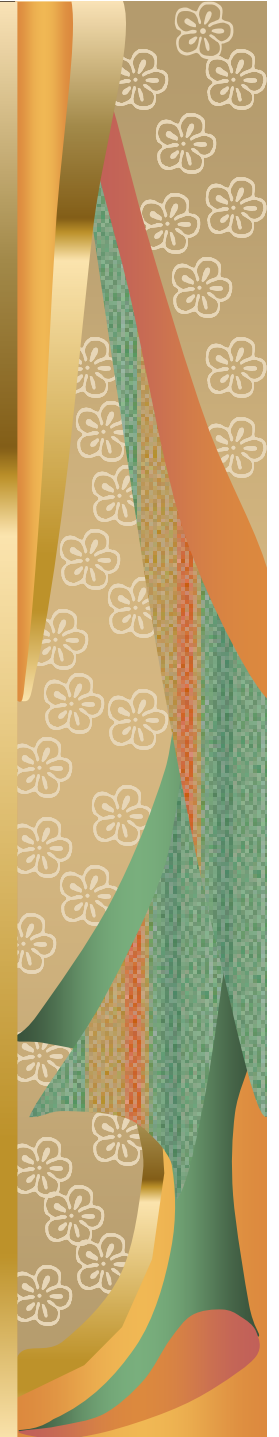


KLONING

dari kata “clone” yang diturunkan dari bahasa Yunani “klon” , artinya potongan yang digunakan untuk memperbanyak tanaman.



DI BID PERTANIAN

KLON = sekelompok individu yang genetis uniform berasal dari satu individu, hsl perbanyakan veg/aseksual, tanpa pembuahan.

Kloning = teknik memperbanyak klon.

- Cara : okulasi, cutting , grafting dan kmd dg teknik kultur jaringan.
- Pada dasarnya kloning mrp perbanyakan individu scr aseksual atau tanpa pembuahan. Suatu keg rutin yg sdh dikenal lama.

Pengertian

Kloning : gen-gen yang direkombinasi dan di kembangkan.

- klon sel : sekelompok sel yang identik sifat-sifat genetiknya, semua berasal dari satu sel.
- klon gen atau molekuler : sekelompok salinan gen yang bersifat identik yang direplikasi dari satu gen yang dimasukkan dalam sel inang

DEFINISI TERKINI

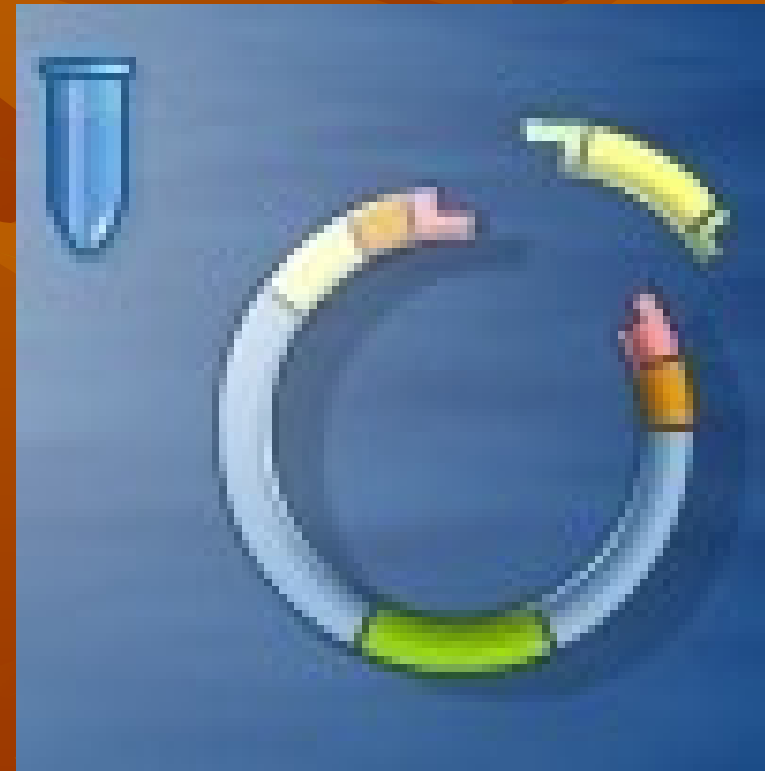
- **Kloning (klonasi)** merupakan teknik penggandaan gen yang menghasilkan turunan yang sama sifat baik dari segi hereditas maupun penampakkannya dengan induknya, pada organisme, baik tumbuhan, hewan maupun manusia.

DASAR TEORI

- Menurut Gregor Mendel, sifat-sifat organisme yang dapat diwariskan diatur oleh suatu faktor yang disebut gen, (yaitu suatu partikel yang berada di suatu di dalam sel, tepatnya di dalam kromosom).
- Gen menjadi dasar dalam pengembangan penelitian genetika meliputi pemetaan gen, menganalisis posisi gen pada kromosom.
- Setelah DNA sebagai material genetik beserta strukturnya, kode-kode genetik, serta proses transkripsi dan translasi, dapat dijabarkan, maka lahir metode teknologi DNA rekombinasi atau rekayasa genetika, yang inti prosesnya adalah kloning gen, yaitu suatu prosedur untuk memperoleh replika yang dapat sama dari sel atau organisme tunggal.

KLONING GEN

- mrp st terobosan baru unt mendapatkan sebuah gen yang mungkin sangat dibutuhkan bagi kehidupan manusia.
- meliputi serangkaian pr isolasi fragmen DNA spesifik dari genom suatu organisme, penentuan sekuen atau fragmen DNA, pembentukan molekul DNA rekombinan, dan ekspresi gen target dalam sel inang.

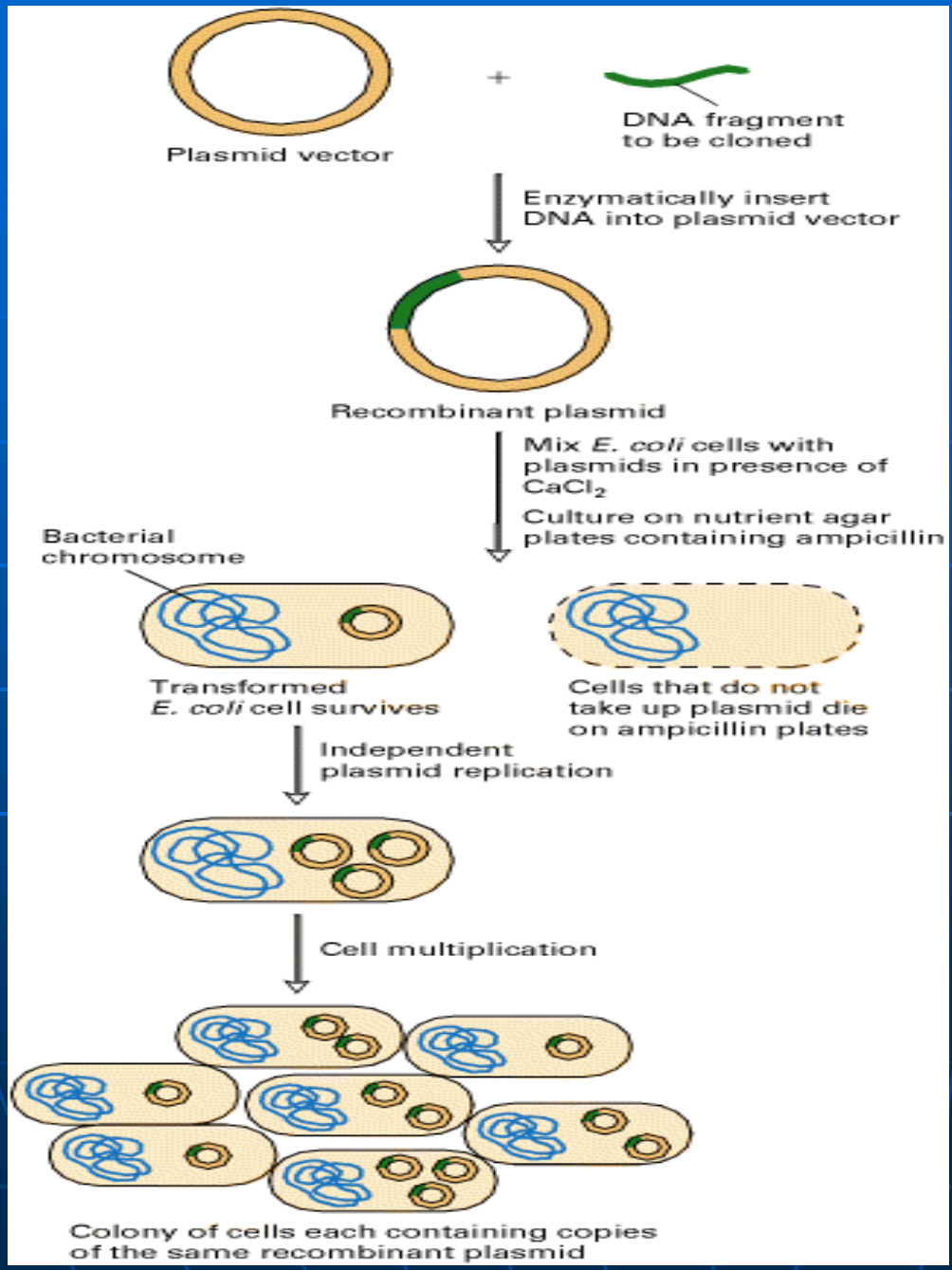


Langkah dasar kloning gen (1)

- Penentuan sekuen atau fragmen DNA melalui sekuensing bertujuan untuk memastikan fragmen DNA yang diisolasi adalah gen target sesuai dengan kehendak kita.
- Suatu fragmen DNA yang mengandung gen target yang akan diklon, selanjutnya diinsersikan/dimasukkan ke dalam molekul DNA sirkular yang disebut vektor (plasmid, phage atau cosmid) untuk menghasilkan chimoera atau molekul DNA rekombinan. Vektor bertindak sebagai wahana atau wadah, yang membawa gen masuk ke dalam sel inang atau tuan rumah (*host*).
- DNA rekombinan yang dihasilkan kemudian ditransformasi ke dalam sel inang (biasanya sel bakteri, misalnya strain *E. coli* walaupun sel-sel jenis lain dapat di gunakan) untuk diproduksi lebih banyak.

Langkah dasar kloning gen

- Di dalam sel inang, vektor **(2)** melakukan replikasi menghasilkan banyak turunan identik, baik vektornya sendiri maupun gen yang dibawanya (gen target).
- Ketika sel inang membelah, salinan molekul DNA rekombinan (yang mengandung gen target) diwariskan pada progeni dan terjadi replikasi vektor selanjutnya.
- Setelah terjadi sejumlah besar pembelahan sel, maka dihasilkan koloni atau klon sel inang yang identik.
- Setiap sel dalam klon mengandung satu salinan atau lebih molekul DNA rekombinan; sehingga dapat dikatakan bahwa gen yang dibawa oleh molekul DNA rekombinan telah diklon.
- Gen-Gen target yang ada di dalam sel inang jika diekspresikan akan menghasilkan produk gen yang kita inginkan



Contoh aplikasi kloning gen

- Produksi insulin. Fragmen DNA spesifik penyandi insulin diisolasi dan diklon dalam suatu vektor membentuk DNA rekombinan yang selanjutnya produksi insulin dilakukan di dalam sel inang bakteri *E. coli*.

Vektor untuk kloning gen

- vektor adl pembawa gen masuk ke sel inang & bertanggung jawab atas replikasinya.
- **Syarat** untuk dapat bertindak sebagai vektor : harus mampu memasuki sel inang & dapat mengadakan replikasi untuk menghasilkan salinan dalam jumlah besar.

Beberapa contoh vektor :

- **Plasmid**, mrp molekul DNA sirkuler yang terdapat dalam bakteri & berbagai organisme lain. Plasmid dapat melakukan replikasi dengan tidak tergantung pada kromosom sel inang.
- **Bakteriofag**, yaitu virus yang harus menginfeksi bakteri pada waktu infeksi molekul DNA bakteriofag diinfeksi ke dalam sel inang, dan kemudian DNA ini mengalami replikasi.

Teknik dasar kloning gen :

- Teknik untuk mengisolasi DNA.
- Teknik untuk memotong DNA.
- Teknik untuk menggabung atau menyambung DNA.
- Teknik untuk memasukkan DNA ke dalam sel hidup.

Perangkat

- Enzim restriksi digunakan untuk memotong DNA
- Enzim DNA ligase digunakan untuk menyambung DNA
- Plasmid digunakan sebagai vektor untuk mengklonkan gen atau mengklonkan fragmen DNA atau mengubah sifat bakteri.
- Transposon digunakan sebagai alat untuk melakukan mutagenesis dan untuk menyisipkan penanda.
- Pustaka Genom digunakan untuk menyimpan gen atau fragmen DNA yang telah diklonkan.
- Enzim traskripsi balik digunakan untuk membuat DNA berdasarkan RNA.
- Pelacak DNA / RNA digunakan untuk mendeteksi gen atau fragmen DNA yang diinginkan atau untuk mendeteksi klon yang benar.

Kloning binatang

- Awalnya, dg cara mengambil inti/nukleus dlm ovum yang telah dibuahi (via pembedahan, menonaktifkan scr total dg radiasi) kmd diganti dg nukleus yang diambil dari individu lain.
- Pada katak, nukleus-nukleus yang dicangkokkan dari sel-sel embrio katak yang sangat muda, yang masih totipoten, berhasil melahirkan katak-katak dewasa.

Domba Dolly, Ian Wilmut

- Inti ovum dr Domba I diambil lalu diisi inti sel somatik (sel ambing) dr domba II
- Ovum yang telah diisi inti sel somatik, dikulturkan dlm lingkungan bernutrisi sampai tumbuh menjadi embrio
- Embrio ditanam ke dalam rahim domba III



Domba Dolly

Kloning terapi

- **Sel stem = sel-sel dasar yang akan berkembang menjadi berbagai jenis sel dalam tubuh, dan inilah yang akan dibiakkan sebagai jaringan organ transplantasi**
- **Untuk menghasilkan embrio, DNA yang diperoleh dari inti sel stem donor diinjeksikan pada ovum donor yang sudah dibuang inti selnya. Sel stem ini diambil dari sel kulit yang disebut sel kumulus. Ovum yang sudah diganti inti selnya lalu dikulturkan spy tumbuh & bkembang.**
- **Sisi gelap kloning organ manusia/kloning terapi : mengobati orang sakit dengan menghancurkan calon orang (embrio klonx) demi organnya.**