

Modul

01

Pengantar Bioteknologi

PEBI4426
Edisi 2

Dr. Ir. Teuku Tajuddin, M.Sc.

Daftar Isi Modul

Modul 01	1.1
Pengantar Bioteknologi	
Kegiatan Belajar 1	1.5
Dasar dan Sejarah Bioteknologi	
Latihan	1.21
Rangkuman	1.22
Tes Formatif 1	1.23
Kegiatan Belajar 2	1.26
Teknologi DNA Rekombinan	
Latihan	1.46
Rangkuman	1.47
Tes Formatif 2	1.48
Kunci Jawaban Tes Formatif	1.51
Glosarium	1.52
Daftar Pustaka	1.57



Pendahuluan

Dewasa ini, bioteknologi telah mengalami perkembangan yang menakjubkan dan semakin banyak dimanfaatkan dalam kehidupan kita. Kemajuan ini terutama ditunjang oleh perkembangan yang sangat pesat pada bidang ilmu biologi molekuler dan teknologi rekayasa genetika. Keunggulan bioteknologi dalam pertanian telah kita manfaatkan dalam kehidupan sehari-hari dari teknik perbanyakan bibit unggul dan tanaman bebas virus dengan menggunakan teknik kultur jaringan, perakitan varietas tanaman hasil rekayasa genetika, seperti jagung Bt tahan hama, kedelai tahan pestisida *Round-up*, dan tomat yang tahan disimpan lama serta yang lainnya. Di dunia, hampir terdapat 35 negara bahkan lebih, yang menanam tanaman transgenik (hasil rekayasa genetika) di lahan mereka. Amerika, Cina, India, serta Brasil merupakan negara dengan penanam tanaman transgenik terluas di dunia.

Bioteknologi pada mikroorganisme, berhasil melipatgandakan kemampuan produksi bakteri penghasil zat aktif untuk bahan baku obat dengan teknik rekayasa genetika, begitu pula dengan mikroba penghasil alkohol dan enzim tertentu. Selain itu, biologi molekuler telah kita manfaatkan pula dalam peningkatan kualitas kesehatan dengan memanfaatkan teknik antibodi monoklonal, vaksin, serta diagnostik untuk penyakit-penyakit berbahaya maupun deteksi dini terhadap kontaminasi mikroba patogen. Selain pada pertanian, kesehatan, dan industri, pemanfaatan bioteknologi pun merambah pada lintas ilmu dan lintas bidang. Sebagai contoh, pemanfaatan bioteknologi dalam bidang reklamasi lahan dan lingkungan bekas tambang dengan menggunakan pupuk hayati yang ramah lingkungan, mikroba pengurai limbah pabrik, pengurai pestisida, serta untuk pakan ternak, seperti probiotik.

Krisis energi yang kita alami saat ini dengan semakin mahalnya harga minyak telah mendorong mulai dikembangkannya bahan bakar alternatif. Bahan bakar alternatif yang dikembangkan di seluruh dunia adalah biofuel yang berasal dari pengolahan hasil tanaman yang berbasis pada minyak nabati maupun biofuel hasil fermentasi biji-bijian tanaman berbasis pada etanol.

Semenjak proyek genom manusia berhasil kita selesaikan, pemanfaatan teknologi dan informasi bioteknologi molekuler tidak terbatas pada informasi DNA dari genom saja, tetapi mengalami perkembangan ke arah proteomik dan metabolomik. Pada masa mendatang, tidak disangsikan lagi peranan bioteknologi yang bertumpu pada biologi molekuler dan rekayasa genetika menjadi alternatif utama dalam memecahkan masalah-masalah kesehatan, obat-obatan, pertanian, pangan, energi, serta lingkungan untuk mewujudkan peningkatan kesejahteraan rakyat dan kemandirian bangsa.

Untuk mempermudah Anda mempelajari materi Modul 1, maka disusun menjadi dua kegiatan belajar, yaitu sebagai berikut.

Kegiatan Belajar 1 : membahas tentang Dasar dan Sejarah Bioteknologi.

Kegiatan Belajar 2 : membahas tentang Teknologi DNA Rekombinan.

Setelah mempelajari modul ini, Anda diharapkan dapat menjelaskan sejarah, ilmu, dan teknologi yang mendukung bioteknologi dan bagaimana proses terjadinya transgenik.

Secara lebih terperinci, Anda diharapkan dapat menjelaskan:

1. definisi bioteknologi;
2. sejarah perkembangan bioteknologi;
3. ilmu dan teknologi pendukung bioteknologi;
4. keuntungan bioteknologi;
5. kerugian bioteknologi;
6. dasar genetika molekuler;
7. struktur DNA;
8. fungsi DNA;
9. aliran informasi genetika;
10. ekspresi gen;
11. proses transkripsi;
12. proses translasi.

Hal yang harus diperhatikan agar Anda berhasil dengan baik mempelajari modul ini adalah sebagai berikut.

1. Bacalah dengan cermat bagian pendahuluan modul ini, agar Anda betul-betul memahami keterkaitan materi yang dibahas pada tiap kegiatan belajar serta mengetahui kemampuan yang diharapkan dari pembelajaran dengan modul ini.
2. Pelajari bagian demi bagian dari modul ini dan tandai konsep-konsep pentingnya sesuai dengan kemampuan yang diharapkan (jika perlu gunakan stabilo).
3. Kerjakanlah latihan dan tes formatif yang tersedia pada setiap kegiatan belajar untuk mengetahui sejauh mana pemahaman Anda terhadap materi yang dipelajari. Oleh karena itu, janganlah melihat rambu-rambu jawaban dan kunci jawaban sebelum Anda mengerjakan latihan dan tes formatif tersebut.
4. Untuk lebih memperdalam, diharapkan Anda juga membaca buku referensi yang ada kaitannya dengan bioteknologi dan manfaatkanlah peluang pertemuan dengan tutor atau teman sejawat Anda untuk mendiskusikan hal-hal yang kurang Anda pahami ataupun menyelesaikan soal-soal yang dianggap sulit. Karena itu, persiapkanlah bahan sebelum Anda melaksanakan tutorial atau diskusi dengan teman sejawat Anda.

Selamat belajar, semoga berhasil!

Dasar dan Sejarah Bioteknologi

Kegiatan Belajar 1

Revolusi dalam ilmu biologi di awal abad yang lalu telah melahirkan suatu bidang ilmu, yaitu bioteknologi. Bioteknologi membawa kita dari dunia industri proses dan kimiawi menuju ke dunia rekayasa produk bahan alami. Sebagai salah satu bidang teknologi, bioteknologi menjanjikan serta memiliki potensi yang besar dalam mengubah hidup kita. Dengan bioteknologi kita dapat hidup lebih lama, mengurangi risiko terhadap penyakit, mengubah susunan genetika kita, merekayasa turunan kita sendiri, maupun melestarikan lingkungan hidup kita.

Sebenarnya, bioteknologi bukanlah ilmu yang baru. Selama berabad-abad, manusia telah melakukan perekayasaan makhluk hidup secara efektif untuk memperbaiki hidup dan memecahkan berbagai masalah mereka. Misalnya, dalam bidang pertanian untuk menghasilkan produk pangan. Walaupun ilmu pertanian merupakan bidang yang lebih modern, teknik dasarnya telah diterapkan sejak zaman pra-sejarah. Transisi dari hidup berburu ke bertani-menetap, membuat tanaman dan hewan ternak merupakan elemen penting bagi kehidupan manusia. Tanaman dan hewan ternak telah dikembangkan menjadi lebih baik melalui kawin silang dan seleksi. Selanjutnya, pemanfaatan mikroorganisme untuk membuat produk pangan, seperti keju dan roti. Penemuan proses fermentasi dahulu kala memungkinkan nenek moyang kita membuat produk pangan dengan bantuan mikroba pengurai. Kemudian mereka juga menyadari bahwa dengan mengutak-atik kondisi fermentasi, mereka dapat meningkatkan kualitas dan produktivitas produk tersebut. Dalam teknologi proses fermentasi, mikroba, seperti bakteri, yeast, dan jamur dicampurkan dengan beberapa komponen bahan sebagai sumber nutrisi bagi pertumbuhan mikroba tersebut. Selama proses fermentasi bahan tersebut, mikroba memproduksi dua produk samping, yaitu gas karbon dioksida dan alkohol, seperti pada pembuatan bir, koloni yeast mengurai pati dan gula (yang terkandung dalam biji-bijian sereal) menjadi alkohol. Lapisan busa yang terdapat di bagian atas bir terbentuk akibat adanya gas karbon dioksida yang dihasilkan oleh yeast. Dalam proses ini sel-sel yeast merombak unsur-unsur kimia dari bahan alami menjadi produk baru yang dibutuhkan olehnya untuk hidup dan berkembang biak. Melalui proses alami tersebut, terbentuklah minuman yang kemudian menjadi populer di masyarakat barat. Pembuatan roti juga melibatkan suatu mikroorganisme seperti khamir. Adonan roti mengandung sumber nutrisi bagi pertumbuhan sel-sel khamir. Dari proses fermentasi nutrisi tersebut dihasilkan alkohol, sebagai pemberi aroma pada roti, dan gas karbon dioksida, sebagai pengembang dan pemberi tekstur rongga (*sponge*) pada roti.

Era bioteknologi modern lahir dari penemuan struktur DNA oleh Watson dan Crick, serta teknik DNA rekombinan oleh Cohen dan Boyer. Diikuti dengan pengembangan kemampuan bakteri yang dapat menerima gen asing, dan memproduksi protein dari organisme lain, termasuk dari manusia. Ciri bioteknologi modern ini adalah kemampuan mengubah, bahkan merancang susunan materi genetika suatu organisme, yang selanjutnya kita kenal dengan istilah populer, rekayasa genetika.

A. DEFINISI BIOTEKNOLOGI

Istilah bioteknologi pertama sekali diperkenalkan pada tahun 1919 oleh seorang sarjana pertanian Hongaria, Karl Ereky. Pada waktu itu, istilah ini digunakan untuk menghasilkan suatu produk dari bahan baku dengan bantuan organisme hidup. Ereky memperkirakan bahwa krisis pangan dan energi akan dapat diselesaikan melalui bioteknologi.

Bioteknologi adalah perpaduan yang harmonis antara biologi dan teknologi. Secara terminologi, bioteknologi dapat kita artikan sebagai pemanfaatan sistem biologi, makhluk hidup dan produknya untuk mengubah atau memperbaiki kesehatan umat manusia dan lingkungannya. Dengan merangkum semua pengertian di atas, maka bioteknologi dapat kita definisikan sebagai aplikasi prinsip-prinsip dasar sains dan perkerayaan atas proses material dengan bantuan agen biologi untuk menghasilkan berbagai barang dan jasa. Tampaknya, keunggulan bioteknologi telah mengambil alih dan menjadi revolusi baru dalam ilmu biologi, melalui pengelolaan produk-produk alami menggantikan proses kimiawi dan industri.

Bioteknologi modern dapat kita klasifikasi ke dalam berbagai bidang, seperti bioteknologi kesehatan, bioteknologi lingkungan, bioteknologi obat-obatan, bioteknologi pertanian, bioteknologi industri. Bioteknologi merupakan ilmu dan sains masa depan yang menarik minat para ilmuwan, serta akan melahirkan suatu revolusi besar dalam kehidupan kita dengan menunjukkan bagaimana cara hidup yang lebih nyaman, bebas dari berbagai macam penyakit dan stres.

B. SEJARAH PERKEMBANGAN BIOTEKNOLOGI

SM	Perkembangan Bioteknologi Sebelum Masehi
2500	<ol style="list-style-type: none"> 1. Peternakan sapi perah dikembangkan di daerah Timur Tengah; 2. Bangsa Mesir menggunakan yeast untuk membuat roti dan wine. Ketika itu, dengan aplikasi proses fermentasi, dihasilkan lebih dari 50 macam roti; 3. Masyarakat Cina membuat keju dan yoghurt dengan bakteri penghasil asam laktat.
2000	<p>Masyarakat Mesir mempraktikkan pemuliaan hewan ternak, pada sapi dan angsa, untuk kebutuhan pangan bangsa Mesir.</p> <p>Bangsa Sumerian dan Babilonia membuat minuman bir dan keju hasil fermentasi menggunakan yeast.</p>

SM Perkembangan Bioteknologi Sebelum Masehi

- 500 Masyarakat Cina menggunakan bubur ekstrak kedelai yang sudah berjamur sebagai antibiotik untuk menyembuhkan borok.
- 250 Masyarakat Yunani mempraktikkan cara bercocok tanam dengan sistem rotasi untuk meningkatkan kesuburan tanah.
- 100 Masyarakat Cina menggunakan tepung tanaman bunga krisan sebagai insektisida.

M Perkembangan Bioteknologi Sebelum Abad XX

- 1500 Bangsa Aztek dari Meksiko menggunakan alga *Spirulina* yang tumbuh di kolam-kolam dangkal sebagai bahan makanan.
- 1701 Giacomo Pylarini menginokulasi anak-anak dengan kuman cacar di Constantinopel, sebagai pencegahan terhadap penyakit cacar yang lebih parah ketika dewasa kelak.
- 1855 Penemuan bakteri *Escherichia coli*. Bakteri ini kemudian menjadi objek penelitian bioteknologi.
- 1863 Louis Pasteur menemukan teknik pasteurisasi, pemanasan minuman anggur untuk menonaktifkan mikroba tanpa merusak rasanya. Tanpa proses ini, fermentasi berlanjut, dan minuman anggur berubah menjadi cuka.
- 1865 Gregor Mendel menemukan sifat yang diwariskan dari tetua ke turunannya oleh suatu agen, yang kemudian dikenal dengan *gen*. Hasil observasinya menghasilkan hukum pewarisan sifat Mendel, yang menjadi dasar ilmu genetika.
- 1869 Fredrich Miescher menemukan DNA dari sperma ikan kerapu. Puluhan tahun terlewatkan, sebelum orang menyadari hubungan antara DNA yang ditemukan Miescher dengan hukum Mendel, yang dicetuskan 4 tahun sebelumnya.
- 1871 Ernst Hoppe-Seyler menemukan enzim invertase, yang dapat memotong sukrosa, struktur disakarida, menjadi monosakarida: glukosa dan fruktosa. Enzim ini masih digunakan untuk membuat pemanis buatan (*sweetener*).
- 1887 Edouard-Joseph-Louis-Marie van Beneden menemukan bahwa setiap spesies memiliki jumlah kromosom tertentu; dia juga menemukan formasi sel haploid dalam proses meiosis, dalam pembentukan gamet jantan dan betina.
- 1892 Ivanovsky melaporkan agen penyebab penyakit mosaik pada tanaman tembakau. Agen ini dapat menularkan penyakit yang sama ke tanaman lain. Agen tersebut kemudian dinamakan virus.
- 1897 Ronald Ross menemukan Plasmodium, protozoa penyebab malaria, dari nyamuk *Anopheles*.

M Perkembangan Bioteknologi Abad XX

- 1900 Genetika sebagai ilmu telah lahir ketika pekerjaan Mendel ditemukan kembali oleh 3 peneliti, seperti Hugo de Vries, Erich Von Tschermak, dan Carl Correns. Mereka secara terpisah melakukan penelitian pewarisan sifat.
- 1902 Walter Stanborough Sutton memberi nama pada agen pewarisan sifat Mendel sebagai "gen".
- 1903 Walter Sutton dan Theodor Boveri, yang bekerja secara terpisah, menyatakan bahwa sel telur dan sel sperma masing-masing berisi satu dari pasangan kromosom. Hal ini sesuai dengan hukum segregasi Mendel.
- 1904 William Bateson memperkenalkan konsep "keterpautan gen", yang nantinya dipakai untuk membuat peta genetika, menggambarkan posisi dan urutan gen-gen terpaut.

M	Perkembangan Bioteknologi Abad XX
1907	Thomas Hunt Morgan yang bekerja dengan lalat buah, membuktikan bahwa kromosom memiliki fungsi sebagai pembawa pewarisan sifat. Selanjutnya, membuat teori mutasi dan menanamkan pengertian mendasar tentang mekanisme pewarisan sifat dan genetika modern.
1909	Phoebus Levene menemukan gula ribose dalam asam nukleat, yang kemudian dikenal dengan RNA.
1910	Thomas Hunt Morgan memperkirakan gen terletak di kromosom.
1914	Aktivitas bakteri pertama kali digunakan untuk menangani sampah di kota Manchester, Inggris.
1919	Karl Ereky, sarjana pertanian dari Hongaria, memperkenalkan kata "bioteknologi" untuk pertama kali.
1928	Alexander Fleming menemukan penicillin, antibiotik pertama, dari jamur <i>Penicillium</i> .
1938	Istilah "biologi molekuler" diperkenalkan. Protein dan DNA dipelajari dengan sinar X.
1939	Gauteret berhasil membuat kultur kalus pada wortel.
1941	Istilah "rekayasa genetika" pertama kali digunakan oleh A. Jost, ahli mikrobiologi dari Denmark.
1942	Mikroskop elektron digunakan untuk mengidentifikasi dan karakterisasi bakteri ophage, virus yang menginfeksi bakteri.
1943	Oswald Avery membuktikan bahwa DNA adalah "faktor peubah" dan merupakan bahan penyusun gen.
1950	Erwin Chargaff menemukan bahwa di dalam DNA jumlah adenin sama dengan timin, dan jumlah guanin sama dengan sitosin. Ini dikenal dengan teori Chargaff. Inseminasi buatan pada sapi dengan sperma beku berhasil dilakukan.
1953	James Watson dan Francis Crick menjelaskan struktur 3 dimensi DNA, menggunakan data difraksi sinar X yang dikembangkan oleh Rosalind Franklin dan Maurice Wilkins.
1957	Francis Crick dan George Gamov menerangkan dogma bagaimana terbentuknya protein dari DNA.
1960	Penelitian pada pasangan basa, hibridisasi molekul DNA-RNA berhasil dibuat.
1961	Penemuan sel punca (<i>stem cell</i>) dari hematopoietic oleh peneliti Kanada.
1962	Watson dan Crick, bersama-sama dengan Maurice Wilkins, menerima hadiah Nobel dalam bidang fisiologi dan kesehatan. Penanaman varietas gandum berproduktivitas tinggi (dikenal dengan <i>Green Revolution grains</i>) di Meksiko.
1966	Sandi genetika berhasil dipecahkan untuk pertama kali. Marshall Nirenberg, Heinrich Mathaei, dan Severo Ochoa mendemonstrasikan sekuen tiga basa nukleotida (kodon) menentukan 20 jenis asam amino.
1967	Transplantasi jantung pertama oleh Christian Barnard.
1970	Howard Temin dan David Baltimore secara terpisah mengidentifikasi enzim restriksi, sebagai perangkat pada kloning gen.
1972	Paul Berg berhasil membuat DNA rekombinan pertama, dengan enzim restriksi dan ligase. Transkriptase terbalik pertama digunakan untuk menyintesis DNA komplementer (cDNA) secara <i>in vitro</i> .
1975	Southern mengembangkan metode hibridisasi koloni bakteri dan blotting untuk mendeteksi sekuen DNA spesifik.
1977	Genentech Incorporation berhasil membuat bakteri hasil rekayasa yang dimanfaatkan untuk menyintesis protein pertumbuhan manusia, dianggap sebagai era baru bioteknologi.

M Perkembangan Bioteknologi Abad XX

- 1978 Peneliti Universitas Harvard berhasil membuat rekayasa genetika tikus untuk memproduksi insulin manusia.
David Botstein mengembangkan marker DNA untuk mencari polimorfisme pada setiap individu.
- 1979 George Kohler dan Cesar Milstein berhasil memproduksi antibodi monoklonal dari fusi sel untuk pertama kali.
- 1980 Hukum paten diberlakukan terhadap produk rekayasa genetika oleh Pengadilan Tinggi Amerika Serikat, membuka peluang komersialisasi produk bioteknologi.
- 1982 Humulin, obat insulin untuk manusia diproduksi oleh Genentech melalui rekayasa genetika pada bakteri untuk menyembuhkan penyakit diabetes. Obat bioteknologi pertama yang disetujui pemerintah atau FDA (*Food and Drug Administration*).
- 1983 Kary Mullis memperkenalkan teknik mengcopy sekuen DNA, yaitu PCR (*Polymerase Chain Reaction*).
Transformasi genetika pertama pada tanaman melalui plasmid TI dan Agrobakterium.
- 1984 Charles Cantor dan David Schwartz mengembangkan alat elektroforesis, untuk memisahkan molekul-molekul DNA berdasarkan ukurannya di dalam gel dalam pengaruh medan listrik.
- 1985 Sidik jari genetika menjadi alat bukti di pengadilan.
- 1986 Tanaman tembakau transgenik pertama disetujui untuk dilepas.
Vaksin manusia pertama hasil rekayasa genetika, Recombivax HB (perusahaan Chiron), untuk mencegah hepatitis B.
- 1990 Sapi perah transgenik pertama (*GenPharm International Inc.*) yang memproduksi susu manusia (Asi) untuk balita.
Dimulainya proyek genom manusia secara resmi, untuk memetakan dan membaca sekuen sandi genetika manusia dengan anggaran \$13 miliar.
- 1994 Tomat yang tahan disimpan lama hasil rekayasa genetika, Flavr Savr, dikembangkan oleh perusahaan Calgene, dan boleh dijual bebas.
- 1995 Sekuen lengkap gen bakteri *Hemophilus influenzae*, organisme pertama selain virus, berhasil dibaca.
- 1996 Pembacaan sekuen lengkap dari yeast (*Saccharomyces cerevisiae*), yang merupakan genom terpanjang, 12 juta pasangan basa DNA.
- 1997 Peneliti Scotlandia berhasil mengloning domba Dolly dengan DNA dari sel domba dewasa.
- 1998 Sekuen lengkap genom cacing, yang merupakan hewan pertama, berhasil dibaca.

M Perkembangan Bioteknologi Awal Abad XXI

- 2000 Padi transgenik "Golden Rice", yang direkayasa agar dapat memproduksi vitamin A, harapan bagi dunia ketiga untuk mengurangi penyakit rabun dan kebutaan.
- 2001 Sekuens genom manusia dipublikasi pada jurnal *Science and Nature*, yang memetakan lokasi dari 30.000 gen.
- 2002 Peneliti berhasil membaca sekuen jamur patogen penting pada padi. Dengan mempelajari genom padi dan jamur, peneliti bisa membuka tabir interaksi pada level molekuler antara tanaman dan patogen.
- 2003 Domba Dolly, hasil kloning di tahun 1997, di"tidur"kan untuk selama-lamanya karena menderita radang paru-paru kronis. Dolly merupakan mamalia pertama yang berhasil diklon.

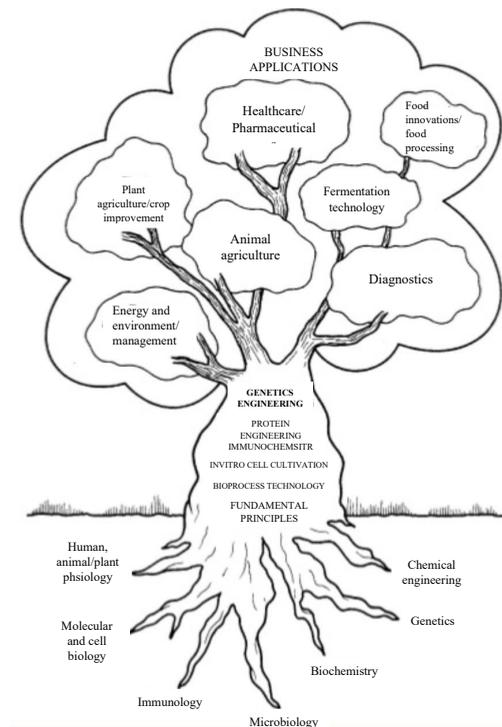
M	Perkembangan Bioteknologi Awal Abad XXI
2004	<p><i>Chicken Genome Sequences Consortium</i> berhasil menyelesaikan pembacaan sekuen pada genom ayam.</p> <p>Monsanto melepas kedelai transgenic dengan kandungan asam lemak linolenik rendah untuk mengurangi asam lemak jenuh.</p>
2005	<p>Peneliti dari Universitas Harvard berhasil mengubah sel kulit menjadi sel punca embrio (<i>embryonic stem cell</i>), melalui fusi sel kulit dengan sel punca tersebut.</p>
2006	<p>Kolaborasi peneliti Amerika dan Australia berhasil mengloning DNA mikroba dalam sekelompok komunitas yang berasal dari lumpur limbah dengan teknik Metagenomik, yang biasanya sulit dilakukan pada kultur isolat tunggal.</p> <p>Asam lemak omega-3 berhasil diproduksi melalui babi transgenik, setelah disisipkan gen "<i>fat-1</i>" dari cacing <i>Caenorhabditis elegans</i>, asam lemak ini kerap digunakan dalam pencegahan penyakit jantung.</p>
2007	<p>Peneliti Taiwan mengembangkan pohon <i>Eucalyptus</i> dengan rekayasa genetika yang mampu menyerap CO₂ tiga kali lebih banyak daripada varietas konvensional. Pohon ini juga menghasilkan lebih banyak selulosa dan sedikit lignin.</p>
2008	<p>Para ilmuwan Selandia Baru dan Jepang telah menciptakan bawang "bebas air mata" menggunakan metode <i>gene silencing</i> untuk mematikan gen penghasil asam sulfenik yang membuat kita menangis.</p>
2009	<p>Perusahaan Kanada, Medicago memproduksi vaksin H5N1 untuk flu burung melalui <i>molecular farming</i> pada daun tembakau. Produk ini menjadi vaksin influenza berbasis tanaman pertama yang diproduksi dalam skala industri.</p>
2010	<p>Ilmuwan dari J. Craig Venter Institute Amerika Serikat telah menghasilkan sel bakteri sintesis pertama di dunia, yang diberi nama Synthia (JCV1-syn1.0). Sel ini dikendalikan oleh genom sintesis yang mampu melakukan replikasi diri.</p> <p>Ilmuwan Universitas Arizona, dipimpin oleh ahli entomologi Michael Riehle, telah mengembangkan nyamuk melalui rekayasa genetika, yang tidak dapat terinfeksi oleh plasmodium malaria.</p>
2012	<p>Jennifer Doudna, seorang ahli biokimia dari Universitas California, dan Emmanuelle Charpentier peneliti yang bekerja di Jerman, mengembangkan teknik CRISPR-Cas9 untuk mengedit genom dengan ketepatan, efisiensi, dan fleksibilitas yang tinggi.</p> <p>Ilmuwan Universitas Sher-i-Kashmir telah mengloning seekor kambing Himalaya yang langka, dengan harapan dapat membantu meningkatkan jumlah hewan yang terkenal dengan bulunya yang lembut untuk membuat wol pashmina dan bahan kain cashmere.</p>
2013	<p>Mata bionik yang dikembangkan oleh Second Sight Medical Products telah memberi harapan kepada orang-orang buta di seluruh dunia untuk dapat melihat.</p> <p>Ilmuwan Jepang untuk pertama kalinya berhasil mengembangkan jaringan hati manusia yang dapat berfungsi dari sel punca <i>pluripotent</i> yang berasal dari sel kulit. Ini merupakan awal kesuksesan dalam bidang kesehatan di mana hati dan organ transplantasi yang sangat dibutuhkan dapat dibuat di laboratorium.</p>
2014	<p>Ilmuwan dari Universitas Pittsburgh mengimplantasikan bahan perancah dari organ babi ke beberapa pemuda yang lumpuh karena cedera kaki. Pengobatan tersebut berhasil merangsang sel-sel punca mereka untuk menumbuhkan kembali otot-otot baru.</p>
2015	<p>Sebuah tim dari Universitas Northeastern di Boston telah mengisolasi antibiotik jenis baru, teixobactin, dari genus bakteri yang sebelumnya tidak diketahui dan sulit dibiakkan. Mereka menemukan metode baru menggunakan <i>chip</i> elektronik untuk menumbuhkan mikroba di dalam tanah dan kemudian mengisolasi senyawa antibiotik yang dikandungnya.</p> <p>Konsorsium internasional mempublikasi peta epigenom manusia yang paling lengkap. Konsorsium tersebut memetakan lebih dari 100 jenis sel manusia, untuk memahami bagaimana menyembuhkan suatu penyakit berdasarkan kaitan kompleks antara DNA dan penyakit.</p>

M Perkembangan Bioteknologi Awal Abad XXI

- 2016 Ilmuwan Vanderbilt Vaccine Center di Tennessee berhasil mengisolasi antibodi manusia yang menghambat infeksi dari virus Zika. Dalam uji coba pada tikus, antibodi, yang disebut ZIKV-117, ini juga melindungi janin pada tikus pengerat yang terinfeksi virus. Virus yang ditularkan nyamuk ini telah dikaitkan dengan microcephalus dan juga abnormalitas organ bawaan lainnya pada anak-anak yang lahir dari wanita yang terinfeksi.

C. ILMU DAN TEKNOLOGI PENDUKUNG BIOTEKNOLOGI

Para ahli menerjemahkan fenomena-fenomena alam dengan berbagai metode ilmiah dan dirangkum menjadi suatu ilmu. Ilmu selanjutnya dikembangkan dan diaplikasikan dalam kehidupan sehari-hari dengan bentuk teknologi. Beberapa ilmu dan teknologi yang mendukung bioteknologi dapat diilustrasikan seperti pada Gambar 1.1 berikut.



Sumber: Smith (2009)

Gambar 1.1

Pohon Bioteknologi yang Menggambarkan tentang Lingkup Bioteknologi dengan Ilmu dan Teknologi Pendukung serta Aplikasi Bioteknologi

1. Fisiologi

Fisiologi, yang juga dikenal dengan ilmu faal, merupakan cabang biologi yang berkaitan dengan fungsi dan kegiatan kehidupan atau zat hidup (organ, jaringan, atau sel). Ilmu fisiologi menggunakan tahapan dan langkah serta berbagai macam metode

untuk dapat mempelajari sebuah sel lalu biomolekul kemudian organ dan jaringan. Selain itu, fisiologi juga mempelajari organisme dan sebuah sistem organ secara merata dan keseluruhan untuk menjalankan fungsi fisik serta zat kimiawinya agar mendukung sebuah kehidupan.

2. Mikrobiologi

Mikrobiologi merupakan cabang biologi yang mempelajari tentang mikroba atau jasad renik. Pengetahuan tentang sifat-sifat dan struktur mikroba mendukung kemajuan bioteknologi. Seperti bakteri *Thermus aquaticus* yang dapat tumbuh dan toleran terhadap suhu tinggi. DNA polimerase dari bakteri ini tidak rusak dan hancur pada suhu tinggi hingga 100°C, sehingga dapat dimanfaatkan pada teknik amplifikasi DNA menggunakan mesin PCR (*Polymerase Chain Reaction*).

3. Biologi Sel

Biologi sel merupakan cabang biologi yang mempelajari tentang sifat-sifat dan struktur sel. Pengetahuan mengenai sifat protoplasma suatu sel yang dapat berfusi atau bergabung dengan protoplasma sel lain pada spesies yang sama maupun berbeda, bermanfaat bagi aplikasi fusi sel untuk meningkatkan keragaman hayati. Fusi sel tersebut dapat dilakukan pada sel tanaman kedelai dengan jagung, serta sel tanaman kedelai dengan kacang kapri.

Contoh lainnya adalah pengetahuan mengenai sifat totipotensi pada sel-sel tanaman bermanfaat untuk kultur jaringan. Totipotensi merupakan kemampuan sel-sel tanaman untuk berdiferensiasi dan tumbuh menjadi berbagai organ dan membentuk tanaman yang baru.

4. Genetika

Genetika merupakan cabang biologi yang mempelajari pewarisan sifat-sifat genetik makhluk hidup dari suatu generasi ke generasi berikutnya. Pemahaman mengenai bentuk dan karakteristik materi pewaris sifat, yaitu DNA (gen) akan membantu percepatan kemajuan bioteknologi. Tanaman transgenik tomat yang tahan disimpan lama, insulin manusia yang disintesis dari bakteri *Escherichia coli* dan lainnya merupakan penerapan ilmu genetika dalam bioteknologi.

5. Biokimia

Biokimia merupakan cabang ilmu kimia yang mempelajari struktur dan fungsi komponen selular, seperti protein, karbohidrat, lipid, asam nukleat, dan biomolekul lainnya. Ilmu ini juga mempelajari berbagai proses pada organisme mulai dari yang sederhana sampai yang kompleks. Biokimia menganggap hidup adalah kimia, gejala hidup adalah gejala kimia dan proses-proses hidup diselenggarakan atas dasar reaksi dan peristiwa kimia.

6. Immunologi

Imunologi mempelajari semua aspek sistem imun (kekebalan tubuh) dalam merespons atau melawan mikroorganisme atau unsur asing penyebab penyakit (seperti virus, bakteri, dan toksin dari bakteri), termasuk struktur dan fungsi sistem imun, kegagalan pada sistem imun, imunisasi, dan transplantasi organ tubuh.

Semenjak Edward Jenner memperkenalkan vaksin dalam mencegah penyakit cacar di tahun 1796, pemahaman kita tentang imunologi berkembang pesat, antara lain tentang peranan mikroba dalam menimbulkan penyakit, interaksi sel pembentuk antibodi dan antigen, serta implikasi dari sistem imun mulai disadari. Antigen, seperti bakteri berikut toksinnya, memicu pembentukan antibodi dalam darah setelah adanya serangan penyakit infeksi. Riset terhadap AIDS sangat intensif dilakukan untuk mengetahui mekanisme defisiensi sistem imun, serta penyakit-penyakit yang timbul karena autoimun, seperti *rheumatoid*, *arthritis*, *lupus erythematosus*, yang terjadi karena reaksi pertahanan tubuh yang berlebihan terhadap komponen miliknya sendiri.

7. Teknologi Bioinformatika dan Biologi Komputasi

Teknologi bioinformatika mengembangkan algoritma, teknik komputasi dan statistika untuk mengelola dan menganalisis data biologi dalam menghasilkan sebuah informasi, sedangkan biologi komputasi melakukan simulasi data biologi berdasarkan asumsi-asumsi dalam mengembangkan pengetahuan biologi untuk menghasilkan sebuah hipotesis.

Dengan teknologi ini kita dapat menganalisis atau mengetahui komposisi molekul pada untai DNA maupun sistem biologi suatu organisme yang berhubungan dengan materi genetik. Kita juga dapat mengetahui apakah gen yang baru diidentifikasi mirip dengan gen-gen terdahulu yang telah kita teliti sebelumnya, atau yang ada di dalam *database*, seperti GenBank, EMBL, dan SWISS-PROT. Dengan demikian, riset-riset bioteknologi dapat diselesaikan dengan lebih cepat dan akurat. Teknologi bioinformatika sangat berjasa dalam proyek genom manusia, yang berhasil membukukan tiga miliar pasangan basa nukleotida dalam sistem DNA manusia.

Beberapa penelitian yang memanfaatkan teknologi bioinformatika antara lain adalah pencarian gen target, perkiraan struktur protein, merakit genom dan struktur protein, perkiraan ekspresi suatu gen, model evolusi suatu organisme, pengukuran keragaman hayati pada spesies, serta analisis sel yang bermutasi dalam sel kanker.

8. Teknologi Antibodi Monoklonal

Teknologi antibodi monoklonal menggunakan sel-sel sistem imunitas yang membuat protein yang disebut antibodi. Sistem kekebalan kita tersusun dari sejumlah tipe sel yang bekerja sama untuk melokalisir dan menghancurkan substansi yang dapat memasuki tubuh kita. Tiap tipe sel mempunyai tugas khusus. Beberapa dari sel tersebut dapat membedakan komponen dari sel tubuh sendiri (*self*) dan sel-sel asing (*nonself*). Salah satu dari sel-sel yang cerdas ini adalah sel limfosit B yang mampu menanggapi masuknya substansi asing dengan cara menghasilkan antibodi. Antibodi akhirnya akan mengikat substansi asing dengan keakuratan yang luar biasa.

Dengan mengetahui cara kerja antibodi, maka kita dapat memanfaatkannya untuk keperluan deteksi, kuantitasi dan lokalisasi. Pengukuran dengan pendeteksian menggunakan teknologi ini relatif cepat, lebih akurat, dan lebih peka karena ketepatannya yang tinggi. Teknologi antibodi monoklonal saat ini telah digunakan untuk deteksi kehamilan, alat diagnosis berbagai penyakit infeksi, dan deteksi sel-sel kanker. Pada akhirnya juga diharapkan agar teknologi ini tidak hanya dapat digunakan untuk deteksi kanker, tetapi juga untuk mengobati berbagai jenis kanker dengan menggabungkan radioisotop atau senyawa sitotoksik pada antibodi khusus yang mengenali sel-sel kanker. Oleh karena ketepatannya yang tinggi maka teknologi ini dapat digunakan untuk membunuh sel kanker tanpa mempengaruhi sel-sel yang sehat di sekitarnya. Selain kegunaannya untuk sistem diagnosis pada manusia, teknologi ini juga banyak dipakai untuk mendeteksi penyakit-penyakit pada tanaman dan hewan, kontaminasi pangan dan polutan lingkungan.

9. Teknologi Sel dan Kultur Jaringan

Teknologi sel dan kultur jaringan adalah teknologi yang memungkinkan kita menumbuhkan sel atau jaringan dalam nutrien yang sesuai di laboratorium.

a. Kultur sel tanaman

Kultur sel dan jaringan tanaman merupakan aspek yang sangat penting dalam bioteknologi tanaman. Teknologi ini berlandaskan pada kemampuan unik sel-sel atau jaringan tanaman untuk menghasilkan tanaman multiselular dari satu sel tunggal yang dapat berdiferensiasi (totipotensi).

Rekayasa genetika tanaman pada umumnya dilakukan pada taraf satu sel tunggal. Jika satu sel daun direkayasa agar membawa sifat yang menguntungkan, misalnya membawa sifat resisten pada serangga maka sel tersebut harus dapat berkembang menjadi tanaman utuh sehingga dapat bermanfaat bagi petani. Meskipun belum diterapkan pada semua spesies tanaman, proses regenerasi tersebut dapat dilakukan melalui teknologi sel dan kultur jaringan.

b. Kultur sel hewan

Dengan menggunakan kultur sel insekta (serangga) untuk menumbuhkan virus-virus yang dapat menginfeksi serangga memungkinkan kita untuk memperluas pemakaian virus dan baculovirus sebagai agen biokontrol. Sel-sel mamalia juga telah digunakan untuk pemuliaan hewan-hewan ternak tertentu.

Masyarakat medis menggunakan kultur sel untuk mempelajari aspek keamanan dan efektivitas senyawa biofarmasi, mekanisme molekuler infeksi virus dan replikasinya, sifat toksisitas suatu senyawa, serta dasar-dasar biokimia sel. Kombinasi antara kultur sel mamalia dan teknologi rekayasa biokimia akan memberikan harapan untuk memproduksi senyawa seluler tertentu dalam jumlah banyak. Studi lanjut dalam kultur sel mamalia saat ini memungkinkan para pakar untuk menumbuhkan berbagai jenis sel manusia. Pada akhirnya dapat digunakan untuk memproduksi jaringan tertentu untuk mengganti suatu jaringan yang rusak atau hilang, misalnya karena penyakit atau kecelakaan.

10. Teknologi Rekayasa Biokimia

Teknologi rekayasa biokimia adalah pengembangan desain dan konstruksi unit proses yang berkaitan dengan fungsi selular dan biokimia suatu molekul maupun organisme. Awalnya teknologi rekayasa biokimia bergerak dalam optimasi pertumbuhan mikroorganisme di dalam bioreaktor (fermentor) pada kondisi aerob, dari skala laboratorium hingga skala ribuan liter, yang bertujuan untuk memproduksi metabolit, biomassa, biokimia atau protein.

Kultur mikroba dan sel tetap memegang peranan penting dalam teknologi rekayasa biokimia, termasuk sel tanaman, mamalia maupun sel hasil rekayasa genetika. Dengan perkembangan teknologi, rekayasa biokimia kini berperan luas pada berbagai industri bioteknologi, meliputi pertanian, pangan, enzim, limbah, dan energi. Produk jagung, misalnya dengan teknologi ini kita dapat mengubahnya menjadi berbagai macam produk baru yang berdaya guna, seperti bioetanol, pemanis minuman, polimer murah untuk industri, pakan ternak, produk plastik, kain dan lainnya. Bahkan kini teknologi ini terlibat langsung dalam pengembangan produk-produk kesehatan, termasuk antibiotik, asam amino, hormon, vitamin, pelarut-pelarut organik, pestisida, bahan-bahan pembantu proses pengolahan pangan, pigmen, enzim, inhibitor enzim, dan berbagai bahan biofarmasi.

11. Teknologi Rekayasa Genetika

Rekayasa genetika yang sering kali bersinonim dengan teknologi DNA rekombinan merupakan tulang punggung dan pelopor lahirnya bioteknologi molekuler. DNA rekombinan dikonstruksi dengan menggabungkan materi genetik dari dua atau lebih sumber yang berbeda atau melakukan perubahan secara terarah pada suatu materi genetik tertentu. Di alam, materi genetik melakukan rekombinasi secara konstan.

Berikut ini merupakan beberapa contoh rekombinasi materi genetik dari dua sumber organisme atau lebih.

- a. Rekombinasi yang terjadi saat pindah silang dalam pembentukan gamet pada proses meiosis.
- b. Saat sperma dan ovum melebur pada proses fertilisasi.
- c. Saat bakteri melakukan transaksi bahan genetik melalui konjugasi transformasi atau transduksi.

Dalam tiap contoh rekombinasi tersebut dapat dimengerti bahwa rekombinasi merupakan salah satu cara untuk meningkatkan terjadinya keragaman hayati di alam. Materi genetik yang ada di alam menyajikan suatu bahan mentah evolusi yang dilakukan oleh seleksi alam atau seleksi buatan yang dilakukan oleh manusia.

Istilah teknologi DNA atau rekayasa genetika secara ringkas dapat diartikan sebagai teknik molekuler yang mampu menggabungkan molekul DNA tertentu dari sumber-sumber berbeda. Rekombinasi DNA dilakukan dengan enzim (enzim restriksi dan enzim ligase) yang dapat melakukan pemotongan dan penyambungan molekul DNA dengan tepat dan dapat diperkirakan. DNA rekombinan, selanjutnya dimasukkan ke dalam makhluk sasaran dengan introduksi langsung (transformasi) melalui virus atau bakteri.

Oleh karena itu, dalam melakukan rekombinasi genetik, seorang pemulia selain dapat melakukannya melalui penggabungan sel telur dan sperma (atau serbuk sari dan putik pada tumbuhan) pada metode pemuliaan selektif, dia dapat pula melakukan rekombinasi bahan genetik dengan ketepatan yang lebih tinggi dengan melakukan pada taraf molekuler.

12. Teknologi Rekayasa Protein

Teknologi rekayasa protein sering digunakan bersamaan dengan rekayasa genetika untuk meningkatkan profil atau kinerja suatu protein dan untuk mengonstruksi protein baru yang secara alami tidak ada. Secara teoretis, kita akhirnya akan dapat mengonstruksi setiap jenis protein dari bahan dasarnya. Meskipun demikian, penelitian rekayasa protein saat ini masih dipusatkan pada modifikasi protein yang sudah ada.

Dengan teknologi rekayasa protein kita dapat meningkatkan daya katalis suatu enzim sehingga dapat lebih produktif pada kondisi proses industri. Misalnya saja ketahanannya terhadap temperatur dan pH yang ekstrem. Selain itu, kemajuan dalam rekayasa protein juga memungkinkan kita membuat enzim baru dengan dasar antibodi, yang disebut abzyme. Abzyme membuka cakrawala baru dalam enzymologi yang menjanjikan berbagai kemungkinan penerapannya yang menakjubkan.

13. Teknologi Biofisika

Teknologi Biofisika merupakan perpaduan antara fisika dan biologi, yang memanfaatkan metode aplikasi dan mekanisme fisika dalam mempelajari struktur makhluk hidup dan proses kehidupan. Teknologi biofisika erat kaitannya dengan fungsi biologis yang berhubungan dengan agen fisika, seperti medan listrik dan tenaga mekanik maupun interaksi antara makhluk hidup dengan cahaya, suara, dan radiasi ion. Selain interaksi antara makhluk hidup dengan lingkungannya seperti daya penggerak, navigasi dan komunikasi, juga untuk mengetahui transmisi impuls syaraf, mekanisme kontraksi otot atau mekanisme penglihatan. Subjek kajian biofisika, meliputi analisis sekuen suatu genom hingga jaringan syaraf, termasuk tulang, otot dan molekul organik pada sel membran.

Pembentukan teknologi biofisika molekuler sebagai bidang studi yang terpisah relatif masih baru. Penemuan peralatan fisika, seperti mikroskop elektron, ultrasentrifuse, amplifier elektronik yang banyak membantu riset-riset biofisika, turut mencetuskan pembentukan bidang studi ini. Dengan alat sinar-X kristalografi, misalnya kita dapat menentukan struktur molekul yang rumit, seperti protein, mengukur interaksi kinetik suatu molekul maupun kajian pada bidang kesehatan, seperti penyakit kanker, jantung, dan lainnya.

14. Teknologi Biosensor

Teknologi biosensor merupakan gabungan antara biologi molekuler dan mikroelektronika. Biosensor adalah suatu alat pendeteksi yang terdiri dari suatu substansi biologi yang digandengkan dengan transduser elektronika. Substansi biologis

dapat berupa mikroba, sel tunggal dari hewan multiseluler, atau komponen seluler, seperti enzim atau antibodi. Biosensor memungkinkan kita untuk mengukur konsentrasi suatu senyawa yang hanya terdapat dalam konsentrasi yang sangat rendah.

Bagaimana cara kerja biosensor? Apabila senyawa kimia yang diukur konsentrasinya bertumbukan dengan detektor biologis, maka transduser akan menghasilkan suatu arus listrik kecil. Besar kecilnya sinyal listrik ini sebanding dengan konsentrasi senyawa kimia yang terdapat di lingkungan tersebut.

Teknologi biosensor dapat digunakan dalam berbagai bidang, seperti pengukuran derajat kesegaran suatu bahan pangan, memonitor suatu proses industri atau mendeteksi senyawa yang terdapat dalam jumlah kecil di dalam darah. Dengan menggabungkan biosensor glukosa pada pompa infus insulin maka kadar gula darah dapat dipertahankan dengan stabil setiap waktu pada penderita diabetes.

15. Bioteknologi Pangan

Teknologi pangan yang terkait dengan bioteknologi adalah proses rekayasa suatu gen atau DNA tertentu dari produk pangan. Tujuan dari bioteknologi pangan adalah mengembangkan produk pertanian yang tahan terhadap hama dan penyakit, transportasi, serta memperbaiki penampilan fisik, tekstur dan rasa. Selain itu juga tahan terhadap kondisi cuaca ekstrem, seperti kekeringan dan suhu dingin sehingga dapat meningkatkan produktivitas pangan yang sebelumnya terkendala oleh kondisi tanah dan iklim.

Aplikasi bioteknologi pangan, meliputi peningkatan kandungan nutrisi, misalnya zat besi dan beta-karotin (provitamin A) pada wortel dan beras, penghapusan atau menon-aktifkan gen penyebab alergi sehingga tidak terekspresi pada biji-bijian dan kacang-kacangan, serta penundaan proses pematangan pada buah-buah tropis, agar tetap segar. Rockefeller Foundation telah mengembangkan “Golden Rice”, sebagai pangan dengan sumber vitamin A bagi anak-anak di negara ketiga, untuk mengurangi risiko rabun senja dan kebutaan. Kentang hasil rekayasa dengan kandungan pati tinggi menambah potensinya dalam mengurangi kandungan lemak setelah digoreng. Hal ini karena pati menggantikan kandungan air di dalam kentang sehingga lemak yang terserap saat digoreng menjadi berkurang.

Dewasa ini, vaksin yang digunakan membutuhkan biaya produksi yang tinggi serta ruang simpan khusus dengan pendingin saat transportasi. Riset pengembangan vaksin berbasis protein, yang merancang agar vaksin diproduksi oleh tanaman pangan sehingga dengan hanya memakan produk pertanian tersebut. Vaksinasi pun dapat kita laksanakan secara bersamaan. Teknologi ini memungkinkan negara ketiga mampu memproduksi vaksin lokal sendiri, mengurangi biaya produksi dan meningkatkan program vaksinasi global dalam mencegah berbagai penyakit menular. Dalam usaha mengantisipasi akan membludaknya populasi penduduk dunia, metode ini juga memungkinkan meningkatkan produksi pangan berkualitas yang lestari.

16. Bioteknologi Lingkungan

Bioteknologi lingkungan adalah perpaduan berbagai bidang ilmu yang memanfaatkan potensi biokimia dari suatu mikroorganisme, tanaman atau bagian-bagiannya untuk konservasi dan perbaikan suatu lingkungan yang tercemar (tanah, air, dan udara). Dengan teknologi ini, kita juga mengembangkan, dan mengatur sistem biologi untuk menghasilkan teknologi proses dan produksi yang ramah lingkungan serta melakukan perlindungan sumber daya alam secara lestari.

Mikroba dengan enzim yang digunakannya untuk menguraikan molekul-molekul organik dapat membantu kita untuk membersihkan atau memecahkan sejumlah masalah lingkungan tertentu, seperti tumpahan minyak, tempat-tempat pembuangan bahan toksik, dan residu pestisida. Pemanfaatan populasi mikroba untuk membersihkan polusi lingkungan dikenal dengan sebutan bioremediasi. Salah satu contoh yang paling terkenal dalam bioremediasi dalam pemakaian bakteri pendegradasi minyak untuk membersihkan tumpahan minyak Exxon Valdez di Prince William Sound, Alaska pada tahun 1989, dan tumpahan minyak di Irak setelah Perang Teluk tahun 1991.

D. KEUNTUNGAN DAN KERUGIAN BIOTEKNOLOGI

Bioteknologi memiliki keuntungan dan kerugian terhadap kehidupan masyarakat beserta lingkungannya. Melalui pemuliaan konvensional, manusia sebenarnya telah melakukan perubahan komposisi genetika pada tanaman dan hewan ternak selama bertahun-tahun melalui proses kawin silang dan seleksi. Tanaman dan hewan ternak pilihan, yaitu yang memiliki sifat lebih unggul, diperbanyak, dan dibudidayakan. Waktu itu, perubahan sifat tidak sepenuhnya dapat dikendalikan. Peningkatan suatu karakter dalam suatu individu, ternyata juga berdampak terhadap penurunan karakter lain, yang sebenarnya juga dibutuhkan. Misalnya, pada pemuliaan tanaman kedelai, peningkatan produktivitas berdampak terhadap penurunan kadar protein pada kedelai. Meningkatnya pemahaman kita terhadap proses pertumbuhan dan perkembangan organisme, serta proses dalam sel molekuler dan genetika, kini kita dapat mengontrol perubahan yang akan terjadi. Pemilihan sifat unggul yang diinginkan dapat lebih cermat dan akurat, tanpa mengganggu keseimbangan sifat-sifat lain yang juga kita butuhkan.

Konsep kesehatan dan obat-obatan sangat berhubungan dengan pangan dan lingkungan. Kelaparan dan gizi buruk berakibat langsung terhadap penyakit dan kematian. Isu etika dalam aplikasi bioteknologi kesehatan menjadi lebih vokal setelah proyek genom manusia selesai dilakukan dan hasilnya dipublikasikan. Apakah bioteknologi mampu menyembuhkan semua orang sakit? Ataupun justru ada kekhawatiran bahwa bioteknologi akan membuat jurang antara masyarakat kaya dan miskin semakin besar. Hak paten terhadap obat-obatan hasil rekayasa molekuler, menghalangi si miskin untuk mendapatkan akses perawatan kesehatan modern. Namun, harus dilakukan pendekatan yang berimbang dan rasional agar masyarakat dari negara miskin dapat memperoleh pembagian keuntungan berupa saham dari kemajuan teknologi ini. Salah satunya karena banyak sumber daya genetik untuk merekayasa obat-obatan tersebut diperoleh dari negara-negara yang sedang berkembang dan miskin tersebut.

1. Keuntungan Bioteknologi

Bioteknologi banyak berperan dalam penyediaan produk pangan dunia. Berbeda dengan revolusi hijau, yang lebih berkonsentrasi untuk menghasilkan varietas tanaman pangan unggul dengan produktivitas tinggi, revolusi bioteknologi berkiprah lebih jauh dari itu. Varietas tanaman unggul dirakit sehingga tahan terhadap herbisida, tahan terhadap hama, penyakit dan virus, tahan terhadap garam atau kekeringan, di samping juga meningkatkan kualitas dan produktivitas. Melalui produk bioteknologi, tanaman yang ditanam bebas dari gangguan agro-ekosistem. Di negara maju, pertanian diusahakan dalam skala besar dan telah menjadi bisnis yang menggiurkan. Selanjutnya, pengembangan tanaman pangan transgenik yang mengandung vaksin atau nutrisi tertentu, sangat bermanfaat bagi penduduk yang kurang gizi di negara miskin, untuk mencegah kelaparan dan penyakit akibat gizi buruk.

Bioteknologi peternakan berperan dalam menghasilkan hormon pertumbuhan, pakan bergizi tinggi, antibodi, dan vaksin, serta mengatasi masalah pelestarian spesies hewan langka yang hampir punah. Dengan teknologi transplantasi nukleus, hewan langka bisa dilestarikan dan terhindar dari ancaman kepunahan.

Bioteknologi memegang peranan nyata dalam mengendalikan dan memperbaiki mutu lingkungan hidup. Pada saat ini, bioteknologi difokuskan untuk mengelola limbah domestik, pertanian, industri, pertambangan dan lainnya. Pengelolaan dengan bioteknologi tidak hanya menyelamatkan dan mengamankan bahan-bahan buangan, tetapi juga mengembangkan sistem efektif untuk mendaur ulang, yang dapat menghasilkan sumber energi dan bahan makanan alternatif. Cemar air laut oleh tumpahan minyak dari kapal tangki berpengaruh buruk terhadap biota laut, serta memerlukan waktu yang lama untuk membersihkannya. Pemanfaatan mikroorganisme transgenik untuk mengurangi cemaran minyak adalah contoh lain dari kemampuan bioteknologi bagi lingkungan. Selain itu, kemampuan mikroba *Thiobacillus ferrooxidans* untuk mencuci logam dari biji yang bermutu rendah adalah juga keunggulan dari bioteknologi. Tembaga, uranium, dan emas dapat secara efektif kita ekstraksi dari limbah mineral sehingga mengurangi kerusakan lingkungan.

Manfaat yang diperoleh dari inovasi bioteknologi industri secara ekonomi adalah penerapannya dapat dilakukan pada skala kecil, tanpa membutuhkan infrastruktur yang besar. Aplikasi bioteknologi yang canggih sekalipun dapat diadaptasikan sehingga bisa dioperasikan dengan dana yang minimum, dengan tanpa mengorbankan kualitas produk. Dengan demikian, bioteknologi dapat diterapkan di negara yang sedang berkembang sekalipun. Tentunya dengan tetap selalu memperhatikan dampaknya terhadap strata sosial dan kehidupan masyarakatnya, serta dukungan perangkat lunak seperti sistem informasi, personil yang terlatih serta berkualitas dan lain sebagainya.

2. Kerugian Bioteknologi

Keunggulan dan kemampuan bioteknologi dalam bidang pertanian tidak banyak pengaruhnya bagi negara-negara yang sedang berkembang maupun miskin. Di negara ini, pertanian masih merupakan aktivitas sosial yang dikerjakan oleh anggota keluarga

sendiri dalam skala kecil. Meningkatkan kompetisi pasar atas nama globalisasi, tanpa dukungan infrastruktur yang memadai, malah akan mematikan usaha pertanian yang demikian. Adanya hak paten untuk produk bioteknologi, misalnya tanaman transgenik, menyebabkan kesenjangan yang timbul antara petani tradisional dengan petani berdasar menjadi semakin lebar. Pertanian akan dikuasai oleh investor-investor yang mempunyai modal besar dan menyingkirkan petani-petani tradisional yang hanya mempunyai modal kecil. Akibatnya, teknologi baru bukannya meningkatkan pendapatan petani tradisional yang sudah miskin tetapi malah menambah beban hidupnya. Hak paten menyebabkan tanaman transgenik tidak dapat dikembangkan oleh orang lain. Karena bioteknologi pula, petani menjadi sangat tergantung terhadap benih-benih tanaman unggul pada setiap musim tanam. Petani yang biasanya menyisihkan benih untuk penanaman berikutnya, tidak dapat lagi melakukannya. Hak paten menetapkan pemakaian benih hanya satu kali. Benih hasil panen tidak diperkenankan untuk penanaman berikutnya.

Bioteknologi menimbulkan perubahan sosial, budaya dan etika di kalangan masyarakat. Adanya produk hasil rekayasa genetika menyebabkan bertambahnya pilihan yang dapat kita lakukan. Masalah yang timbul adalah karena dalam teknologi ini gen dari suatu organisme dapat disisipkan ke organisme lain. Asal gen ini merupakan masalah karena berkaitan dengan agama atau pola makan yang melarang atau memanfaatkan organisme tertentu termasuk bagian-bagian dari organisme tersebut.

Kerugian produk bioteknologi lainnya adalah hasil modifikasi genetika suatu organisme dapat mendesak dan menyingkirkan plasma nutfah lokal. Kemudian timbulnya ancaman bioterorisme dengan memanfaatkan bioteknologi untuk tujuan terorisme, seperti misalnya mengembangkan virus antraks yang mematikan.

Dampak negatif dari bioteknologi sangat terasa bagi negara-negara yang sedang berkembang dan miskin, terutama terhadap lingkungan, sosial, hukum, dan ekonominya. Produk bioteknologi akan bersaing dengan produk negara tersebut yang masih menggantungkan penghasilannya dari ekspor produk tanaman dan bahan-bahan alamiah.

Tabel 1.1
Beberapa Keuntungan dan Kerugian dari Aspek-aspek Bioteknologi Tanaman

Aspek	Keuntungan	Kerugian
Keragaman genetik	Mudah dalam pertukaran plasma nutfah; sumber pemuliaan yang lebih luas; sumber genetik bagi produk baru; mengurangi kegagalan panen	Meningkatkan keseragaman dan kerentanan; erosi genetik
Identifikasi plasma nutfah	Menghilangkan sifat-sifat yang tidak diinginkan; pengembangan kultivar baru lebih cepat	Mengabaikan kondisi dan kearifan lokal, seperti hama dan penyakit lokal

Aspek	Keuntungan	Kerugian
Perbanyakkan kultivar	Produksi tanaman baru dengan variasi yang luas; <i>replanting</i> dapat dilakukan dalam musim tanam yang sama	Mengurangi potensi biologis jangka panjang bagi tanaman
Produksi	Peningkatan hasil panen yang signifikan	Kelebihan produksi: stabilitas pasar terganggu; pendapatan ekspor berkurang
Hama dan penyakit	Cara baru dan cepat untuk menghilangkan hama dan penyakit epidemik	Mengubah komposisi organisme alami dengan konsekuensi yang tidak kita pahami
Mekanisasi Pertanian	Kemudahan dalam panen dan proses pascapanen	Pengangguran; keanekaragaman produk berkurang
Plasma nufah	Kemudahan dalam penyimpanan jangka panjang	Penyimpanan terkonsentrasi di beberapa negara, yang berpotensi untuk dieksploitasi atau diskriminasi
Penggunaan lahan	Lahan yang digunakan untuk produksi berkurang sehingga lahan yang tersisa dapat dipergunakan untuk kepentingan nasional lainnya atau dibagikan kepada petani miskin	Kelebihan produksi global; tekanan ekonomi berat sehingga tidak mampu mengambil potensi keuntungan
Lingkungan	Pengembangan organisme yang mampu bertahan hidup pada lingkungan alam yang sulit	Pelepasan mikroorganisme hasil rekayasa genetika dapat mengganggu keseimbangan alam

Latihan

Untuk memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah latihan berikut!

- 1) Mengapa perbaikan galur mikroba merupakan bagian proses industri bioteknologi yang paling sulit dioptimalkan?
- 2) Apa perbedaan antara bioteknologi konvensional dan bioteknologi molekuler?
- 3) Mengapa hasil penelitian Cohen dan Boyer yang dilaporkan pada tahun 1973 dianggap penting dalam perkembangan industri bioteknologi?
- 4) Mengapa perkembangan bioteknologi molekuler sangat tergantung pada penelitian dasar?
- 5) Apakah keuntungan insulin manusia yang diproduksi oleh *E. coli*?

Petunjuk Jawaban Latihan

- 1) Perbaikan galur mikroba dengan cara mutasi acak (biasanya dengan mutagenesis kimia atau radiasi ultraviolet) tidak dapat diperkirakan hasilnya dan sering kali menimbulkan mutan yang bersifat pleiotrofik (ada mutasi lain yang tidak kita inginkan). Selain itu, ada sifat-sifat tertentu yang tidak mungkin diperbaiki dengan mutasi acak karena batasan informasi genetik dipunyai oleh organisme yang bersangkutan.
- 2) Bioteknologi molekuler merupakan gabungan antara bioteknologi konvensional dengan rekayasa genetika. Meskipun bioteknologi merupakan kumpulan berbagai disiplin ilmu, rekayasa genetika menduduki posisi penting karena kontribusinya yang sangat revolusioner dalam perbaikan galur, yang sebelumnya paling sulit dioptimalkan.
- 3) Cohen dan Boyer pada tahun 1973 melaporkan keberhasilannya dalam mengonstruksi DNA rekombinan. Keberhasilan ini merupakan titik awal lahirnya teknologi DNA rekombinan yang menjadi tulang punggung bioteknologi molekuler.
- 4) Keberhasilan bioteknologi molekuler sangat tergantung pada kemampuan kita dalam mengidentifikasi suatu masalah yang berkaitan dengan biologi lalu mencoba mencari pemecahannya melalui strategi penelitian yang paling relevan.
- 5) Pemeliharaan bakteri *E. coli* di dalam laboratorium mudah dilakukan dan dipantau sehingga biaya produksi menjadi murah dan terkontrol.

**Rangkuman**

Bioteknologi adalah penggunaan organisme atau sistem hidup untuk memecahkan suatu masalah atau untuk menghasilkan produk yang berguna. Jadi, bioteknologi bukanlah merupakan terobosan teknologi yang revolusioner karena sebetulnya teknologi ini sudah ada sejak adanya peradaban manusia.

Beberapa ilmu dan teknologi yang mendukung bioteknologi antara lain fisiologi, mikrobiologi, biologi sel, genetika, biokimia, imunologi, teknologi bioinformatika dan biologi komputasi, teknologi antibodi monoklonal, teknologi sel dan kultur jaringan, teknologi rekayasa biokimia, teknologi rekayasa genetika, teknologi rekayasa protein, teknologi biofisika, teknologi biosensor, bioteknologi pangan, bioteknologi lingkungan.

Bioteknologi memiliki keuntungan dan kerugian terhadap kehidupan masyarakat beserta lingkungannya. Beberapa keuntungannya, antara lain untuk menghasilkan varietas tanaman unggul yang dirakit sehingga tahan terhadap herbisida, tahan terhadap hama, penyakit dan virus, tahan terhadap garam atau kekeringan, meningkatkan kualitas dan produktivitas, di samping juga yang mengandung vaksin atau nutrisi tertentu untuk mencegah kelaparan dan penyakit akibat gizi buruk, serta memperbaiki mutu lingkungan hidup kita. Adapun kekurangannya adalah minimnya pengaruh bioteknologi

bagi negara-negara yang sedang berkembang maupun miskin. Hak paten untuk produk bioteknologi telah menimbulkan kesenjangan yang besar antara petani tradisional dengan petani berdasar. Akibatnya, teknologi baru bukannya meningkatkan pendapatan petani tradisional yang sudah miskin, tetapi malah menambah beban dalam hidupnya. Dampak negatif dari bioteknologi lainnya adalah terganggunya keseimbangan terhadap lingkungan, sosial, hukum, dan ekonomi negara-negara yang sedang berkembang maupun miskin, serta ancaman bioterorisme.



Tes Formatif 1

Pilihlah satu jawaban yang paling tepat!

- 1) Industri yang berdasarkan bioteknologi adalah industri
 - A. kertas
 - B. produksi antibiotika
 - C. pupuk urea
 - D. minyak

- 2) Dari proses-proses bioteknologi berikut ini yang paling sulit dioptimalkan adalah
 - A. formulasi bahan baku untuk fermentasi
 - B. pemurnian produk hasil fermentasi
 - C. perbaikan galur mikroba
 - D. pembuatan pengukur pH untuk memonitor proses fermentasi

- 3) Teknologi DNA rekombinasi sangat tergantung pada penemuan-penemuan dalam bidang ilmu berikut, *kecuali*
 - A. biologi molekuler
 - B. mikrobiologi
 - C. biokimia
 - D. ornithologi

- 4) Komoditi berikut ini nampaknya tidak dapat diperoleh melalui pemuliaan selektif, tetapi dapat diperoleh melalui rekayasa genetika tanaman, yaitu
 - A. padi yang tahan wereng
 - B. kedelai yang tahan kering
 - C. pisang yang buahnya mengandung vaksin polio
 - D. durian yang manis dan legit

- 5) Rekombinasi bahan genetik terjadi melalui peristiwa berikut, yaitu
 - A. peleburan sperma dan ovum
 - B. pengganti sel-sel kulit pada manusia
 - C. terbentuknya tanaman singkong dari batang singkong
 - D. jawaban A, B, dan C salah

- 6) Yang menunjukkan adanya keterlibatan bioteknologi adalah
 - A. pembuatan agar-agar dari alga merah *Euchema spinosum*
 - B. pemanfaatan udang untuk bahan dasar kerupuk udang
 - C. diagnosa penyakit dengan menggunakan radiasi sinar X
 - D. pembuatan tape dengan menambahkan jamur *Saccharomyces* sp.

- 7) Mikroorganisme yang digunakan untuk memisahkan logam dari bijihnya adalah
 - A. *Aspergillus oryzae*
 - B. *Bacillus subtilis*
 - C. *Thiobacillus ferrooxidans*
 - D. *Lactobacillus bulgaricus*

- 8) Peranan rekayasa genetika dalam kehidupan manusia adalah
 - A. merangkai gen untuk menemukan varietas baru
 - B. membiakkan perkawinan secara buatan dan terencana
 - C. memperbanyak jenis untuk meningkatkan keanekaragaman
 - D. melakukan perubahan gen agar dapat dimanfaatkan untuk kesejahteraan manusia

- 9) Tujuan dari rekayasa genetika adalah untuk
 - A. meningkatkan sumber daya hayati untuk pangan
 - B. memanfaatkan materi genetik (gen/DNA) untuk keperluan kesejahteraan manusia
 - C. membuka peluang untuk membuat perubahan dalam produksi obat-obatan
 - D. memanfaatkan bakteri dan virus untuk mengganti gen tertentu dengan gen lain

- 10) Pemuliaan tanaman untuk mendapatkan bibit unggul dengan cara memindahkan gen tertentu dari suatu spesies lain dengan perantara mikroorganisme dikenal sebagai
 - A. kultur jaringan
 - B. mutasi buatan
 - C. transplantasi
 - D. transformasi gen

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes Formatif 1 yang terdapat di bagian akhir modul ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Kegiatan Belajar 1.

$$\text{Tingkat Penguasaan} = \frac{\text{Jumlah Jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100$$

Arti tingkat penguasaan



Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan dengan Kegiatan Belajar 2. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi Kegiatan Belajar 1, terutama bagian yang belum dikuasai

Teknologi DNA Rekombinan

A. DASAR-DASAR GENETIKA MOLEKULER

Sejak awal abad XXI ini, kita telah mampu mengonstruksi atau mengubah susunan DNA suatu organisme di dalam laboratorium, dan menyisipkannya ke suatu sel inang untuk meningkatkan atau bahkan mengubah sifat-sifat yang diwariskan oleh organisme tersebut. Namun, hanya di awal abad sebelumnya, tak seorang pun menyadari akan hubungan DNA dengan pewarisan sifat, bagaimana mengidentifikasi molekul-molekul pewarisan sifat itu atau malah bayangan akan tantangan yang lebih besar yang bakal dihadapi oleh manusia ketika berkecimpung dengan bioteknologi.

Saat ini, ratusan produk-produk yang berguna telah kita produksi melalui teknologi DNA rekombinan, dengan merekayasa materi genetik untuk tujuan-tujuan praktis. Dalam dekade terakhir ini, menggabungkan gen-gen dari berbagai individu, bahkan dari spesies yang berbeda, kemudian menyisipkan DNA rekombinan itu ke sel hidup agar dapat di replikasi dan diekspresi, telah menjadi pekerjaan rutin. Teknologi DNA telah melahirkan revolusi industri bioteknologi. Seperti produksi antibiotik dari mikroorganisme, sintesis antibodi monoklonal dengan teknik modern dari imunologi, rekayasa DNA melalui *in vitro* (tanpa sel hidup) telah lebih canggih dibanding sebelumnya dengan hasil yang lebih akurat, cepat, dan efisien. Perpindahan gen tidak lagi dibatasi oleh jenis organismenya, baik bakteri, tanaman maupun hewan.

Teknologi DNA rekombinan telah diarahkan untuk menghasilkan produk-produk baru yang berguna. Namun, dengan teknologi ini, pencapaian yang lebih berharga adalah pengertian kita yang makin maju dan mendalam akan sistem biologi molekuler pada eukariot. Hal ini juga berdampak terhadap pengembangan teknik-teknik baru dalam riset-riset dasar biologi. Sekarang ini para ahli telah banyak merancang perangkat keras beserta perangkat lunak yang canggih dan modern, dengan ketepatan yang tinggi, yang pada dekade yang sebelumnya bahkan belum terbayangkan. Metode-metode baru yang berdaya guna telah mempengaruhi hampir semua bidang dalam bioteknologi.

Pada bagian ini, kita akan membahas sel eukariota dan prokariota serta perbedaan di antara keduanya, susunan, struktur, dan replikasi DNA, serta fungsi dan keunggulan dari sekuen DNA melalui metode-metode rekayasa, kloning dan analisis terhadap DNA suatu organisme, termasuk aplikasi utama dari teknologi DNA rekombinan. Teknik-

teknik ini telah mengubah secara revolusioner riset-riset bioteknologi, teknik pencarian obat-obatan baru, pemecahan berbagai kasus kriminologi, serta pola budidaya tanaman dan ternak dalam lingkup pertanian modern.

1. Sel Eukariota dan Prokariota

Eukariota adalah organisme yang umumnya bersel jamak atau multiseluler dengan inti yang berisi materi genetik terbungkus di dalam endomembran, sehingga memisahkan inti sel dari sitoplasma yang mengelilinginya. Inti atau nukleus juga berisi nukleolus, yang merupakan struktur yang berfungsi untuk merakit komponen subunit ribosom. Sebaliknya, prokariota adalah organisme bersel tunggal atau uniseluler dengan inti atau nukleoid tanpa membran inti, sehingga materi genetiknya tersebar dalam sitoplasma.

Materi genetik berupa DNA atau kromosom pada eukariota berbentuk kompleks dengan struktur untai ganda yang mengandung basa nukleotida dan protein histon, dan jumlah kromosom lebih dari satu. Proses transkripsi terjadi di dalam inti, dan hasil transkrip mRNA kemudian diekspor melalui pori-pori inti ke sitoplasma untuk proses translasi menjadi protein. Prokariota memiliki DNA yang lebih sederhana berbentuk sirkuler, dan hanya memiliki satu kromosom atau plasmid. Transkripsi dan translasi pada prokariota terjadi secara simultan di dalam sitoplasma.

Eukariota dan prokariota juga berbeda dalam proses ekspresi gen. Regulasi eukariota jauh lebih kompleks dan sering bergantung pada berbagai mekanisme umpan balik, proses perkembangan dan faktor lingkungan. Setiap gen memiliki promotor dan menghasilkan mRNA sendiri. Sebaliknya, pada prokariota, kelompok gen dalam operon ditranskripsi secara serentak oleh promotor tunggal, dan kemudian ditranslasi menjadi protein yang berbeda-beda.

Perbedaan penting lainnya antara kedua jenis sel tersebut adalah adanya organel yang hanya terdapat pada sel eukariotik. Organel subseluler tersebut antara lain adalah mitokondria, kloroplas, badan golgi, retikulum endolasmik. Eukariota memiliki ribosom 80S yang terdiri dari subunit 40S dan subunit 60S. Sedangkan prokariota memiliki ribosom 70S yang terdiri dari subunit 30S dan subunit 50S.

Tabel 1.2
Perbedaan Eukariota dan Prokariota

No.	Eukariota	Prokariota
1.	Contoh organisme: sel hewan, sel tumbuhan, sel fungi	Contoh organisme: bakteri, archaea
2.	Ukuran sel 10-100 μm	Ukuran sel 1-10 μm
3.	Dinding sel lebih sederhana, yang hanya ditemukan pada sel tumbuhan dan fungi	Tersusun secara kompleks seperti dinding bakteri yang mengandung peptidoglikan
4.	Flagela tersusun atas banyak mikrotubula	Mengandung dua protein penyusun berupa satu untaian
5.	Sitoplasma memiliki sitoskeleton dan aliran sitoplasma	Tanpa sitoskeleton maupun aliran sitoplasma

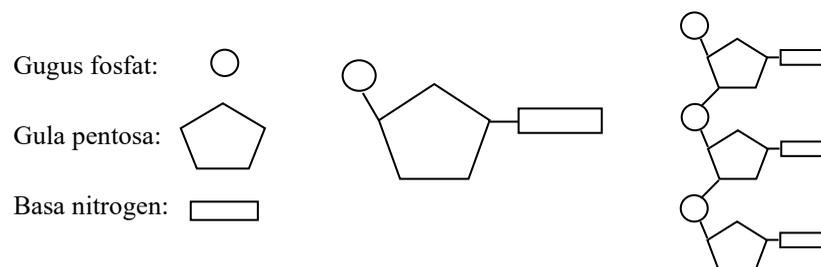
No.	Eukariota	Prokariota
6.	Pembelahan sel dengan mitosis	Dengan binari fisi
7.	Reproduksi seksual melalui meiosis	Dengan konjugasi (transfer fragmen DNA)
8.	Genom mengandung banyak sekuen non-coding dan repetitive (hampir 95% dari genom manusia tidak diekspresikan)	Genom lebih efisien dan sedikit sekuen repetitive. Hampir semua genom diekspresikan
9.	Memiliki intron dan ekson	Tidak memiliki intron, hanya ekson
10.	Tidak memiliki operon	Memiliki operon
11.	Umumnya setiap gen memiliki dua <i>copy</i> (diploid)	Umumnya setiap gen memiliki satu <i>copy</i> (haploid)
12.	Transkripsi dan translasi lebih rumit terjadi, dikarenakan akses RNA polymerase terhadap DNA lebih lama akibat DNA dikemas secara kompak dengan protein histon	Proses transkripsi dan translasi terjadi lebih sederhana

2. DNA sebagai Bahan Genetik

Asam nukleat merupakan tempat penyimpanan dan pembawa informasi genetika. Struktur asam nukleat terdiri dari rantai molekul yang panjang dan tersusun atas molekul kompleks polinukleotida. Ada dua jenis asam nukleat, yaitu DNA, asam deoksiribonukleat (*deoxyribonucleic acid*) dan RNA, asam ribonukleat (*ribonucleic acid*).

Pada tahun 1953, James Watson dan Francis Crick mempublikasi penemuan spektakuler mereka, yaitu struktur DNA dengan mengonstruksi suatu model. Mereka menyimpulkan bahwa DNA memiliki struktur heliks yang tersusun dari dua utas spiral dengan arah berlawanan. Dua utas spiral tersebut dipisahkan satu dengan lainnya oleh pasangan basa-basa DNA. Saat itu mereka menyadari bahwa mereka telah menemukan struktur tiga dimensi DNA, sebagai suatu struktur heliks beruntai ganda atau yang lebih dikenal dengan heliks ganda Watson-Crick.

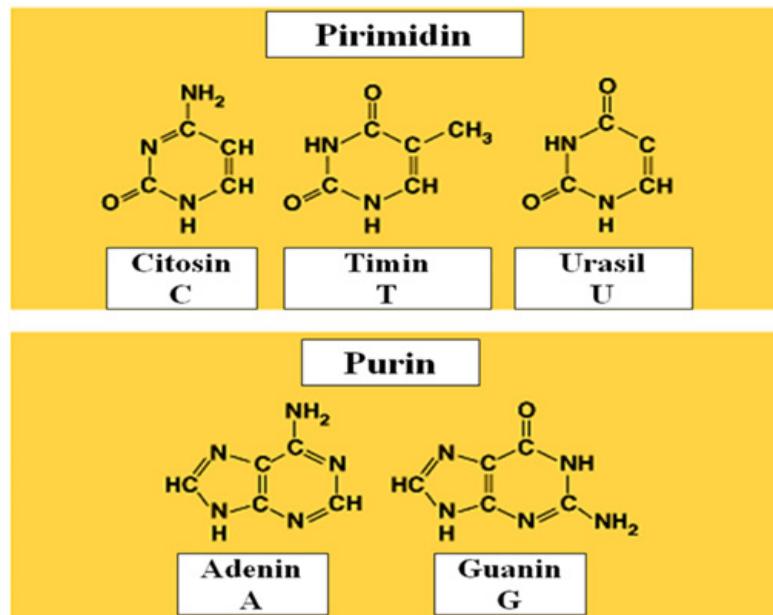
Nukleotida yang merupakan molekul kompleks dibangun dari tiga macam molekul yang saling berikatan, yaitu molekul gula pentosa, gugus fosfat, dan basa nitrogen. Secara skematik, nukleotida dapat digambarkan sebagai berikut.



Sumber: Campbell and Reece (2005)

Gambar 1.2
Nukleotida yang Digambarkan Secara Skematik yang Terdiri Dari Tiga Macam Molekul yang Saling Berikatan serta Tiga Nukleotida yang Membentuk Tulang Punggung Gula-Fosfat

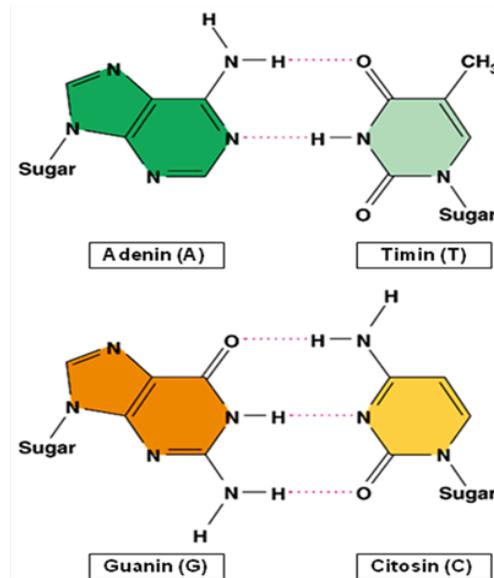
Diketahui ada dua macam molekul gula pentosa, yaitu deoksiribosa untuk DNA dan ribosa untuk RNA. Kemudian, ada lima macam basa nitrogen, dua dari golongan purin, yaitu adenin (A) dan guanin (G), serta tiga dari golongan pirimidin, yaitu sitosin(C), timin (T) dan urasil (U). Basa nitrogen A, G, C, T ditemukan pada DNA, sedangkan A, G, C, U ditemukan pada RNA. Formula struktur dari basa nitrogen adalah sebagai berikut.



Sumber: Campbell and Reece (2005)

Gambar 1.3
Struktur Basa Nitrogen Sitosin, Timin, Urasil, Adenin, dan Guanin

Keempat basa nitrogen nukleotida di dalam DNA tidak berjumlah sama rata. Keempat basa nitrogen berbeda secara relatif dari satu spesies dengan spesies yang lainnya. Akan tetapi, pada setiap molekul DNA, jumlah adenin (A) selalu sama dengan jumlah timin (T). Demikian pula jumlah guanin (G) selalu sama dengan jumlah sitosin(C). Ini dikenal dengan teori Chargaff. Adenin (A) selalu berpasangan dengan timin (T) (atau urasil (U) dalam RNA), dan sitosin(C) selalu berpasangan dengan guanin (G) melalui ikatan hidrogen. Adenin dan timin membentuk dua ikatan hidrogen ($\text{A} = \text{T}$), sedangkan guanin dan sitosin membentuk tiga ikatan hidrogen ($\text{G} \equiv \text{C}$), seperti yang dapat kita lihat pada gambar di bawah ini.



Sumber: Campbell and Reece (2005)

Gambar 1.4
Adenin dan Timin Membentuk 2 Ikatan Hidrogen, Guanin, dan Sitosin Membentuk Tiga Ikatan Hydrogen

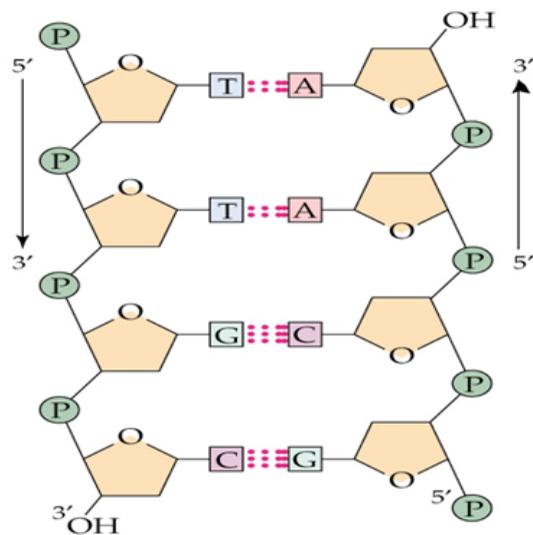
Stabilitas DNA untai ganda ditentukan oleh susunan basa dan ikatan hidrogen yang terbentuk sepanjang rantai tersebut. Oleh karena perbedaan jumlah hidrogen ini maka tidak mengherankan bahwa ikatan $C \equiv G$ memerlukan tenaga yang lebih besar untuk memisahkannya.

Berdasarkan penjelasan sebelumnya terlihat perbedaan antara DNA dan RNA, terutama pada komponen yang membangunnya, struktur, dan lokasi ditemukannya DNA dan RNA.

Tabel 1.3
Perbedaan antara DNA dan RNA

Parameter	DNA	RNA
Gula pentosa	Deoksiribosa	Ribosa
Basa nitrogen golongan Purin	Adenin (A), Guanin (G)	Adenin (A), Guanin (G)
Basa nitrogen golongan Pirimidin	Sitosin(C), Timin (T)	Sitosin(C), Urasil (U)
Struktur	Rantai ganda terpilin dan panjang	Rantai tunggal tidak terpilin dan pendek
Lokasi	Di dalam nukleus, kloroplas, dan mitokondria	Di dalam nukleus, sitoplasma, kloroplas, dan mitokondria

Dalam suatu molekul DNA, ratusan ribu hingga jutaan nukleotida tersusun secara linier sehingga membentuk suatu rantai dengan cara menghubungkan gugus fosfat pada atom karbon nomor 5 ($5'-\text{PO}_4$) suatu nukleotida dengan gugus hidroksil pada atom karbon nomor 3 ($3'-\text{OH}$) pada nukleotida lainnya. Hal ini menyebabkan untai ganda DNA tersebut mempunyai suatu polaritas. Gambar di bawah ini merupakan suatu contoh bagaimana beberapa nukleotida dihubungkan membentuk suatu untai DNA. Ikatan yang terbentuk antara molekul deoksiribosa melalui jembatan fosfat disebut ikatan fosfodiester. Oleh karena nukleotida dihubungkan satu dengan yang lainnya melalui ikatan antara gula dan fosfat maka sering disebut bahwa DNA mempunyai tulang punggung gula–fosfat. Perhatikan bahwa ujung-ujung molekul diberi tanda 5' dan 3' untuk atom karbon dalam molekul deoksiribosa yang akan membentuk ikatan berikutnya.



Sumber: Campbell and Reece (2005)

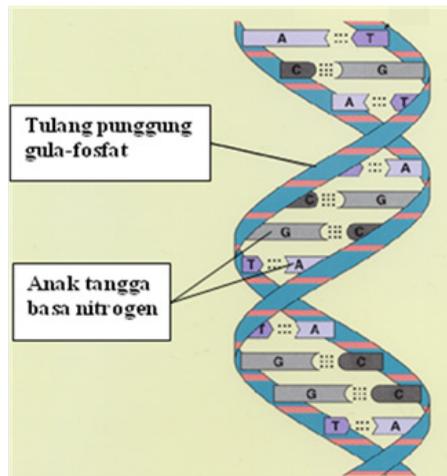
Gambar 1.5

Untai Ganda DNA yang Terdiri Dari Empat Pasangan Basa Nukleotida dengan Ujung 5' dan 3'. Perhatikan Polaritas Rantai Ganda yang Berlawanan

Dengan demikian, rantai polinukleotida merupakan suatu polaritas atau bidireksionalitas polinukleotida $3' \rightarrow 5'$, dan $5' \rightarrow 3'$. Polaritas untai ganda berlawanan orientasi satu sama lain. Kedua rantai polinukleotida DNA yang membentuk heliks ganda berjajar secara antiparalel sehingga dapat digambarkan sebagai berikut:



Struktur DNA dengan rantai ganda terpilin dapat diibaratkan sebagai sebuah tangga. Anak tangganya adalah susunan basa nitrogen, dengan ikatan A–T dan G–C, sedangkan kedua “ibu tangganya” adalah tulang punggung gula–fosfat.

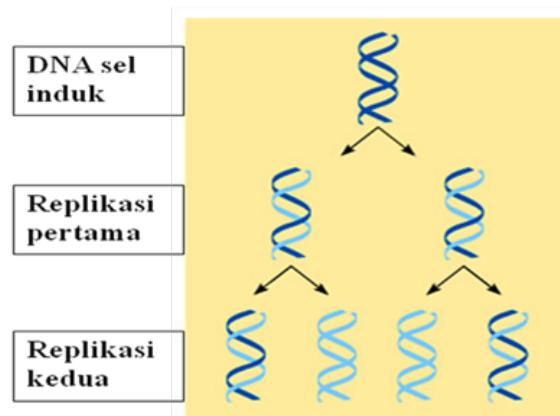


Sumber: Campbell and Reece (2005)

Gambar 1.6
Rantai Ganda DNA yang Terpilin bagai Sebuah Tangga dengan
Anak Tangga Basa Nitrogen

3. Replikasi DNA

Replikasi adalah peristiwa sintesis DNA. Saat suatu sel membelah secara mitosis, tiap-tiap sel hasil pembelahan mengandung DNA penuh dan identik seperti induknya. Dengan demikian, DNA harus secara tepat di replikasi (diperbanyak atau dicetak ulang) sebelum pembelahan terjadi. Replikasi DNA dapat terjadi dengan adanya sintesis rantai nukleotida baru dari rantai nukleotida lama. Prosesnya dengan menggunakan komplementer pasangan basa untuk menghasilkan suatu molekul DNA baru yang sama dengan molekul DNA lama.

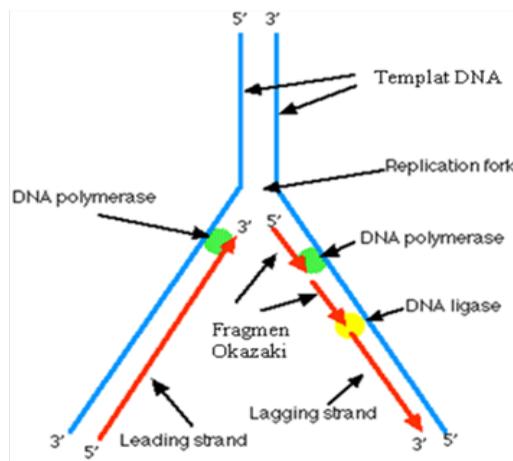


Sumber: Campbell and Reece (2005)

Gambar 1.7
Replikasi dengan Model Semi-Konservatif, yaitu Dua Untai DNA Memisah dan Masing-Masing Berfungsi Sebagai Templet (Cetakan) untuk Menyintesis Untai DNA Baru yang Komplementer

Replikasi DNA dapat terjadi di beberapa lokasi sepanjang untai ganda DNA pada waktu bersamaan. Berikut ini beberapa tahap replikasi yang dilakukan dengan mekanisme semi-konservatif.

- a. Enzim *helicase* meluruskan dan membuat untai ganda DNA menjadi tidak terpilin.
- b. Enzim ini kemudian memecah ikatan hidrogen antaruntai DNA (antar pasangan basa) sehingga memisahkan kedua untai DNA tersebut (*replication fork*). Salah satu untai DNA memiliki polaritas $3' \rightarrow 5'$, sedang yang lainnya $5' \rightarrow 3'$.
- c. Di dalam nukleus, telah tersedia basa-basa nitrogen bebas, 1 gula deoksiribo dan 3 gugus fosfat (deoksiribonukleosida trifosfat), dalam jumlah banyak. Biasanya dikenal dengan dATP, dCTP, dGTP dan dTTP.
- d. Dalam menyintesis DNA baru, diperlukan DNA polimerase III dan primer RNA sebagai sekuen dimulainya proses replikasi. Primer RNA terdiri dari beberapa nukleotida RNA yang mengikat pada untai DNA lama (induk), dan membentuk ikatan hidrogen. Selanjutnya enzim RNA *primase* akan mengikat seluruh nukleotida RNA tadi, dengan ikatan kovalen.
- e. Dengan tanda *start* dari primer RNA tadi maka proses replikasi dimulai. Selanjutnya, deoksiribonukleosida trifosfat akan berpasangan dengan basa nitrogen komplementernya pada untai DNA lama yang terpapar (*exposed*) dan membentuk ikatan hidrogen. Basa nitrogen A berpasangan dengan T, sedangkan basa nitrogen C berpasangan dengan G.
- f. Karena untai DNA yang membentuk heliks ganda berjajar secara antiparalel maka ada dua untai DNA baru yang terbentuk secara serentak dengan arah berlawanan. Untai DNA baru selalu terbentuk dengan arah $5' \rightarrow 3'$ sehingga satu untai baru dapat disintesis secara berkesinambungan (*leading strand*), sedangkan yang lainnya karena tumbuh dengan arah $3' \rightarrow 5'$, proses sintesisnya melalui untai-untai pendek (*lagging strand*) yang akhirnya disambungkan oleh enzim DNA *ligase*. Untai-untai DNA pendek ini, 100 hingga 200 basa panjangnya, dikenal dengan fragmen Okazaki.
- g. Di akhir replikasi, DNA polimerase I melepas primer RNA dari untai DNA, kemudian mengganti nukleotida RNA dengan nukleotida DNA.
- h. Proses replikasi selesai, dan dihasilkan dua untai ganda DNA yang masing-masing mengandung satu untai cetakan molekul DNA lama (induk) dan satu untai DNA baru hasil sintesis.



Sumber: Campbell and Reece (2005)

Gambar 1.8

Proses Replikasi DNA Menggunakan Templet (Untai DNA Lama) yang Melibatkan DNA Polimerase dan DNA Ligase, Menghasilkan Dua Untai Baru yang Berkesinambungan (*Leading Strand*) dan yang Pendek-pendek (*Lagging Strand*)

Replikasi DNA semi-konservatif berlaku bagi organisme prokariot maupun eukariot. Tahapan replikasi DNA secara umum tidak banyak berbeda antara organisme prokariot dan eukariot. Perbedaannya ada pada jenis dan jumlah enzim yang terlibat, serta kecepatan dan kompleksitas replikasi DNA. Misalnya pada eukariot, peristiwa replikasi terjadi sebelum pembelahan mitosis, tepatnya pada fase sintesis dalam siklus pembelahan sel.

B. FUNGSI DNA

Berbagai metode rekayasa materi genetik telah berhasil dikembangkan sehingga kita dapat menerapkannya pada hampir semua makhluk hidup. Mulai dari sel bakteri dengan plasmidnya hingga ke sel hewan tingkat tinggi. Plasmid adalah molekul DNA kecil dan berbentuk lingkaran yang dapat berekspresi secara otonomi di dalam sel bakteri. Umumnya, hidup bakteri tergantung pada ketersediaan makanan di lingkungan sekitarnya. Gen-gen pada plasmid hanya diekspresikan untuk menyesuaikan diri dengan lingkungannya sehingga bakteri dapat cepat beradaptasi.

Fungsi dan potensi DNA rekombinan sangatlah besar bagi kehidupan kita. Ada 3 fungsi utama dari rekayasa genetika suatu organisme. Fungsi yang **pertama** adalah untuk memproduksi protein tertentu. Misalnya, memproduksi hormon pertumbuhan pada manusia yang berguna untuk menambah tinggi badan atau aktivator jaringan plasminogen yang membantu melarutkan gumpalan darah beku pada penderita serangan jantung. Fungsi **kedua** adalah untuk meningkatkan kemampuan atau kapasitas metabolisme dari organisme tertentu, yang secara alami tidak dimiliki sebelumnya. Misalnya, kita menyisipkan gen pada tanaman untuk ketahanan terhadap serangan

hama dan penyakit, atau pada bakteri untuk meningkatkan kemampuannya mengurai cemaran minyak. Fungsi **ketiga** adalah untuk memperbanyak jumlah sekuen DNA atau gen tertentu sehingga bisa kita pelajari lebih lanjut. Sebagian besar gen memiliki sekuen spesifik, artinya hanya ada satu per genom atau sebanding dengan satu dalam sejuta DNA. Kemampuan untuk mengisolasi sekuen DNA yang jarang tersebut menjadi demikian berharga dalam riset bioteknologi.

Teknologi DNA rekombinan telah meningkatkan fungsi DNA dalam aplikasinya pada riset dasar dan komersial. Didukung oleh perangkat dasar dalam teknologi DNA rekombinan maka kemampuan kita dalam menemukan suatu gen, mengutak-atik susunan DNA untuk menghasilkan produk berguna, menjadi semakin canggih. Beberapa perangkat dasar tersebut, antara lain enzim restriksi, vektor, sel inang, dan pustaka genom DNA.

1. Enzim Restriksi

Salah satu perangkat yang sering digunakan dalam teknologi DNA rekombinan adalah enzim dari grup bakteri yang dikenal dengan enzim restriksi (enzim pemotong). Secara alami, enzim ini berguna untuk melindungi bakteri dari DNA–DNA organisme lain yang dapat membahayakan kehidupan bakteri. Enzim restriksi akan menggunting DNA asing tersebut menjadi potongan-potongan kecil sehingga menjadi tidak berfungsi. Enzim restriksi bekerja secara spesifik dan sangat akurat. Enzim ini mengenali sekuen pendek dan khas dari nukleotida tertentu dan memotongnya pada posisi tertentu. Enzim-enzim yang mampu menggunting DNA suatu makhluk tersebut ternyata mampu memotong tempat-tempat serupa dalam molekul DNA dari makhluk yang berkaitan. Selama proses ini, sel bakteri melindungi DNA-nya sendiri dengan cara menambahkan gugus metil ($-CH_3$) pada nukleotida adenin dan sitosin sehingga tidak ikut terpotong oleh enzimnya sendiri.

Ratusan enzim restriksi sudah diidentifikasi dan diisolasi, dan beberapa telah tersedia secara komersial. Dalam teknik rekayasa genetika, sekuen DNA yang telah dipotong oleh enzim restriksi selanjutnya digunakan untuk dikombinasikan atau digabungkan dengan DNA dari sumber lain, membentuk DNA rekombinan baru.

2. Vektor

DNA yang direkayasa di dalam tabung kaca di laboratorium, harus dikembalikan ke suatu sel hidup (inang) agar kita mengetahui atau dapat mengukur khasiat dan fungsinya. Untuk itu, diperlukan suatu agen pembawa yang dapat membantu kita memasukkan DNA dari tabung kaca ke dalam sel inang. Agen yang membawa DNA rekombinan ke dalam sel hidup disebut vektor. Ada dua macam vektor yang populer dan biasa kita gunakan, yaitu plasmid dan virus.

Untuk dapat direkayasa, plasmid harus kita isolasi terlebih dahulu dari sel bakteri. Selanjutnya, gen-gen asing kita sisipkan ke dalam plasmid. Kini plasmid tersebut menjadi molekul DNA rekombinan karena DNA-nya telah kita kombinasikan dengan DNA dari sumber yang berbeda. Selanjutnya, plasmid tersebut kita kembalikan

melalui proses konjugasi ke dalam sel bakteri untuk digandakan dalam mesin replikasi sel bakteri. Setiap kali bakteri tersebut membelah diri menjadi dua maka plasmid rekombinan tersebut juga membelah diri. Oleh karenanya, DNA rekombinan itu terus membuat klon (duplikat) DNA dari dirinya. Pada kondisi yang sesuai, kultur sel bakteri tersebut akan memproduksi protein yang kita kehendaki, yang disandi oleh gen asing di dalam plasmid.

Demikian juga halnya dengan vektor virus, DNA yang telah direkayasa kita sisipkan ke dalam virus. Virus selanjutnya kita masukkan ke dalam sel bakteri *E. coli* melalui proses infeksi alami. Di dalam sel bakteri, virus akan berkembang biak dan menghasilkan virus-virus baru. Setelah proses ini, semua virus-virus baru tersebut juga membawa DNA rekombinan di dalam genomnya.

3. Sel Inang

Sel bakteri adalah inang yang umum digunakan dalam proses perekayasaan genetika. Di samping karena kita mudah menyisipkan maupun mengisolasi DNA-nya, juga karena gampang dipelihara atau dikultur pada media buatan. DNA asing yang telah kita sisipkan di dalam sel bakteri juga dapat segera berekspresi sehingga kita dapat mengetahui hasil dari kloning tersebut.

Namun, ada beberapa kendala yang kita temui dalam menggunakan bakteri sebagai sel inang ketika kita bekerja dengan DNA mamalia, terutama pada mekanisme transkripsi dan translasi. Sel bakteri, yang termasuk prokariot, memiliki regulasi dan enzim yang berbeda dengan sel eukariot. Tentu sulit memaksakan gen eukariot untuk diekspresikan di dalam sel prokariot. Pada sel eukariot, mRNA yang dihasilkan oleh suatu transkripsi mengandung sekuen intron (penyela) yang tidak diekspresikan (lihat sub bab: Aliran informasi genetika, di bawah). Sebelum dilanjutkan ke tahap translasi, ada proses pemotongan intron dan penyambungan kembali molekul mRNA. Kemudian protein hasil translasi sering kali dimodifikasi, seperti penambahan grup lipid atau karbohidrat. Sel bakteri tidak mampu melakukan proses-proses seperti di atas. Dengan demikian, untuk melakukan fungsi-fungsi di atas, sel inang yang kita pilih adalah sel eukariot.

Untuk aplikasi teknologi DNA rekombinan pada eukariot, sel inang yang biasa digunakan adalah yeast, yaitu khamir bersel tunggal. Hal ini membuka peluang kita untuk memindahkan gen asing ke dalam sel tanaman dan hewan, termasuk sel manusia.

4. Pustaka Genom DNA

Bagaimana cara memperoleh sekuen DNA yang kita inginkan dari suatu organisme? Ada dua cara untuk mendapatkannya, yaitu DNA kita isolasi langsung dari organisme tersebut atau kita isolasi melalui mRNA.

Metode pertama, kita mengisolasi total DNA (genom) suatu organisme. Setelah memotong-motong dengan enzim restriksi, seluruh potongan DNA kita sisipkan ke dalam sejumlah plasmid sehingga masing-masing plasmid menerima satu potongan DNA. Plasmid-plasmid tersebut kemudian dipelihara di dalam sel inang sehingga setiap

sel inang hanya mengandung satu macam plasmid. Dari proses ini akan dihasilkan sekumpulan klon plasmid, yang masing-masing membawa sepotong sekuen DNA asing (dari organisme yang kita teliti). Kumpulan klon plasmid ini disebut sebagai pustaka genom DNA.

Masalah yang sering kita hadapi dengan metode ini adalah besarnya jumlah plasmid yang harus kita tangani. Dalam koleksi pustaka genom ini, kita menyimpan seluruh potongan genom suatu makhluk, termasuk juga daerah intron, yang tidak menyandi protein (*non coding region*) sehingga tidak dapat diekspresikan, yang artinya tidak ada produk proteinnya.

Metode kedua adalah teknik membuat DNA komplementer (*complementary DNA* atau cDNA) dari *template* (cetakan) mRNA. Dengan cara ini kita lebih mudah memperoleh sekuen DNA yang kita inginkan, berupa untai DNA komplementer. Sintesis DNA yang menggunakan *template* RNA disebut dengan transkripsi terbalik (*reverse transcription*). Sama seperti metode sebelumnya, kita dapat membuat pustaka cDNA melalui teknik ini. Pustaka ini hanya mengandung daerah ekson, penyandi protein (*coding region*) dari mRNA suatu organisme. Dari pustaka ini, kita dapat mengidentifikasi suatu DNA atau gen yang memiliki fungsi tertentu.

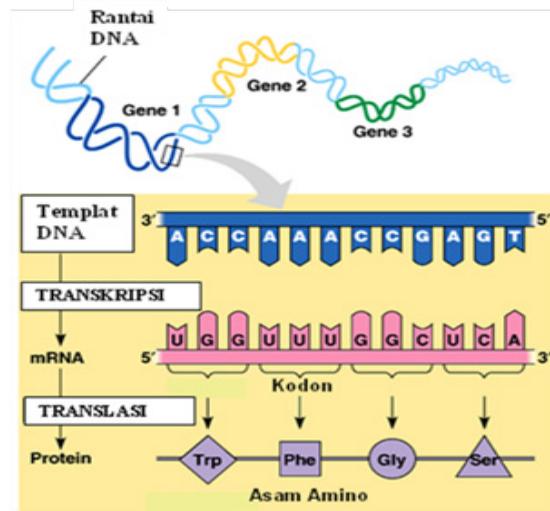
C. ALIRAN INFORMASI GENETIKA

Gen adalah susunan instruksi dan informasi untuk menghasilkan atau mempengaruhi karakter dan sifat kita yang diwariskan. Ekspresi gen merupakan proses di mana informasi yang dikode di dalam gen diterjemahkan menjadi urutan asam amino untuk membangun protein-protein spesifik yang menghasilkan sifat-sifat fenotipik suatu individu. Sifat-sifat fenotip, misalnya warna mata biru, wangi aroma bunga atau bentuk biji lonjong. Fenotip suatu individu ditentukan oleh aktivitas enzim atau protein fungsional. Enzim yang berbeda akan menimbulkan fenotip yang berbeda. Perbedaan satu enzim dengan enzim lainnya ditentukan oleh jumlah, jenis dan susunan asam amino penyusun enzim atau protein. Pembentukan asam amino tersebut ditentukan oleh susunan gen atau DNA.

Akan tetapi, gen tidak menghasilkan asam amino dan protein secara langsung. Ada yang menjembatani antara informasi yang dikode dalam gen dengan pembentukan protein dan sifat fenotip, yaitu RNA (asam ribonukleat). Untuk menjelaskan aliran informasi genetika dari gen ke protein, sering digunakan istilah-istilah linguistik. Hal ini karena asam nukleat dan protein memiliki sekuen monomer yang membawa informasi menyerupai paragraf suatu teks, yang membawa informasi dalam bahasa tulis. Setiap kalimat disusun dari kata-kata dan huruf-huruf. Untuk DNA dan RNA, monomer tersebut adalah 4 jenis nukleotida, yang berbeda dalam tipe basanya, yaitu adenin (A), guanin (G), sitosin (C), dan timin (T) pada DNA, atau urasil (U) pada RNA.

Gen dapat mencapai panjang ratusan hingga ribuan nukleotida dan memiliki sekuen basa yang spesifik. Protein juga tersusun dari monomer-monomer, yang terdiri dari 20 jenis asam amino, secara linier (khusus protein struktur pertama). Dengan

demikian, asam nukleat dan protein membawa informasi tertulis dalam dua bahasa kimiawi yang berbeda. Pertama adalah “bahasa asam nukleat” yang disusun dalam basa-basa nukleotida, sedangkan yang kedua adalah “bahasa protein” dalam urutan asam amino. Untuk menjembatani kedua bahasa tersebut diperlukan 2 tahap penerjemahan, yang disebut dengan **transkripsi** dan **translasi**. Transkripsi menghasilkan RNA dari templet (cetakan) DNA. Translasi membangun rantai polipeptida sesuai dengan sekuen nukleotida spesifik dari mRNA.



Sumber: Campbell and Reece (2005)

Gambar 1.9
Transkripsi dan Translasi untuk Menerjemahkan Informasi pada untai DNA menjadi Protein-protein Spesifik sebagai Produk Ekspresi Gen

1. Transkripsi

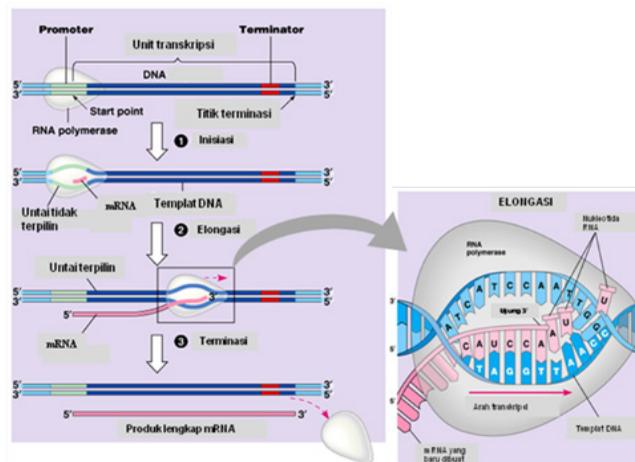
Transkripsi adalah proses yang terjadi di dalam inti sel untuk sintesis RNA secara langsung dari salah satu rantai DNA. Informasi dari rantai DNA langsung disalin, nukleotida per nukleotida, dari setiap molekulnya menjadi RNA. Salah satu rantai DNA dengan sekuen unik menjadi *template* (cetakan) untuk membuat rantai RNA yang juga menjadi sekuen unik. Proses ini mirip dengan pencetakan rantai DNA komplementer dalam replikasi DNA. Urutan molekul RNA yang dihasilkan sesuai dengan urutan templet DNA, yang merupakan transkrip perintah dan arahan pembuatan protein. Produk molekul RNA ini dikenal dengan mRNA (*messenger* RNA atau RNA duta), yang berfungsi sebagai duta genetika dari DNA di dalam mesin sel pembuat protein.

Dalam proses ini, peranan enzim RNA polimerase sangatlah besar. RNA polimerase membuka pilinan untai ganda DNA hingga terpisah dan merangkaikan nukleotida RNA sesuai pasangan basanya sepanjang templet DNA. Seperti halnya DNA polimerase yang berfungsi dalam proses replikasi DNA, RNA polimerase hanya dapat menambahkan nukleotida saat terjadi perpanjangan basa pada ujung 3' sehingga molekul RNA memanjang dari arah 5' → 3' saat terjadi penambahan basa.

Di sepanjang *template* DNA, terdapat urutan nukleotida spesifik yang dikenali sebagai tanda transkripsi suatu gen dimulai dan diakhiri. Rentangan DNA yang ditranskripsi menjadi molekul RNA, termasuk lokasi start dan berhenti, dinamakan **unit transkripsi**. Pada eukariot, unit transkripsi mewakili satu gen dan mRNA menyandi sintesis satu produk polipeptida. Pada prokariot, satu unit transkripsi terdiri dari beberapa gen, yang menghasilkan sintesis beberapa protein dengan fungsi yang saling berkaitan. Misalnya sintesis beberapa enzim dalam rangkaian katalisa pada suatu jalur metabolisme. Dalam hal ini, dihasilkan beberapa segmen mRNA yang dilengkapi dengan beberapa tanda *start* dan berhenti sehingga setiap segmennya mensintesis satu protein.

Pada bakteri, hanya terdapat satu tipe RNA polimerase, yang berfungsi untuk mensintesis mRNA serta tipe-tipe RNA lainnya. Berbeda dengan eukariot, yang dilengkapi dengan 3 tipe RNA polimerase. Salah satu tipe yang khusus mensintesis mRNA, dikenal dengan RNA polimerase II. Ada sekitar 40.000 molekul RNA polimerase II ditemukan di dalam inti sel manusia.

Proses transkripsi terdiri dari 3 tahap, yaitu inisiasi (permulaan), pemanjangan dan terminasi (penghentian) rantai mRNA. Mari kita lihat tahapan-tahapan ini lebih detail.



Sumber: Campbell and Reece (2005)

Gambar 1.10
Proses Transkripsi

a. *Inisiasi transkripsi*

Sekuen spesifik pada untai DNA tempat melekatnya RNA polimerase disebut promotor. Daerah promotor mencakup titik awal (*start point*) transkripsi suatu gen beserta puluhan nukleotida yang membentang di bagian hulunya (*upstream*). Titik awal transkripsi adalah lokasi di mana sintesis RNA sebenarnya dimulai. Selain menentukan di mana transkripsi dimulai, promotor juga menentukan yang mana dari kedua untai ganda DNA yang digunakan sebagai *template*.

Area tertentu di dalam daerah promoter mempunyai peranan penting agar dikenali oleh RNA polimerase. Sebagai contoh, area yang dikenal dengan kotak TATA. Disebut demikian karena sekuennya didominasi oleh basa timin (T) dan adenin (A). Pada eukariot, kotak TATA terletak sekitar 25 nukleotida ke arah hulu dari titik awal transkripsi.

Ada protein lain yang juga terlibat dan memandu RNA polimerase untuk mengenali dan mengikat sekuen promoter di sepanjang molekul DNA. Protein itu adalah **faktor transkripsi**. Protein faktor transkripsi harus menempel terlebih dahulu pada molekul promoter, sebelum molekul RNA polimerase II dapat mengenali dan mengikat molekul perpaduan antara faktor transkripsi dan DNA. Begitu RNA polimerase mengikat daerah promoter di titik awal, proses transkripsi pun dimulai.

b. Pemanjangan molekul mRNA

Pada saat RNA polimerase II bergerak di sepanjang DNA dengan arah $5' \rightarrow 3'$, enzim tersebut membuka pilinan kedua untai ganda DNA. Dalam proses transkripsi ini, hanya sebagian kecil saja pilinan yang terbuka, kira-kira 10 basa, dari DNA utas ganda. Enzim ini selanjutnya menambahkan nukleotida pada ujung $3'$ dari molekul mRNA, yang sesuai dengan pasangan nukleotida DNA-nya, dan terus tumbuh selama proses pemanjangan. Pada saat sintesis RNA selesai melewati sekuennya, untai ganda DNA akan kembali memilin dan molekul mRNA yang baru lepas dari cetakan DNA-nya. Transkripsi berlangsung dengan kecepatan kira-kira 60 nukleotida per detik.

Pada kondisi tertentu, gen dapat ditranskripsi secara serentak oleh beberapa molekul RNA polimerase II sehingga beberapa molekul mRNA akan terbentuk berjajar di belakang molekul yang lainnya. Dengan demikian, sel mampu memproduksi protein tertentu dalam jumlah yang lebih besar.

c. Terminasi

Transkripsi berlangsung hingga RNA polimerase ketemu dan melewati kodon tanda berhenti yang ada pada untai DNA. Sekuen tanda berhenti ini merupakan isyarat bagi RNA polimerase untuk menghentikan transkripsi dan melepaskan mRNA dari untai DNA. Pada sel eukariot, sekuen tanda berhenti yang umum adalah AAT AAA. Menjelang proses terminasi, RNA polimerase melewati tanda berhenti ini hingga kira-kira 10–35 nukleotida ke hilir, dan akhirnya mRNA dipotong hingga terlepas dari enzimnya. Sebaliknya, pada sel prokariot, transkripsi biasanya berhenti tepat pada akhir tanda ini dan melepas mRNA.

Produk transkripsi gen pada eukariot menghasilkan mRNA yang masih memerlukan pemrosesan lebih lanjut sebelum di translasi menjadi protein. Hasil transkripsi sebelum diproses disebut sebagai **pra-mRNA**. Pemrosesan pra-mRNA yang terjadi di dalam nukleus sel eukariot salah satunya adalah pemotongan dan penyambungan (*splicing*) molekul RNA. Kebanyakan rantai mRNA pada sel eukariot memiliki rentang nukleotida yang bukan pengkode protein (*non-coding region*), daerah yang tidak ditranslasi. Bahkan sebagian besar sekuen bukan pengkode protein ini

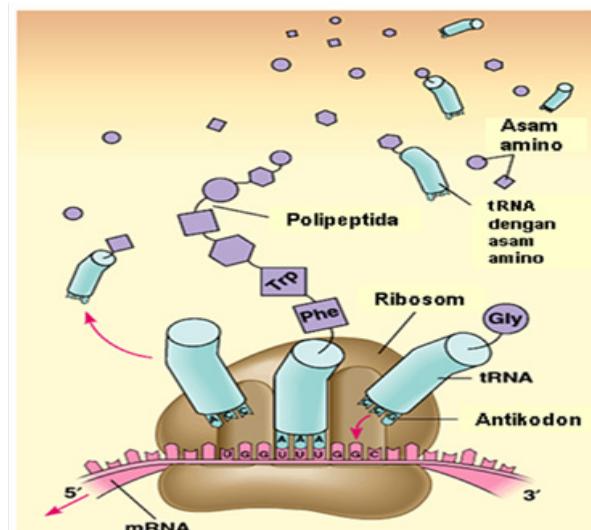
tersebar berselang-seling di antara segmen pengkode protein. Dengan kata lain, sekuen nukleotida DNA yang mengkode polipeptida eukariotik tidak berkesinambungan. Segmen asam nukleat bukan pengkode protein yang terletak di antara pengkode protein disebut sebagai sekuen penyela, atau **intron**. Daerah lain disebut **ekson** karena daerah ini akhirnya diekspresikan, artinya ditranslasi menjadi sekuen asam amino.

RNA polimerase mentranskripsi intron maupun ekson dari DNA, yang menghasilkan molekul pra-mRNA yang sangat panjang. Melalui proses pemotongan dan penyambungan, intron dipotong dari pra-mRNA dan ekson bergabung menjadi satu membentuk molekul mRNA dengan sekuen pengkode protein yang akhirnya berkesinambungan.

Setelah transkripsi dan pemrosesan, mRNA siap meninggalkan nukleus melalui pori-pori membran nukleus menuju ke sitoplasma, di mana proses selanjutnya, yaitu translasi, berlangsung.

2. Translasi

Translasi adalah proses sintesis polipeptida dengan panduan dari mRNA. Pada tahap ini, bahasa yang digunakan selama transkripsi berubah menjadi bahasa translasi. Sel menerjemahkan pesan genetika berupa sekuen basa dari molekul RNA untuk membangun polipeptida yang sesuai dengan urutan sekuen asam amino (Tabel 1.3). Penerjemah yang berperan di sini adalah jenis RNA yang lain, yaitu tRNA (RNA transfer). RNA transfer membawa asam amino dari sitoplasma satu per satu ke ribosom. Sel selalu menjaga stok ke-20 jenis asam amino di dalam sitoplasma dengan cara menyintesisnya atau mengambilnya dari larutan di sekitar sel. Asam amino yang dibawa oleh tRNA ditambahkan ke ujung rantai polipeptida yang terus memanjang.



Sumber: Campbell and Reece (2005)

Gambar 1.11
Proses Translasi

Tabel 1.4
Kode Genetik Menerjemahkan Sekuen Basa dari Molekul RNA untuk Membentuk Asam Amino

Basa Pertama (Ujung 5')	Basa Kedua				Basa Ketiga (Ujung 3')
	U	C	A	G	
U	UUU - Phe	UCU - Ser	UAU - Tyr	UGU - Cys	U
	UUC - Phe	UCC - Ser	UAC - Tyr	UGC - Cys	C
	UUA - Leu	UCA - Ser	UAA - Stop	UGA - Stop	A
	UUG - Leu	UCG - Ser	UAG - Stop	UGG - Trp	G
C	CUU - Leu	CCU - Pro	CAU - His	CGU - Arg	U
	CUC - Leu	CCC - Pro	CAC - His	CGC - Arg	C
	CUA - Leu	CCA - Pro	CAA - Gln	CGA - Arg	A
	CUG - Leu	CCG - Pro	CAG - Gln	CGG - Arg	G
A	AUU - Ile	ACU - Thr	AAU - Asn	AGU - Ser	U
	AUC - Ile	ACC - Thr	AAC - Asn	AGC - Ser	C
	AUA - Ile	ACA - Thr	AAA - Lys	AGA - Arg	A
	AUG Met or Start	ACG - Thr	AAG - Lys	AGG - Arg	G
G	GUU - Val	GCU - Ala	GAU - Asp	GGU - Gly	U
	GUC - Val	GCC - Ala	GAC - Asp	GGC - Gly	C
	GUA - Val	GCA - Ala	GAA - Glu	GGA - Gly	A
	GUG - Val	GCG - Ala	GAG - Glu	GGG - Gly	G

Keterangan:

Phe: Fenilalanin	Trp: Triptofan	Ile: Isoleusin	Val: Valin
Leu: Leusin	Pro: Prolin	Met: Metionin	Ala: Alanin
Ser: Serin	His: Histidin	Thr: Treonin	Asp: Aspartat
Tyr: Tirosin	Gln: Glutamin	Asn: Asparagin	Glu: Glutamat
Cys: Sistein	Arg: Arginin	Lys: Lisin	Gly: Glisin

Molekul-molekul tRNA tidak seluruhnya identik. Kunci sukses proses penerjemahan pesan genetika menjadi sekuen asam amino spesifik adalah tiap molekul tRNA berasosiasi dengan asam amino tertentu dan berkorelasi dengan mRNA yang memiliki kodon tertentu pula. Ketika tiba di ribosom, molekul tRNA membawa asam amino spesifik di salah satu ujungnya. Pada ujung lainnya, terdapat triplet nukleotida yang disebut antikodon. Sesuai dengan aturan pasangan basa, antikodon menempelkan diri ke kodon komplementer pada molekul mRNA. Sebagai contoh, kodon UUU pada mRNA yang diterjemahkan sebagai asam amino fenilalanin (lihat Tabel 1.3). Molekul tRNA yang menempel pada kodon ini memiliki antikodon AAA yang komplementer terhadap UUU, dan selalu membawa fenilalanin di ujungnya apabila mRNA dilalui oleh ribosom dengan kodon UUU dipaparkan pada mesin translasi maka fenilalanin akan ditambahkan ke rantai polipeptida. Proses penerjemahan pesan genetika ini dilakukan kodon demi kodon.

Kita dapat membagi translasi menjadi 3 tahap, yaitu inisiasi, pemanjangan, dan terminasi. Ketiga tahapan ini memerlukan beberapa faktor protein (umumnya

enzim) untuk membantu mRNA, tRNA dan ribosom selama proses translasi. Inisiasi dan pemanjangan rantai polipeptida juga membutuhkan sejumlah energi. Energi ini disediakan oleh GTP (*guanosine triphosphate*), suatu molekul yang mirip dengan ATP.

a. *Inisiasi*

Tahap inisiasi dari proses translasi mensyaratkan keberadaan 3 komponen, yaitu mRNA, tRNA yang memuat asam amino pertama dari polipeptida, dan dua subunit ribosom. Proses dimulai ketika subunit ribosom kecil mengikat diri pada mRNA dan tRNA inisiator. Subunit ribosom kecil melekat pada tempat tertentu di ujung 5' (arah ke hulu) dari mRNA. Arah ke hilir dari tempat tersebut terdapat kodon inisiasi AUG, di mana proses translasi sebenarnya dimulai. Kemudian, molekul tRNA inisiator, yang membawa asam amino metionin, melekat pada kodon inisiasi.

Perpaduan antara mRNA, tRNA inisiator dan subunit ribosom kecil, dan selanjutnya juga subunit ribosom besar, akan membentuk sebuah ribosom yang berfungsi untuk translasi. Sebuah protein yang disebut **faktor inisiasi** diperlukan untuk menggabungkan semua komponen-komponen di atas. Penggabungan ini memerlukan energi dari GTP. Pada tahap inisiasi, kodon mRNA harus mengandung informasi triplet AUG dan tRNA inisiator yang berisi antikodon UAG yang membawa metionin. Jadi, dalam setiap proses translasi, metionin menjadi asam amino pioner yang diingat sebagai dimulainya translasi.

b. *Pemanjangan*

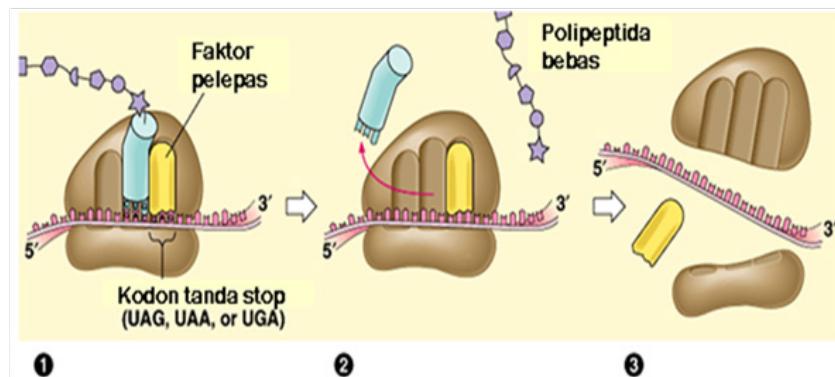
Pada tahap pemanjangan translasi, asam amino kedua ditambahkan di belakang asam amino pertama (metionin). Kodon mRNA pada ribosom membentuk ikatan hidrogen dengan antikodon molekul tRNA yang baru masuk dan membawa asam amino yang sesuai. Molekul rRNA dari subunit ribosom besar berfungsi sebagai enzim, yaitu mengatalis pembentukan ikatan polipeptida. Enzim ini menggabungkan polipeptida yang sedang memanjang tersebut ke asam amino yang baru tiba. Pada tahap ini, polipeptida memisahkan diri dari tRNA tempat penempelannya semula, dan asam amino pada ujung karboksilnya membentuk ikatan dengan asam amino yang dibawa oleh tRNA.

Saat mRNA berpindah tempat, antikodonya tetap terikat dengan hidrogen pada kodon tRNA. Molekul mRNA bergerak bersama-sama dengan antikodon ini dan membawa kodon berikutnya untuk di translasi. Sementara itu, tRNA sekarang tanpa asam amino karena telah dilepas dan diikatkan pada polipeptida yang sedang tumbuh. Selanjutnya, tRNA keluar dari ribosom. Langkah ini membutuhkan energi yang disediakan oleh hidrolisis GTP.

Molekul mRNA bergerak melalui ribosom dengan satu arah saja, mulai dari ujung 5'. Hal ini sama dengan ribosom yang bergerak 5' → 3' pada mRNA. Hal yang penting kita ketahui di sini adalah ribosom dan mRNA bergerak relatif satu sama lain, dengan arah yang sama, kodon demi kodon. Setiap penambahan asam amino pada rantai polipeptida diperlukan waktu kurang dari 0.1 detik, dan terus berlanjut hingga polipeptidanya lengkap.

c. *Terminasi*

Tahap akhir dari proses translasi adalah terminasi. Pemanjangan berlangsung hingga kodon tanda stop mencapai ribosom. Triplet basa kodon tanda *stop* adalah UAA, UAG, dan UGA. Kodon stop tidak mengkode suatu asam amino pun, melainkan bertindak sebagai tanda untuk menghentikan translasi. Sebuah protein yang disebut **faktor pelepas**, melekatkan diri pada kodon tanda *stop*, yang menyebabkan ribosom menambahkan molekul air (bukan asam amino) pada rantai polipeptida. Reaksi hidrolisa ini membebaskan rantai polipeptida dari ribosom. Ribosom akhirnya memisah kembali menjadi dua bagian, yaitu subunit besar dan subunit kecil.



Sumber: Campbell and Reece (2005)

Gambar 1.12
Terminasi Translasi

D. KLONING GEN

Kloning gen adalah metode dalam biologi molekular yang digunakan untuk membuat salinan gen dengan merakitnya dalam molekul DNA rekombinan serta memperbanyak jumlah molekul tersebut melalui replikasi di dalam sel inang. Ekspresi gen tersebut bisa dilakukan pada sel inang atau organisme lain, setelah sebelumnya melalui tahap transformasi gen. Kata kloning digunakan karena metode tersebut melibatkan replikasi satu molekul DNA untuk menghasilkan populasi sel yang memiliki molekul DNA yang identik. Kloning gen umumnya menggunakan sekuen DNA dari dua organisme yang berbeda, yaitu spesies yang menjadi sumber DNA yang dikloning, dan spesies yang berfungsi sebagai sel inang hidup untuk replikasi DNA rekombinan.

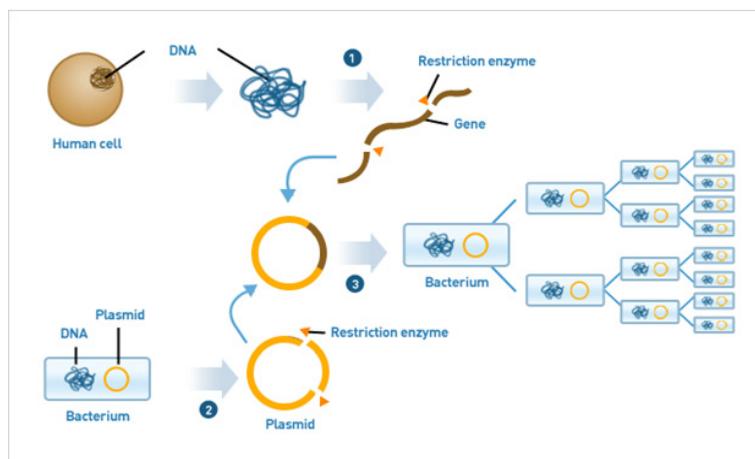
Dalam percobaan kloning gen, sekuen DNA yang akan dikloning diperoleh dari organisme yang diminati, yang setelah dipotong dengan enzim restriksi dalam tabung akan diperoleh fragmen DNA yang lebih kecil. Fragmen ini kemudian digabungkan dengan DNA vektor untuk menghasilkan molekul DNA rekombinan, dan dimasukkan ke dalam sel inang (biasanya strain bakteri *E. coli* yang mudah tumbuh). Selanjutnya, molekul DNA rekombinan akan melalui proses transkripsi dan translasi bersama dengan DNA inang. Melalui proses ini, satu sel bakteri dapat diinduksi untuk menerima satu

molekul DNA rekombinan tunggal. Sel tunggal ini kemudian dapat diperbanyak secara eksponensial untuk menghasilkan koloni bakteri, yang masing-masing sel bakteri berisi salinan molekul rekombinan yang asli. Dengan demikian, koloni bakteri yang diperoleh serta mengandung molekul DNA rekombinan, disebut sebagai “klon”.

Dari fenomena ini, muncul ide untuk menyisipkan sekuens DNA yang berbeda ke dalam plasmid dan sekuens asing ini akan dibawa masuk ke dalam bakteri dan dicerna sebagai bagian dari plasmid. Dengan demikian plasmid bisa berfungsi sebagai vektor kloning untuk membawa gen asing. Hal ini dapat dilakukan karena struktur kimia DNA pada dasarnya sama pada semua organisme hidup. Proses selanjutnya adalah metode seleksi yang digunakan untuk mengidentifikasi plasmid yang mengandung gen asing.

Hampir semua gen atau sekuens DNA dapat diklon dan diperbanyak, walaupun ada beberapa faktor yang dapat membatasi keberhasilan kloning. Beberapa sekuens DNA yang sulit dikloning adalah sekuens terbalik yang berulang (*inverted repeats*), sekuens awal mula replikasi (*origins of replication*), sentromer dan telomer. Hal lain yang membatasi keberhasilan kloning adalah ukuran sekuens DNA yang terlalu panjang. Menyisipkan sekuens DNA yang lebih besar dari 10 kilo-basa dapat menghambat keberhasilan kloning. Namun vektor bakteriofag seperti bakteriofag λ dapat dimodifikasi agar bisa disisipkan sekuens DNA hingga 40 kilo-basa.

Kloning melibatkan lima komponen utama, yaitu: fragmen DNA atau gen yang akan dikloning, DNA vektor (bisa berupa plasmid, bakteriofag atau cosmid), enzim restriksi, enzim ligase dan sel inang (bakteri atau khamir). Proses kloning gen pada dasarnya meliputi beberapa tahap, yaitu: (1) pemilihan sel inang dan vektor kloning, (2) persiapan DNA vektor, (3) pemilihan gen atau fragmen DNA untuk dikloning, (4) pembuatan DNA rekombinan, (5) penyisipan DNA rekombinan ke dalam sel inang, dan (6) perbanyakkan sel inang.



Sumber: <http://wiki.dickinson.edu/images/d/d1/Engineering.jpg>

Gambar 1.13

Proses Kloning Gen. 1. Pemilihan dan isolasi gen yang diminati dari sel organisme (mamalia atau tumbuhan), 2. Persiapan DNA plasmid sebagai vektor, 3. Pembuatan DNA rekombinan dan penyisipan ke dalam sel inang serta perbanyakkan sel inang

Dengan menguasai teknologi kloning gen, kita mampu merekayasa genetika makhluk hidup dengan bahan partikel DNA individual yang jumlahnya tidak terbatas yang berasal dari genom manapun. Beberapa aplikasi penting dari teknologi ini telah banyak membantu berbagai aspek kehidupan kita, antara lain adalah sebagai berikut. (i) membantu kita memahami urutan DNA lengkap dari genom sejumlah besar spesies dan eksplorasi keragaman genetik di dalam spesies individu, melalui kloning fragmen DNA secara acak, *sequencing*, dan penyusunan kembali urutan fragmen DNA. Pada tingkat gen individu, metode ini digunakan sebagai alat untuk mengetahui bagaimana gen diekspresikan, dan bagaimana ekspresi tersebut terkait dengan proses biologi lainnya, termasuk jalur metabolik, sinyal ekstraselular, perkembangan, penuaan dan kematian sel; (ii) kloning gen juga digunakan sebagai alat untuk memahami keberadaan gen dan fungsinya, dengan menonaktifkan gen tersebut, atau membuat mutasi melalui mutagenesis regional atau mutagenesis terarah; (iii) kloning gen juga digunakan untuk memproduksi protein rekombinan. Sejumlah besar produk protein yang diinginkan dapat diproduksi secara massal pada tingkat sel atau bakteri. Banyak protein yang berguna saat ini merupakan produk DNA rekombinan. Ini termasuk: (a) protein yang digunakan untuk keperluan medis dalam memperbaiki gen yang cacat atau tidak diekspresi dengan sempurna (misalnya rekombinan faktor VIII, yaitu kekurangan faktor pembeku darah pada hemofilia, dan rekombinan insulin untuk mengobati beberapa jenis penyakit diabetes), (b) protein yang sering digunakan dalam kondisi darurat (misalnya aktivator jaringan plasminogen, yang digunakan untuk mengatasi *stroke*), (c) vaksin subunit rekombinan, yaitu protein yang dimurnikan dari virus atau bakteri digunakan untuk mengimmunisasi pasien terhadap penyakit menular, tanpa memaparkannya ke agen infeksi itu sendiri (misalnya vaksin hepatitis B), dan (d) protein rekombinan sebagai bahan standar untuk uji diagnostik di laboratorium. Aplikasi lainnya dari kloning gen adalah (iv) membuat organisme transgenik (dibahas dalam Modul 3 dan 4) dan (v) terapi gen (dibahas dalam Modul 5).



Latihan

Untuk memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah latihan berikut!

- 1) Mengapa penemuan struktur DNA sangat penting artinya bagi perkembangan genetika molekuler dan rekayasa genetika?
- 2) Sebutkan tiga perbedaan utama antara DNA dan RNA!
- 3) Data yang diperoleh Chargaff menunjukkan bahwa adenin berpasangan dengan timin, dan guanin berpasangan dengan sitosin. Apakah data lain yang tersedia untuk Watson dan Crick yang menunjukkan bahwa pasangan adenin-guanin dan sitosin-timin tidak terbentuk?
- 4) Apakah perbedaan fungsi antara mRNA, rRNA, dan tRNA?

Petunjuk Jawaban Latihan

- 1) Dengan diketahui struktur DNA, kita dapat menjelaskan sedikitnya dua hal penting dalam genetika, yaitu:
 - a) Bagaimana bahan genetik itu memperbanyak diri (Replikasi DNA).
 - b) Bagaimana bahan genetik itu diterjemahkan menjadi sifat-sifat fenotipik (Ekspresi gen).
- 2)
 - a) Basa Timin pada DNA diganti Urasil pada RNA.
 - b) Gula penyusun DNA adalah deoksiribosa, sedangkan pada RNA adalah ribosa.
 - c) DNA pada umumnya berupa utas ganda, sedangkan RNA pada umumnya berupa utas tunggal.
- 3) Menjelaskan bentuk ikatan hidrogen, adenin, dan timin membentuk dua ikatan hidrogen ($A = T$), sedangkan sitosin dan guanin membentuk 3 ikatan hidrogen ($C \equiv G$) sehingga selain pasangan itu tidak mungkin terjadi.
- 4) mRNA adalah *template* (cetakan) yang akan di translasi (diterjemahkan) oleh ribosom menjadi protein yang sesuai. rRNA merupakan molekul penyusun ribosom, dan tRNA adalah molekul yang membawa asam amino tertentu (kecuali untuk tRNA kodon stop yang tidak membawa asam amino) sebagai bagian dari proses translasi. Jadi, rRNA dan tRNA tidak pernah di translasi sebagaimana terjadi pada mRNA.

**Rangkuman**

Dalam perkembangan suatu organisme, pembentukan sifat fenotipnya ditentukan oleh protein. Dalam hal ini, fungsi protein ditentukan oleh sekuen asam amino, di mana susunan dari sekuen-sekuen tersebut ditentukan oleh DNA. Dalam menentukan sekuen-sekuen asam amino, DNA mengandung sandi genetik untuk setiap jenis asam amino. Masing-masing asam amino ditampilkan oleh tiga pasang basa (triplet) yang disebut dengan kodon. Urutan-urutan kodon pada sekuen DNA itulah yang mencerminkan urutan asam amino yang akan dirakit menjadi suatu rantai protein.

Replikasi DNA merupakan proses perbanyakkan DNA, yang melibatkan berbagai macam enzim. Replikasi DNA dapat terjadi dengan adanya sintesis rantai nukleotida baru dari rantai nukleotida lama. Prosesnya dengan menggunakan komplementasi pasangan basa untuk menghasilkan suatu molekul DNA baru yang sama dengan molekul DNA lama.

Proses transkripsi pada dasarnya adalah sintesis suatu molekul RNA. Molekul RNA adalah suatu polimer yang terbentuk dari berbagai gugus ribonukleotida. RNA polimerase adalah suatu enzim yang bertugas mengenali tempat tertentu pada rantai DNA yang menentukan mulainya transkripsi.

Proses transkripsi terdiri atas inisiasi, pemanjangan dan terminasi. Untuk memulai transkripsi, RNA polimerase harus bisa membedakan suatu gen dari pasangan basa lainnya. Bagian DNA yang menjadi tempat melekatnya RNA polimerase adalah

promoter. Setelah transkripsi dimulai, RNA polimerase bergerak sepanjang molekul DNA untuk membuka pilinan DNA utas ganda sambil menempelkan ribonukleotida pada ujung molekul RNA yang sedang tumbuh.

Translasi adalah penerjemahan kodon pada mRNA menjadi suatu polipeptida. Proses translasi dimulai dari menempelnya ribosom pada kodon inisiasi. Ribosom itu bergerak sepanjang mRNA hingga mencapai kodon awal (kodon AUG). Proses translasi berakhir apabila ribosom mencapai kodon berhenti (yaitu kodon UAA, UAG, dan UGA).

Proses kloning gen meliputi penyisipan fragmen DNA atau gen spesifik ke dalam DNA vektor untuk menghasilkan DNA rekombinan, kemudian ditransformasi ke dalam sel inang dan di replikasi untuk menghasilkan koloni sel anak. Masing-masing sel anak mengandung molekul DNA rekombinan yang identik.



Tes Formatif 2

Pilihlah satu jawaban yang paling tepat!

- 1) Struktur model DNA ditemukan oleh Watson dan Crick berdasarkan data-data dari sejumlah penelitian sebelumnya, antara lain
 - A. hasil difraksi sinar X oleh Rosalind Franklin
 - B. penemuan transformasi oleh Frederick Griffith
 - C. segregasi sifat pada percobaan Gregor Mendel
 - D. penemuan cara melakukan pembacaan sekuen DNA

- 2) Pernyataan berikut yang benar adalah
 - A. suatu asam amino hanya disandikan oleh suatu kodon tertentu
 - B. suatu asam amino bisa disandikan oleh lebih dari satu kodon
 - C. satu atau lebih asam amino dapat disandikan oleh satu kodon
 - D. kodon adalah sekuen tiga ribonukleotida yang berurutan yang terdapat pada tRNA

- 3) Deoksiribosa berbeda dengan ribose pada atom C nomor
 - A. satu
 - B. dua
 - C. tiga
 - D. empat

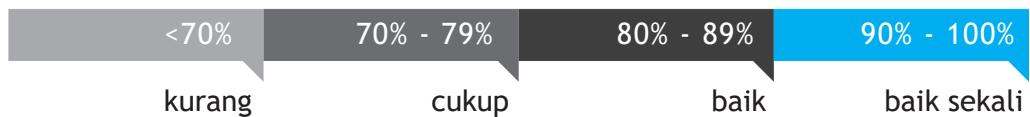
- 4) Perhatikan suatu DNA utas tunggal berikut ini: 5'–AACCGATCATCC–3' maka ujung fosfat terdapat pada Nukleotida
 - A. A
 - B. C
 - C. G
 - D. T

- 5) Asam amino yang dipakai sebagai awal translasi pada bakteri (*Domain Bacteria*) biasanya adalah
- A. metionin
 - B. formil metionin
 - C. sistein
 - D. selenosistein
- 6) Promoter suatu gen adalah
- A. protein
 - B. karbohidrat
 - C. asam nukleat
 - D. lipid
- 7) Asam amino berikut ini hanya disandikan oleh satu kodon, yaitu
- A. metionin
 - B. alanin
 - C. prolin
 - D. glisin
- 8) Peranan enzim RNA polimerase pada proses transkripsi adalah
- A. menutup pilinan ganda DNA hingga terpisah
 - B. menutup pilinan ganda DNA hingga bersatu
 - C. membuka pilinan ganda DNA hingga terpisah
 - D. membuka pilinan ganda DNA hingga bersatu
- 9) Proses penerjemahan pesan genetika menjadi asam amino spesifik dapat berhasil apabila tiap molekul
- A. tRNA berasosiasi dengan asam amino tertentu dan berkorelasi dengan mRNA yang memiliki kodon tertentu
 - B. tRNA berasosiasi dengan asam amino tertentu dan berkorelasi dengan rRNA yang memiliki kodon tertentu
 - C. mRNA berasosiasi dengan asam amino tertentu dan berkorelasi dengan tRNA yang memiliki kodon tertentu
 - D. mRNA berasosiasi dengan asam amino tertentu dan berkorelasi dengan rRNA yang memiliki kodon tertentu
- 10) Setiap enzim restriksi memotong molekul DNA hanya pada
- A. gugus metal DNA
 - B. ujung satu gen
 - C. urutan nukleotida tertentu
 - D. saat replikasi DNA

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes Formatif 2 yang terdapat di bagian akhir modul ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Kegiatan Belajar 2.

$$\text{Tingkat Penguasaan} = \frac{\text{Jumlah Jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100$$

Arti tingkat penguasaan



Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan dengan meneruskan modul selanjutnya. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi Kegiatan Belajar 2, terutama bagian yang belum dikuasai.

Kunci Jawaban Tes Formatif

Tes Formatif 1

- 1) B. Industri produksi antibiotika.
- 2) A. Formulasi bahan baku untuk fermentasi.
- 3) D. Ornithologi.
- 4) C. Pisang yang buahnya mengandung vaksin folio.
- 5) A. Peleburan sperma dan ovum.
- 6) D. Pembuatan tape dengan menambahkan jamur *Saccharomyces* sp.
- 7) C. *Thiobacillus ferrooxidans*.
- 8) D. Melakukan perubahan gen agar dapat dimanfaatkan untuk kesejahteraan manusia.
- 9) B. Memanfaatkan materi genetik (gen/DNA) untuk keperluan kesejahteraan manusia.
- 10) D. Transformasi gen.

Tes Formatif 2

- 1) B. Penemuan transformasi oleh Frederick Griffith.
- 2) B. Suatu asam amino bisa disandikan oleh lebih dari satu kodon.
- 3) A. Satu.
- 4) A. Nukleotida A.
- 5) B. Formil metionin.
- 6) C. Asam nukleat.
- 7) A. Metionin.
- 8) C. RNA polimerasi berperan dalam membuka pilinan ganda DNA hingga terpisah.
- 9) A. Suksesnya proses penerjemahan peranan genetika menjadi asam amino spesifik apabila tiap molekul tRNA berasosiasi dengan asam amino tertentu dan berkorelasi dengan mRNA yang memiliki kodon tertentu pula.
- 10) C. Urutan nukleotida tertentu.

Glosarium

- Antikodon : kumpulan dari tiga urutan (triplet) basa nukleotida pada tRNA yang berisi informasi yang cocok dengan kodon pada mRNA sehingga asam amino yang dibawa tRNA sesuai dengan urutan kodon mRNA.
- Antisense : untai DNA dalam rantai ganda yang komplementer dengan untai pasangannya.
- Bioremediasi : membersihkan lingkungan dari penyebab polusi dengan memanfaatkan populasi mikroba.
- Bioteknologi : aplikasi prinsip-prinsip dasar sains dan rekayasa atas proses material dengan bantuan agen biologi untuk menghasilkan berbagai produk dan jasa bagi kepentingan hidup manusia.
- Bioteknologi modern : bioteknologi yang didasarkan pada prinsip rekayasa DNA atau gen.
- Bioteknologi tradisional : bioteknologi yang memanfaatkan mikroba, proses biokimia, dan proses genetik yang terjadi secara alami, misalnya mutasi dan rekombinasi genetik.
- DNA : *Deoxyribonucleic Acid* (Asam deoksiribonukleat); tempat penyimpanan informasi genetik.
- DNA komplementer : untai tunggal DNA yang disintesis secara *in vitro* dari templat RNA dengan transkriptase terbalik; banyak digunakan dalam rekayasa genetika untuk kloning DNA dari mRNA.
- DNA rekombinan : kumpulan metode molekuler yang memungkinkan peneliti untuk mengisolasi, mengidentifikasi dan melipatgandakan suatu fragmen DNA dalam bentuk murninya.
- DNA polimerase : enzim katalisator yang membantu sintesis DNA dari *templatnya* dalam proses replikasi.
- Ekson : daerah atau sekuen penyandi protein.

- Ekspresi gen : proses di mana informasi yang dikode di dalam gen diterjemahkan menjadi urutan asam amino untuk membangun protein-protein spesifik yang menghasilkan sifat-sifat fenotipik suatu individu.
- Enzim restriksi : enzim yang berfungsi sebagai “gunting molekuler” yang dapat mengenali dan memotong tempat-tempat khusus di sepanjang untai DNA.
- Faktor inisiasi : protein yang diperlukan untuk memulai translasi dan menyebabkan mRNA menempel pada ribosom.
- Faktor pelepas : protein yang mengenal kodon tanda berhenti pada mRNA selama proses translasi dan menyebabkan lepasnya rantai polipeptida yang telah selesai di translasi dari ribosom.
- Faktor transkripsi : protein yang terlibat dan memandu RNA polimerase untuk mengenali dan mengikat sekuen promoter di sepanjang molekul DNA dalam proses transkripsi.
- Fenotip : karakter fisik dan biokimia yang terlihat maupun yang terukur dari suatu individu.
- Fermentasi : penguraian komponen organik oleh mikroorganisme secara anaerobik untuk menghasilkan berbagai produk baru, serta produk samping berupa gas (misalnya alkohol).
- Fragmen Okazaki : untai pendek DNA, 100–200 nukleotida, yang terbentuk selama proses replikasi pada rantai DNA arah 3' → 5' (replikasi yang terputus-putus).
- Gen : susunan instruksi dan informasi untuk menghasilkan atau mempengaruhi karakter dan sifat individu yang diwariskan.
- Genom : total informasi genetik yang disimpan di dalam DNA suatu sel; total jumlah kromosom dalam inti sel.
- Genotip : bentuk atau susunan genetik, yang dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan, dalam menentukan fenotip suatu individu

- Intron : daerah atau sekuen bukan penyandi, sebagai penyela pada gen eukariota.
- Kodon : kumpulan dari tiga urutan (triplet) basa nukleotida pada DNA (atau RNA) yang menentukan jenis asam amino atau tanda berhenti pada proses translasi.
- Konjugasi : fusi atau perpaduan bakteri dengan saling menukar materi genetik; fusi/perpaduan gamet; perpaduan sepasang kromosom.
- Metabolomik : studi tentang sidik jari kimiawi suatu sel, khususnya profil molekul metabolit sel tersebut. Metabolom termasuk semua metabolit yang ada di dalam suatu organisme, yang merupakan produk akhir dari ekspresi gen sehingga dengan mempelajari profil metabolomik kita mengetahui potret fisiologi sel secara keseluruhan saat dianalisis.
- Mutasi : perubahan materi genetik (DNA) yang dapat diwariskan.
- Nukleotida : materi penyusun asam nukleat yang terdiri dari gula 5-karbon yang terikat secara kovalen dengan basa nitrogen dan gugus fosfat.
- Oligonukleotida : untai pendek nukleotida.
- Operon : unit fungsional karakteristik dari genom prokariot berupa sekumpulan gen bersebelahan yang ekspresinya diatur oleh sebuah promoter.
- Plasmid : molekul DNA kecil berbentuk lingkaran sebagai kromosom ekstra yang dapat berekspresi secara otonomi di dalam sel bakteri.
- Primer : untai pendek RNA yang harus disintesis pada templet DNA, sebelum DNA polimerase memulai replikasi DNA. Di akhir proses, untai RNA ini dibuang, dan ruang kosong yang ditinggalkannya digantikan oleh DNA.

- Probiotik : zat yang dikeluarkan oleh suatu mikroorganisme berfungsi sebagai stimulan bagi pertumbuhan organisme lain. Sejumlah mikroorganisme yang hidup di dalam inang yang memberikan keuntungan atau meningkatkan kesehatan inang tersebut.
- Promoter : daerah atau sekuen spesifik pada untai DNA tempat melekatnya RNA polimerase untuk memulai proses transkripsi.
- Proteomik : studi tentang seluruh protein yang diekspresikan oleh genom, lokasi, fungsi, dan interaksinya dalam suatu organisme, pada berbagai kondisi lingkungan.
- Protoplasma : seluruh isi sel; sitoplasma dengan semua isinya.
- Rhesus : nama antigen yang pertama kali ditemukan dalam eritrosit kera *Macaca rhesus*.
- Ribonuklease (RNase) : sejenis enzim yang dapat memotong dan mengurai RNA menjadi potongan-potongan kecil bahkan menjadi unit-unit terkecilnya, molekul-molekul nukleotida.
- RNA : *Ribonucleic Acid* (Asam ribonukleat); makromolekul yang berfungsi sebagai penyimpan dan penyalur informasi genetik.
- RNA polimerase : enzim katalisator yang membantu sintesis RNA dari *templatnya* dalam proses transkripsi.
- Sekuen DNA : urutan nukleotida atau pasangan basa pada molekul DNA, yang menentukan urutan asam amino dalam pembentukan protein.
- Sel punca (*stem cells*) : sel embrio atau sel dewasa yang belum berdiferensiasi (berubah bentuk atau fungsi) serta dapat membelah (memperbanyak) diri dengan jumlah tidak terbatas, yang dapat berkembang menjadi sel atau bahkan jaringan baru, misalnya darah, kulit.
- Talasemia : sel-sel darah merah yang tidak normal sehingga mengakibatkan anemia.

Totipotensi	: kemampuan unik sel atau jaringan untuk berdiferensiasi atau membentuk sel tipe apa saja dan berkembang menjadi individu utuh yang sempurna.
Transgenik	: hasil rekayasa genetika; organisme yang menerima gen-gen dari spesies yang lain.
Transkripsi	: sintesis RNA dari salah satu rantai, sebagai <i>template</i> DNA.
Transkriptase terbalik	: DNA polimerase yang ditemukan pada retrovirus, yang menyintesis DNA dari templet virus RNA.
Translasi	: sintesis protein; membangun rantai polipeptida sesuai dengan sekuen nukleotida spesifik dari mRNA.
Unit transkripsi	: rentangan DNA yang ditranskripsi menjadi molekul RNA, termasuk lokasi tanda start dan berhenti.
Vaksin	: mikroorganisme atau bagian mikroorganisme yang telah dilemahkan.
Vektor	: agen yang membawa DNA rekombinan ke dalam sel hidup (sel inang).

Daftar Pustaka

- Alberts, B., A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, and P. Walter. (2002). *Molecular biology of the cell*. Fourth Edition. Garland Science. New York.
- Alcamo, I.E. (2001). *DNA technology: The awesome skill*. Second edition. Academic Press. San Diego.
- Allen, E.E. and J.F. Banfield. (2005). Community genomics in microbial ecology and evolution. *Nature Reviews Microbiology* 3: 489–498.
- Aryulina, D., C. Muslim, S. Manaf dan E.W. Winarni. (2003). *Biologi. untuk SMA kelas 3*. Jakarta: ESIS.
- Brock, T.D. (1990). *The emergence of bacterial genetics*. Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Bud, R. (1993). *The uses of life: A history of biotechnology*. Cambridge, U.K: Cambridge University Press.
- Bunch, B. and A. Hellemans. (1993). *The timetables of technology*. New York: Simon & Schuster.
- Campbell, N.A and J.B. Reece. (2005). *Biology*. California: The Benjamin Cummings Pub. Co, Inc., Boston.
- Diaz, E. (ed). (2008). *Microbial biodegradation: Genomics and molecular biology*. First Edition. Norfolk, England: Caister Academic Press.
- Gerstein, M. (2008). *Bioinformatics introduction*. Yale University. (<http://www.primat.or.kr/bioinformatics/Course/Yale/intro.pdf>. – pada 8 Mei 2008).
- Handelsman, J., M.R. Rondon, S.F. Brady, J. Clardy, and R.M. Goodman. (1998). Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: A new frontier for natural products. *Chemistry & Biology* 5: 245-249.
- Johnstone, A. (2001). *Biology. facts and practice for a level*. New York: Oxford University Press.
- Klug, W. and M. Cummings. (2002). *Essentials of genetics*. Fourth Edition. NJ: Prentice Hall: Upper Saddle River.

- Lawrence, E. (2005). *Henderson's dictionary of biological terms*. Essex, England: Prentice Hall – Longman Scientific and Technical.
- Le Lay, P., M.P. Isaure, J.E. Sarry, L. Kuhn, B. Fayard, J.L. Le Bail, O. Bastien, J. Garin, C. Roby, and J. Bourguignon. (2006). Metabolomic, proteomic and biophysical analyses of arabisopsis thaliana cells exposed to a cesium stress. Influence of potassium supply. *Biochimie: Facets of Environmental Nuclear Toxicology*, 88(11):1533-1547.
- Lodish, H., A. Berk, S.L. Zipursky, P. Matsudaira, D. Baltimore, and J. Darnell. (2000). *Molecular cell biology*. New York: W.H. Freeman.
- Peeters Weem, M. (2001). *Biology*. Second Edition. Victoria, Australia: International Baccalaureate. IBID Press.
- Singer, M and P. Berg. (1991). *Genes and genomes: A changing perspective*. California: University Science Books.
- Smith, J.E. (2009). *Biotechnology*. Fifth Edition. New York: Cambridge University Press.
- Tudge, C. (2001). *The impact of the gene: From Mendel's peas to designer babies*. New York: Hill and Wang.
- Weaver, R.F. (2002). *Molecular biology*, Second edition. New York: McGraw-Hill.