

BIOTEKNOLOGI DAN RADIOISOTOP

Oei Ban Liang
PAU Bioteknologi dan Jurusan Kimia ITB

INTISARI

Dengan banyaknya definisi yang lazim digunakan untuk istilah bioteknologi, maka perlu disepakati terlebih dulu definisi yang dianut untuk bioteknologi, paling tidak dalam hal yang berkaitan dengan pembicaraan ini. Bioteknologi didefinisikan sebagai aplikasi terpadu mikrobiologi, biokimia dan rekayasa biokimia dalam pendayagunaan kapasitas biakan mikroba, sel atau jaringan untuk industri, kesehatan atau pertanian.

Walaupun bioteknologi sebagai ilmu terpakai akan menekankan kepada aplikasi teknologi, pengembangan bioteknologi ini tidak akan berhasil dengan baik tanpa dukungan disiplin-disiplin pendukungnya, seperti mikrobiologi, biokimia, genetika, fisiologi mikroba, rekayasa biokimia serta ilmu-ilmu dasar yang menopang teknik lingkungan.

Penggunaan radioisotop pada bioteknologi modern sangat erat berhubungan dengan rekayasa genetika dan akan dibicarakan empat kasus penggunaan radioisotop di bidang bioteknologi. Kasus pertama pendayagunaan radioisotop dalam bioteknologi ialah dalam sistem *blotting* baik *Southern blotting* maupun *Northern blotting* atau *Western blotting*.

Southern blotting merupakan suatu teknik untuk mengidentifikasi suatu *fragmen* DNA tertentu. Suatu syarat untuk teknik ini dapat dilakukan ialah harus adanya cuplikan murni *gen* atau DNA yang menjadi perhatian kita. Syarat ini tidak selalu dapat dipenuhi sehingga ini membatasi aplikasi teknik ini. Tetapi teknik ini sangat ampuh dalam hal ia dapat digunakan. Teknik ini akan diceritakan secara rinci, dimana akan jelas bahwa digunakan radioisotop untuk maksud ini.

Suatu contoh penggunaan cara *Southern blotting* ini ialah untuk menentukan apakah suatu molekul DNA atau suatu *fragmen* DNA sama dengan atau terdapat pada suatu *gen* tertentu. Misalkan diketahui bahwa pada *E. coli* ada molekul DNA yang mengkode sintesa enzim penisilinase. Lalu ingin diketahui apakah *gen* mikroba lainnya seperti *B. megaterium* mengandung juga DNA untuk sintesa penisilinase itu, maka diisolasi DNA dari *B. megaterium* dan DNA ini dipotong-potong dengan enzim restriksi.

Fragmen-fragmen DNA ini dielektroforesasi pada gel agarosa atau poliakrilamida. Setelah elektroforesasi DNA yang telah terpisah itu didenaturasi dengan alkali untuk memisahkan *double helix* DNA menjadi SS-DNA. Tahap berikutnya ialah mengalihkan *fragmen-fragmen* DNA yang sudah terpisah pada *filter* nitroselulosa. Gel yang mengandung SS-DNA yang telah terpisah itu kemudian diletakkan pada kertas saring basah lalu ditutup dengan *filter* selulosanitrat dan beberapa lapis kertas saring kering. SS-DNA yang ada di gel ditarik oleh kertas saring kering dan melekat pada *filter* nitroselulosa. Dengan pemanasan pada 80°C *fragmen-fragmen* tersebut akan terfiksasi pada *filter* nitroselulosa. *Filter* ini kemudian dicampurkan pada suatu larutan *probe* DNA yang telah ditandai dengan radioisotop, dalam hal ini larutan DNA murni yang mengkode sintesa enzim penisilinase. *Probe* DNA akan terikat dengan cara hibridisasi pada *fragmen* DNA yang ada pada *filter*. Kelebihan *probe* akan dihilangkan dari *filter* dengan pencucian lalu *filter* yang mengandung *fragmen* DNA terhibridisasi diotoradiografi.

Dengan sedikit modifikasi, cara ini dapat digunakan untuk mengidentifikasi urutan nukleotida tertentu pada RNA dan cara ini dikenal dengan nama *Northern blotting*. Masih ada suatu cara lain yang dinamakan *Western blotting* dimana yang dielektroforesasi ialah molekul-molekul protein yang kemudian diikat pada *filter* nitroselulosa. Deteksi kemudian dilakukan dengan antibodi yang ditandai dengan radioisotop, tentu saja melalui otografi juga.

Suatu cara penggunaan radioisotop lainnya pada bidang rekayasa genetika ialah pada penentuan urutan nukleotida yang dikenal dengan istilah *sequencing* DNA. Akan diceritakan teknik *sequencing* DNA yang dilakukan oleh Maxam dan Gilbert dan cara dideoksi menurut Sangster.

Radioisotop dapat pula digunakan untuk skrining sel yang telah ditransformasikan. Skrining ini dapat dilakukan secara imunologi atau secara hibridisasi asam nukleat. Kedua cara ini menggunakan *probe* yang ditandai dengan radioisotop dan setelah itu digunakan otografi untuk sistem deteksinya.

Cara penggunaan radioisotop keempat di bidang bioteknologi ialah pada *radioimmuno assay* yang dikenal dengan singkatan RIA. Cara ini dapat digunakan untuk penentuan antibodi, imunotoksin dan hormon pada kadar rendah dan sudah banyak dilakukan di PPTN, sehingga tidak perlu diceritakan lagi.

Masih banyak penggunaan lain radioisotop di disiplin pendukung bioteknologi. Hampir semua

kajian runutan (*tracer studies*) menggunakan radioisotop, misalkan untuk elisidasi model biosintesa, untuk pengkajian termodinamika dan kinetika proses pemisahan dan lain-lain. Untuk menggalakkan pendayagunaan radioisotop ini jelas diperlukan kemampuan pembuatan senyawa bertanda.