. Isolasi DNA yang berisi gen yang diinginkan.
2. Fragmentasi/Restriksi/pemotongan DNA untuk memperoleh gen yang diinginkan.
3. Penyisipan (insert) ke dalam DNA vektor.
4. Memasukkannya ke dalam sel inang
5. Pemurnian hasil yang diinginkan.

Isolasi DNA.

DNA yang kita inginkan, semula masih berada dalam inti sel. Ia perlu dikeluarkan, dan dipisahkan dari zat-zat lain yang tidak kita inginkan. Pada proses isolasi ini, sel dipisahkan dengan menghancurkan jaringan, dan demikian pula molekul-molekul protein sel, nukleoprotein dihancurkan dengan berbagai zat kimia. Setelah melalui sentrifugasi dan elektroforesis, kita akan memperoleh DNA dari sel semula, yang telah terpisah dan "bersih" dari struktur lain yang tidak kita inginkan.

DNA yang kita perlukan adalah DNA Genom (yaitu yang berisi gen-gen pembawa sifat). DNA Genom inilah yang kemudian akan kita potong-potong pada proses Restriksi.

Untuk dapat berfungsi sebagai kendaraan/penghantar yang baik, maka vektor haruslah memenuhi banyak syarat, diantaranya harus stabil, dan tidak merupakan DNA yang besar. Biasanya berukuran beberapa Kbp (kilo-base-pair).

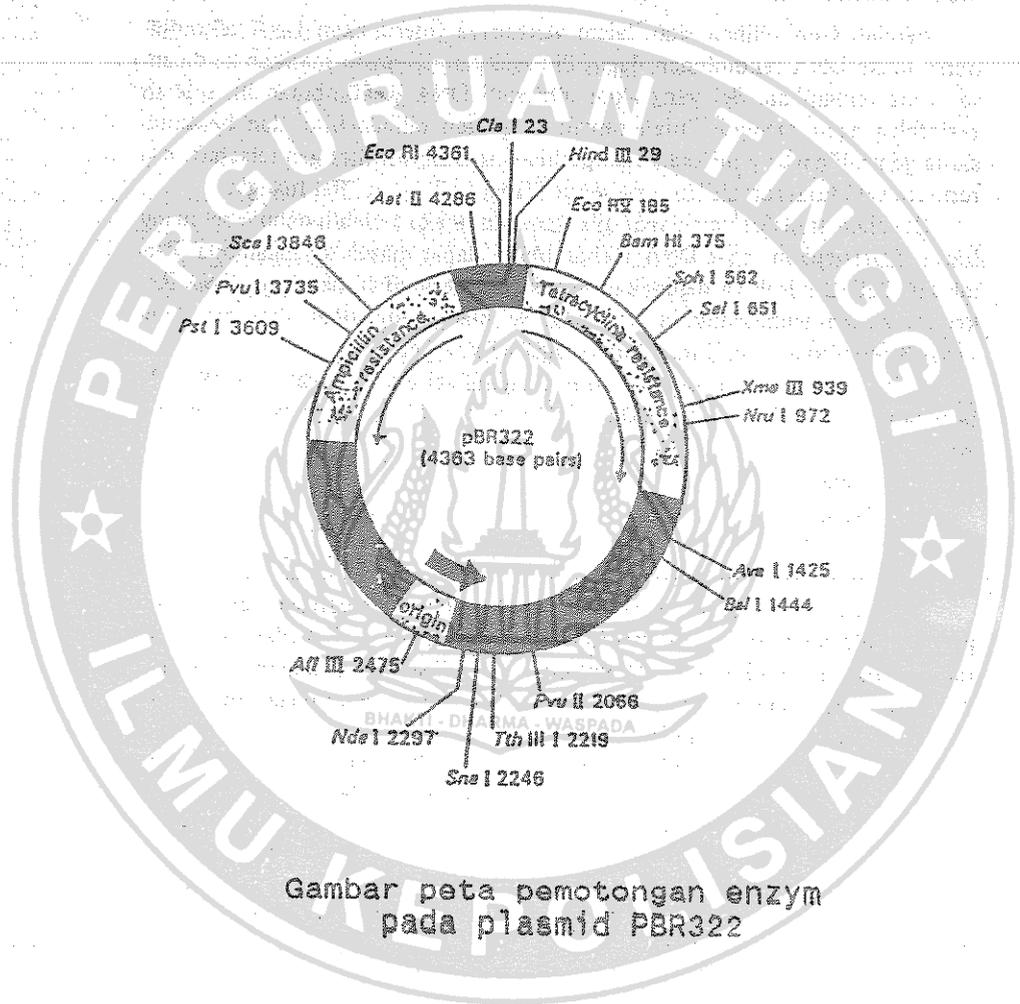
Ada 4 macam vektor yang banyak digunakan dalam kloning Gen, yaitu:

- Plasmid
- Kosmid
- Bakteriophag lambda
- Virus phage M13

Dalam menghantar gen ke dalam sel lain, maka DNA Vektor akan lebih dahulu dipotong, kemudian gen pilihan tadi disisipkan pada daerah yang terputus tadi, dan akhirnya disambung kembali. Dengan demikian, molekul DNA baru berisi DNA vektor semula, ditambah dengan Gen pilihan yang akan kita masukkan ke dalam sel lain.

Pemotongan DNA vektor dilakukan juga dengan enzim restriksi, yaitu enzim yang sama dengan yang digunakan untuk memotong Gen pilihan kita tadi. Hal ini diperlukan, agar perlekatan antara ujung potongan DNA vektor dapat sesuai dengan potongan ujung-ujung Gen pilihan. Setiap molekul vektor mempunyai ciri khas sendiri dan dapat dipotong oleh lebih dari satu enzim. Pada vektor yang sering digunakan, titik-titik potong ini sudah dikenali. Biasanya telah dibuatkan pula peta pemotongan enzimnya. Pemotongan dengan menggunakan enzim restriksi lain, akan menyebabkan ujung potongan yang berbeda pula, dan hal ini akan mempersulit perlekatan antara ujung-ujung potongan yang kita inginkan. Potongan yang sesuai akan dengan cepat melekat satu sama lain, dan ujung-ujung demikian disebut "sticky end".

- Kebahagiaan itu sulit untuk digambarkan dan tidak mungkin untuk mendramatisasinya (Richard Church).



Gambar peta pemotongan enzim pada plasmid PBR322

Pada perlekatan antar potongan-potongan DNA tadi, bekerja pengaruh dari enzim Ligase. Hasil gabungan (kombinasi) antara DNA Vektor dengan Gen pilihan, kita sebut molekul DNA Rekombinan.

Memasukkan ke dalam sel inang.

Setelah Gen pilihan siap dalam vektornya (merupakan DNA rekombinan), maka DNA rekombinan dapat dimasukkan/ditransformasikan ke dalam sel yang diinginkan. Sel yang akan dimasuki DNA Rekombinan ini setelah terinfeksi akan menjadi "tuan rumah" bagi gen pilihan kita, dan bersama-sama gen pilihan kita ini akan memperlihatkan ekspresi sifat gen tersebut. Karena itu sel "tuan rumah" ini kita sebut "Host Cell" atau "Sel Inang".

Sebelum transformasi dapat dilaksanakan, maka terlebih dahulu sel inang harus dipersiapkan, agar DNA Rekombinan dapat masuk ke dalamnya. Perlakuan CaCl₂ misalnya digunakan untuk mempermudah masuknya DNA Rekombinan menembus dinding sel inang. Sel inang yang sudah siap menerima DNA Rekombinan tadi, kita sebut sebagai sel kompeten.

Bakteri yang sering dipilih untuk menjadi sel inang adalah E. Coli. Ada beberapa cara untuk memasukkan DNA Rekombinan ke dalam sel inang.

Antara lain:

- Transformasi
- Transfeksi
- DNA Packaging
- Micro-injection.

Pada transformasi, maka molekul DNA rekombinan dan sel inang dicampurkan, lalu diberikan perlakuan CaCl₂ dan "heat shock". Akibat perlakuan tadi, maka molekul DNA Rekombinan akan diserap ke dalam sel inang. Apabila vektor yang digunakan berasal dari DNA virus atau phage, maka proses ini disebut sebagai Transfeksi.

Untuk DNA bakteriofag lambda, ternyata transfeksi ini tidak begitu efisien. Karena itu, molekul DNA phage itu dikemas di dalam partikel phage, dan ini disebut DNA Packaging. Kadang-kadang, Gen terpilih tidak perlu kita sisipkan ke dalam vektor, namun dapat langsung kita suntikkan dengan jarum yang amat kecil, langsung ke dalam inti sel. Pekerjaan ini kita sebut Micro-injection.

Pemurnian hasil yang diinginkan.

Tidak semua DNA Rekombinan akan berhasil masuk ke dalam sel inang, dan yang berhasil masuk, tidak semuanya diterima begitu saja oleh sel inang. Ekspresi Gen pilihan kita akan dapat dilihat hanya apabila DNA rekombinan tersebut dapat diterima, kemudian dapat ikut membelah dan memperbanyak diri bersama sel inang. Setelah selesai melakukan transformasi, maka di dalam

campuran hasil transformasi, masih terdapat sel-sel lain yang tidak merupakan sel-sel hasil kloning gen yang kita inginkan. Untuk itu perlu diadakan seleksi/pemurnian, agar yang kita peroleh benar-benar hanya sel-sel sesuai keinginan kita.

Pemurnian atau seleksi ini dapat dilakukan dengan berbagai cara, misalnya secara Genetik (uji resistensi terhadap tetracycline dan ampicillin), immunokimia, atau hibridisasi asam nukleat (dengan bahan radio aktif). Cara pemurnian yang akan dilakukan perlu ditentukan sejak awal kloning gen dilakukan, karena turut menentukan jenis atau type vektor dan sel inang yang akan digunakan. Pada prinsipnya harus terdapat perbedaan antara sel inang yang berisi DNA Rekombinan dan sel inang yang tidak berisi DNA Rekombinan. Dengan memperhatikan perbedaan sifat ini, akan dapat dilakukan seleksi/pemisahan antara keduanya.

Manfaat Kloning Gen.

Dengan kemampuan untuk menentukan dan mengambil gen-gen tertentu, maka dimungkinkan untuk merekayasa/menciptakan suatu individu dengan sifat-sifat tertentu yang diinginkan.

Untuk pertanian misalnya, pemberian herbisida diperlukan untuk membunuh hama pengganggu, namun ternyata herbisida tersebut juga akan membunuh tanaman itu sendiri. Kemudian diketahui bahwa Bakteri *Salmonella typhimurium* mempunyai gen yang resisten terhadap Glifosat (suatu jenis herbisida). Dengan mengambil gen resisten glifosat dari *Salmonella typhimurium* dan mentransfernya ke dalam tanaman kapas, kedelai, tomat dan sebagainya, diperoleh tanaman budidaya yang resisten terhadap glifosat. Dengan demikian, penggunaan Glifosat menjadi bermanfaat, tanpa membunuh tanaman itu sendiri.

Untuk kesehatan manusia, teknologi ini juga dilakukan untuk berbagai hal. Pembuatan insulin misalnya, diketahui diproduksi oleh sel-sel jaringan pankreas manusia.

Untuk terapi diabetes, insulin ini dibutuhkan, sehingga perlu diproduksi. Memang dapat diperoleh insulin dari pankreas babi dan lembu, yang secara kimia hanya berbeda sedikit dari insulin manusia, namun untuk menggunakannya ada beberapa kesulitan antara lain dari sudut agama.

Dengan mengambil gen untuk insulin dari pankreas manusia, dan mengklon-nya pada E. Coli, dan kemudian membiarkannya, dapat diperoleh E. Coli yang dapat menghasilkan insulin manusia. Insulin hasil produksi E. Coli ini kemudian digunakan untuk terapi. Sebenarnya melalui cara ini, diperoleh suatu makhluk E. Coli, yang semula secara kodrati tidak dapat memproduksi insulin manusia, namun melalui rekayasa diperoleh E. Coli baru yang menghasilkan insulin manusia.

Penggunaan teknologi DNA ini juga dimanfaatkan oleh para pakar genetika, untuk meneliti dan mencari gen-gen yang membawa penyakit atau gejala yang diturunkan. Gen yang dicurigai kemudian diisolasi, dan ditransformasikan pada tikus. Ekspresi gen yang dicurigai itu akan dapat kemudian dilihat efeknya pada tikus tersebut. Tikus percobaan akan memperlihatkan gejala yang sama dengan apa yang ditimbulkan gen tersebut pada manusia. Dengan cara ini, para ahli dapat mengetahui dengan pasti letak dan pola gen yang menyebabkan penyakit/gejala keturunan tertentu.

Penutup.

Penulis berpendapat, bahwa suatu pengetahuan barulah merupakan dasar atau awal untuk bertindak. Dengan dasar ilmu yang sama setiap ilmuwan akan dapat mengembangkannya sesuai kebutuhan, kepada aplikasi masing-masing.

Bagi POLRI, manfaat yang jelas sudah banyak diulas, yaitu terdapatnya ciri khas pada susunan basa terminal, yang memungkinkan bagi penyidik untuk melaksanakan DNA-finger printing (hal ini akan diuraikan dalam tulisan khusus). Namun demikian, kiranya perlu diwaspadai, terdapatnya kemungkinan tindakan menyimpang yang dapat terjadi akibat ke-“canggih” teknologi ini. Melalui rekayasa genetika ini, dimungkinkan untuk merekayasa makhluk-makhluk baru sesuai keinginan pe-rekayasa. Sejauh hal ini untuk kemajuan dan kesejahteraan, penulis berpendapat bahwa hal tersebut adalah baik. Namun tidak tertutup kemungkinan perekayasaan makhluk baru untuk tujuan yang tidak baik. Hal ini menurut penulis perlu dipikirkan sejak awal dan mungkin diatur dalam peraturan-peraturan yang membatasi kemungkinan terjadinya hal-hal yang tidak diinginkan.

Kepustakaan :

Bruce Alberts; Dennis Bray; Julian Lewis; Martin Raff; Keith Roberts; James D Watson. *Molecular Biology Of The Cell*. Garland Publishing, Inc. New York & London 1983.

Sukarti Moeljoprawiro, dr. *Rekayasa Genetika*. PAU Bioteknologi Universitas Gadjah Mada. 1990

Sebastian Margino, Dr. Ir. *Sintesis & Kloning DNA*. PAU Bioteknologi Universitas Gadjah Mada. 1990

Soedarminto; N.A. Anwar; Alphonsus R.Q.; Lukman Hakim; Pudji Sari; M. Ghufron; Mahyuddin. *Laporan Praktikum Kloning Gen*. PAU Bioteknologi Universitas Gadjah Mada. 1990

R.W.Old, M.A., PhD; S. B. Primrose, BSc, PhD-*Principles of Gene manipulation* on 3rd ed.: Blackwell Scientific Publications: Oxford London Edinburgh 1985.

— Tragedi hidup yang terbesar bukan binasanya manusia, melainkan hilangnya rasa cinta dalam diri manusia (W. Somerset Maugham).

BERITA KEGIATAN

1. PERESMIAN RUMKIT POLDA SUMBAR DI PADANG

Tanggal 1 Juli 1990, telah diresmikan Rumkit Polda Sumbar di Padang. Peresmian dilaksanakan oleh Kapolda Sumbar Kol. Pol. Drs. Zamri Amin, di halaman Rumah Sakit Polda Sumbar Jl Jati Padang dengan upacara resmi setelah upacara Peringatan Hari Bhayangkara ke 44.

Upacara tersebut dihadiri oleh :

- Pejabat teras Polda Sumbar,
- Perwakilan dari Mabes Polri: Sesdisdokes Polri Kol. Pol. Dr. Tjutju Karsono dan Kabaglog Let Kol Pol Dr. H. Syaifudin.
- Sekwilda Kodya Padang.
- Dekan Fakultas Kedokteran UNAND,
- Direktur RSUD. M. JAMIL,
- Kepala KB Sumbar,
- Karumkit AD Padang,
- Perwakilan dari Asuransi PT JASA RAHARJA.

Sebagai Rumkit TK IV, Rumkit Polda Sumbar mempunyai kapasitas 30 Tempat tidur, mendapat bantuan tenaga spesialis dari FK UNAND dan RSUD. M. JAMIL. Peralatan kesehatan dan tenaga paramedis dipenuhi secara bertahap.

- Hal yang sulit dihadapi biasanya menjadi kenangan yang manis (Pepatah Portugis).



Kapolda Sumbar beserta para undangan lainnya sedang meninjau Ruang Kebidanan.

2. KULIAH TAMU ILMU KEDOKTERAN FORENSIK

Dilaksanakan pada hari Senin tanggal 22 Oktober 1990, bertempat di Ruang Guru Besar FKUI – Salemba Raya 4–6 Jakarta.

Pembicara : DR. BAREND A.J. COHEN, pakar Ilmu Kedokteran Forensik dari Negeri Belanda.

Peserta sebanyak 67 orang dari berbagai instansi :

- Para Dirkes Angkatan/Kepala Lembaga Kesehatan Angkatan
- Karumkit RS ABRI
- Para pakar ilmiah di bidang Kedokteran Forensik dari Depkes/PDK, antara lain dari Medan, Padang, Jakarta, Bandung, Semarang dan Yogyakarta.
- Para pejabat di lingkungan Direktorat Reserse Polri, Labkrim Polri dan Subdit Identifikasi Polri.
- Para dokter dari Disdokes Polri, Rumkit Pol Pus dan Garnizun Jakarta Raya.
- Para Kadisdokes Polda se-Jawa.

Topik yang dibahas ada dua macam:

- a. Clinical Forensic sebagai suatu tugas dan tanggung jawab Dokter Polisi di Negeri Belanda.
- b. Standarisasi & Harmonisasi Pendidikan Ilmu Kedokteran Forensic di Fakultas Kedokteran di Eropa.



Kadisdokkes Polri sedang memberikan cenderamata kepada pembicara tunggal : DR. BAREND A.J. COHEN.

3. HARI KESATUAN GERAK BHAYANGKARI XXXVIII TAHUN 1990

Rapat Panitia dilaksanakan tanggal 14 September 1990. Tema HKGB XXXVIII tahun 1990 adalah : "Melalui Peningkatan Kesejahteraan Keluarga Polri, Bhayangkari Bertekad Untuk Ikut Serta Menyukseskan Pelita".

Kegiatan dimulai tanggal 7 Oktober 1990, dengan berbagai perlombaan:

- Gerak Jalan santai keluarga

- Lomba Check list remaja mengenai Organisasi Bhayangkari, P-4 dan Kesehatan-Kependudukan dan KB.
- Anjongsana ke RS Pol Pus Kramatjati
- Ziarah ke TMP Kalibata.
- Lomba Klipping dan membuat bantal kursi.
- Anjang sana ke rumah Warakawuri.
- Lomba memasak Kue khas daerah
- Lomba berhias tanpa kaca.

Puncak acara peringatan HKGB XXXVIII tahun 1990 diadakan upacara di Ruang Pertemuan Rumkit Pol Pus.

Kegiatan HKGB diakhiri dengan Penjelasan, Penyampaian Hasil Musyawarah Bhayangkari XIV tahun 1990 pada bulan Nopember 1990.



Ibu S. ASRI, Ketua Bhayangkari Cabang Disdokes sedang memberikan sambutannya pada upacara peringatan HKGB XXXVIII tahun 1990.



Lagi serius nih , remaja peserta lomba check list mengenai Organisasi Bhayangkari, P-4 dan Kesehatan-Kependudukan dan KB.



*Amboiii. . . . , semua manis dan bagus! Bingung juga memilih mana yang ter baik !
(sebagian dari hasil lomba membuat bantal kursi).*