

# Menuju Kloning Terapeutik Dengan Teknik SCNT

Melina Setiawan, Caroline Tan Sardjono, Ferry Sandra

Stem Cell Division, Stem Cell and Cancer Institute, Kalbe Pharmaceutical Company Jakarta, Indonesia

## ABSTRAK

Penggunaan teknik *Somatic Cell Nuclear Transfer* (SCNT), baik dalam penelitian kloning reproduktif maupun kloning terapeutik telah dilakukan oleh para ilmuwan di berbagai negara. Teknologi SCNT meliputi suatu teknologi rekayasa terhadap sel telur, dengan cara mentransfer inti dari sel donor ke sel telur yang telah dikeluarkan intinya (*enucleated oocyte*). Kedua jenis kloning memiliki kegunaannya masing-masing. Kloning reproduktif berperan penting dalam pelestarian hewan-hewan langka yang hampir punah. Sedangkan, kloning terapeutik bertujuan untuk menghindari adanya reaksi penolakan terhadap sistem imun pasien dalam terapi sel punca (*stem cell*). Keberhasilan suatu penelitian yang menghasilkan sel punca embrionik monyet dengan teknik SCNT akhir-akhir ini membawa dunia semakin dekat dengan produksi sel punca embrionik manusia dari sel somatik dewasa sehingga risiko penolakan terhadap sistem imun akan semakin berkurang. Tentu saja hal ini hanya dapat berkembang apabila permasalahan etika penggunaan sel telur donor dapat teratasi.

## PENDAHULUAN

Apabila anda mendengar kata “kloning”, mungkin yang terlintas di dalam pikiran anda adalah domba Dolly, domba yang berhasil diklon oleh Ian Wilmut pada tahun 1996. Pada umumnya, topik pembicaraan tentang kloning cenderung hanya membicarakan mengenai salah satu jenis kloning, yaitu kloning reproduktif. Domba Dolly merupakan salah satu contoh dari kloning reproduktif. Sebenarnya terdapat dua jenis kloning, yaitu kloning reproduktif dan kloning terapeutik. Kedua jenis kloning ini merupakan penerapan dari aplikasi teknologi *Somatic Cell Nuclear Transfer* atau SCNT. Saat ini, berbagai penelitian yang bertemakan kloning terus berjalan di tengah maraknya isu etika mengenai hal ini.

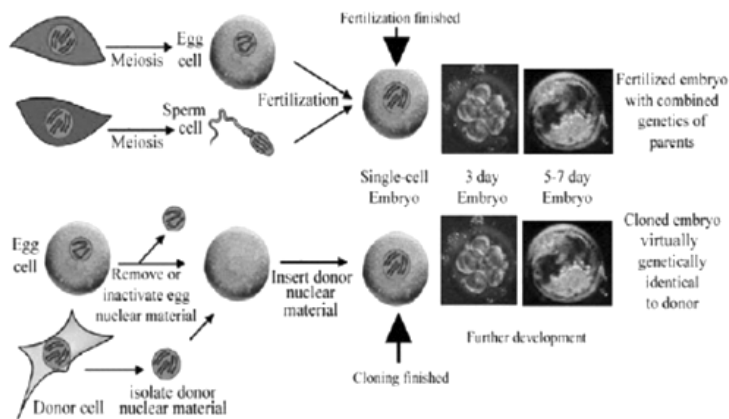
## Teknik SCNT

Teknik SCNT berbeda dengan fertilisasi yang terjadi secara alami (Gambar 1). Pada fertilisasi alami, setelah

mengalami pembelahan meiosis, sel telur dan sel sperma memiliki materi genetik haploid ( $n$ ). Terjadinya pembuahan sel telur oleh sel sperma atau fertilisasi akan menghasilkan embrio satu sel yang memiliki materi genetik  $2n$ . Kemudian, embrio ini akan terus berkembang ke tahapan perkembangan selanjutnya menjadi 2 sel, 4 sel, 8 sel, 16 sel, dan seterusnya.

Berbeda dengan fertilisasi alami, teknik SCNT merupakan suatu teknik rekayasa sel telur dengan cara mentransfer inti dari sel donor ke dalam sel telur yang telah dikeluarkan intinya (*enucleated oocyte*). *Enucleated oocyte* tidak memiliki materi genetik. Oleh karena itu, untuk mendapatkan embrio konstruksi yang diploid, sel telur harus direkonstruksi dengan cara mentransfer sel somatik ( $2n$ ) ke dalam *enucleated oocyte*<sup>1</sup>. Proses enukleasi sel telur dapat dilakukan secara mekanik menggunakan teknik mikromanipulasi. Sedangkan, proses introduksi sel donor dapat dilakukan dengan teknik mikroinjeksi. Keberadaan cytochalasin B (CB) pada medium kultur bertujuan untuk menghambat sitokinesis atau pembelahan sel sehingga dapat dihasilkan klon embrio diploid<sup>2</sup>.

Aplikasi dari teknologi SCNT adalah pada penelitian kloning reproduktif dan juga kloning terapeutik. Perbedaan tahapan antara fertilisasi alami, kloning reproduktif, dan kloning terapeutik dapat dilihat pada gambar 2. Pada perkembangan secara normal (A), zigot diploid terbentuk setelah



Gambar 1. Perbedaan antara fertilisasi alami dan SCNT.

terjadi fertilisasi. Kemudian, zigot akan membelah sampai terbentuk blastosit yang akan menempel pada dinding uterus sampai akhirnya berakhir pada proses melahirkan. Pada kloning reproduktif (B), sel donor yang berupa sel somatik (2n) diintroduksi ke *enucleated oocyte*. Keberhasilan proses aktivasi embrio konstruksi secara kimiawi atau mekanik mengakibatkan terjadinya proses pembelahan sampai ke tahap blastosit. Kemudian, embrio "dititipkan" ke *surrogate mother* untuk dilahirkan secara normal. Sedangkan, pada kloning terapeutik (C), setelah embrio mencapai tahapan blastosit, embrio dikultur secara *in vitro* untuk didiferensiasikan menjadi berbagai jenis sel untuk kegunaan terapeutik.

### Kloning reproduktif

Kloning reproduktif mengandung arti suatu teknologi yang digunakan untuk menghasilkan individu (hewan) baru. Genetika hewan klon tidak seluruhnya memiliki kesamaan dengan sang induk<sup>1</sup>. Dengan menggunakan teknik SCNT, persamaan genetika hewan klon dengan induknya hanya terletak pada inti DNA donor yang berada di kromosom. Hewan klon juga memiliki material genetik lainnya yang berasal dari DNA mitokondria di sitoplasma<sup>1</sup>.

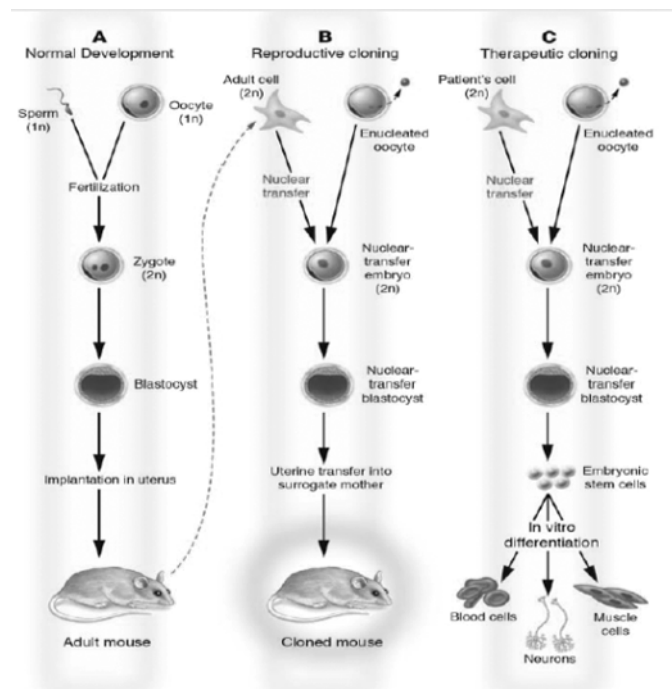
Teknologi kloning reproduktif dapat digunakan untuk mencegah terjadinya kepunahan hewan-hewan langka ataupun hewan-hewan sulit dikembangbiakkan. Namun, laju keberhasilan teknologi ini sangatlah rendah. Domba Dolly merupakan satu-satunya klon yang berhasil lahir setelah dilakukan 276 kali percobaan (3)<sup>4,5</sup>. Semasa hidupnya, Dolly mengalami kanker paru-paru dan artritis, dan kemudian meninggal pada usia 6 tahun. Padahal, usia rata-rata domba pada umumnya mencapai 11-12 tahun<sup>6</sup>.



Gambar 3. Domba Dolly, hewan mamalia pertama yang berhasil diklon oleh Ian Wilmut pada tahun 1996. Dolly meninggal dengan cara disuntik mati (lethal injection) pada tanggal 14 februari 2003. Sebelum kematiannya, Dolly menderita akibat kanker paru-paru dan artritis yang dialaminya<sup>6</sup>

Sampai saat ini, hewan klon yang berhasil diproduksi jumlahnya cukup banyak, di antaranya adalah domba, sapi, kambing, kelinci, kucing, dan mencit<sup>1,7</sup>. Sementara itu, tingkat keberhasilan kloning masih rendah pada hewan anjing, ayam, kuda, dan primata<sup>1,7</sup>.

Masalah yang kerap kali timbul dalam kloning reproduktif



Gambar 2. Perbedaan antara fertilisasi alami, kloning reproduktif, dan kloning terapeutik<sup>3</sup>.

adalah biaya dan efisiensinya. Penelitian dalam kloning reproduktif membutuhkan biaya yang sangat tinggi dan tingkat kegagalannya tinggi. Di samping tingkat keberhasilan yang rendah, hewan klon cenderung mengalami masalah defisiensi sistem imun serta sangat rentan terhadap infeksi, pertumbuhan tumor, dan kelainan-kelainan lainnya.

Penyebab timbulnya berbagai masalah di atas adalah adanya kesalahan saat pemrograman material genetik (*reprogramming*) dari sel donor<sup>8</sup>. Kesalahan pengkopian DNA dari sel donor atau yang lebih dikenal dengan sebutan *genomic imprinting* akan mengakibatkan terjadinya perkembangan embrio yang abnormal. Berbagai contoh abnormalitas yang terjadi pada klon mencit adalah obesitas<sup>9</sup>, pembesaran plasenta (*placentomegally*)<sup>10</sup>, kematian pada usia dini<sup>11</sup>.

Parameter yang dijadikan sebagai tolak ukur keberhasilan dalam SCNT adalah kemampuan sitoplasma pada sel telur untuk mereprogram inti dari sel donor dan juga kemampuan sitoplasma untuk mencegah terjadinya perubahan-perubahan secara epigenetik selama dalam perkembangannya<sup>12</sup>. Dari semua penelitian yang telah dipublikasikan, tercatat hanya sebagian kecil saja dari embrio hasil rekonstruksi (menggunakan sel somatik dewasa atau fetal) yang berkembang menjadi individu muda yang sehat, dan umumnya laju keberhasilannya kurang dari 4%<sup>12</sup>.

### Kloning terapeutik dan sel punca

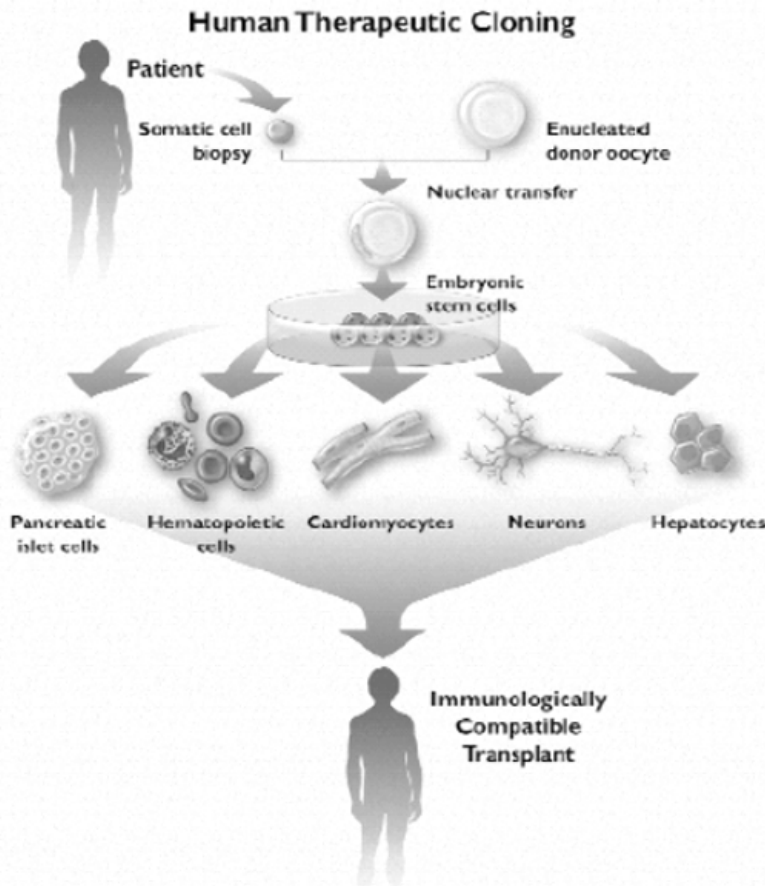
Kloning terapeutik dengan menggunakan teknologi

SCNT merupakan bagian dari terapi sel punca yang bertujuan untuk menghindari adanya reaksi penolakan terhadap sistem imun pasien pada saat dilakukan terapi. Dalam beberapa dekade terakhir, minat terhadap penelitian sel punca terus meningkat tajam. Sel punca memiliki potensi yang sangat menjanjikan untuk terapi berbagai penyakit sehingga menimbulkan harapan baru untuk mengobatinya. Sampai saat ini, ada 3 golongan penyakit yang dapat diatasi dengan penggunaan sel punca<sup>13</sup>, di antaranya adalah:

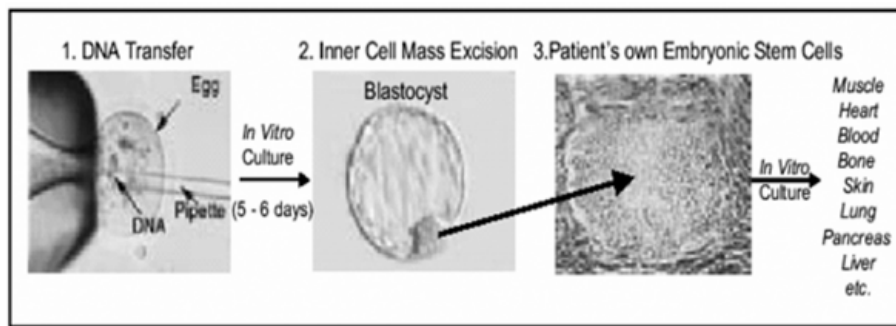
1. Penyakit *autoimun*, contoh penyakit lupus.
2. Penyakit degeneratif, contoh *stroke*, Parkinson, Alzheimer.
3. Penyakit kanker, contoh leukemia.

Sel punca embrionik sangat plastis dan mudah dikembangkan menjadi berbagai macam jaringan sel, seperti neuron, kardiomyosit, osteoblast, fibroblast, dan sebagainya. Oleh karena itu, sel punca embrionik dapat digunakan untuk transplantasi jaringan yang rusak<sup>14</sup>. Selain itu, sel punca embrionik memiliki tingkat imunogenisitas yang rendah selama belum mengalami diferensiasi<sup>15</sup>. Salah satu cara untuk menghindari terjadinya *graft versus host disease* (GVHD) adalah dengan menggunakan sel punca embrionik dengan sel somatik yang bersumber dari pasien itu sendiri sehingga tidak akan ada penolakan lagi terhadap sistem imunnya<sup>15</sup>.

Dengan menggunakan teknologi SCNT, sel punca embrionik yang dihasilkan akan identik dengan induknya



Gambar 4. Kloning terapeutik pada manusia<sup>16</sup>.



Gambar 5. Proses produksi sel punca embrionik<sup>17</sup>.

[dalam hal ini adalah pasien itu sendiri]. Hal itu mengakibatkan tidak akan adanya reaksi penolakan terhadap sistem imun pasien apabila dilakukan transplantasi. Secara teoritis, teknik SCNT memiliki potensi besar dalam dunia kesehatan karena dapat dipergunakan untuk transplantasi berbagai organ dan jaringan pada manusia.

Secara singkat tahapan untuk melakukan kloning terapeutik pada manusia (Gambar 4) adalah mengambil biopsi sel somatik dari tubuh pasien dan inti dari sel somatik tersebut ditransfer ke dalam sel telur donoryang telah dikeluarkan intinya [*unfertilized enucleated oocyte*]<sup>16</sup>. Sel telur hasil manipulasi dikultur sampai ke tahapan tertentu

dan setelah mengalami berbagai proses akan didapatkan sel punca embrionik. Sel punca embrionik ini diarahkan perkembangannya menjadi suatu jaringan atau organ tertentu yang akan dapat digunakan untuk transplantasi jaringan atau organ dan tidak akan mengalami rejeksi sistem imun pada pasien itu sendiri [*immunologically compatible transplant*]<sup>16</sup>.

Proses produksi sel punca embrionik melalui teknik SCNT dapat dijelaskan secara rinci pada gambar 5<sup>17</sup>. Dengan menggunakan bantuan mikroskop, pergerakan sel telur ditahan dengan *holding pipette*. Kemudian, DNA dari sel somatik pasien (yang berada di dalam *injection pipette*) diintroduksi ke dalam sel telur *enucleated*. Sel telur hasil manipulasi dikultur secara *in vitro* menjadi blastosit selama 5-6 hari. Lalu,

*inner cell mass* diisolasi dan dikultur di cawan petri sehingga akan berkembang menjadi sel punca embrionik yang memiliki profil imunologi yang sama dengan pasien.

### Kloning terapeutik pada manusia

Pada tahun 2005, Perry *me-review* hasil penelitian Hwang dkk yang telah berhasil menghasilkan sel punca embrionik dengan menggunakan teknik SCNT<sup>18</sup>. Pada penelitian tersebut dilaporkan bahwa Hwang dkk mentransfer inti sel somatik dari 11 donor (8 pria dan 3 wanita) yang berusia 2-56 tahun, ke dalam sel telur yang telah dibuang materi genetiknya. Donor yang dipilih memiliki kondisi-kondisi yang berpotensi dilakukannya terapi sel punca, di antaranya adalah *congenital hypogammaglobulinemia*, *spinal cord injury*, dan *juvenile diabetes*. Produksi sel punca embrionik hanya berhasil dicapai dengan menggunakan sel somatik yang berasal dari 9 donor. Akan tetapi, ketika dilakukan analisis independen terhadap data tersebut, telah diketahui bahwa ternyata sel punca embrionik yang dihasilkan bukan merupakan sebuah hasil kloning sel punca embrionik manusia melainkan dihasilkan akibat terjadinya *parthenogenesis*<sup>19</sup>. Sejak saat itu, belum ada lagi peneliti yang melaporkan keberhasilan produksi sel punca embrionik manusia.

### Etika dalam kloning

Dalam penelitian sel punca, perlu diperhatikan juga masalah etika yang timbul dan juga keterkaitannya dengan hukum yang berlaku di negara bersangkutan. Menurut sumbernya, sel punca dapat diklasifikasikan menjadi 3 jenis, yaitu *adult stem cells*, sel punca yang berasal dari *aborted fetus*, dan sel punca dari *preimplanted embryo*.

Pada proses assisted reproduction dengan cara *in vitro fertilization* (IVF), embrio dihasilkan dengan cara pembuahan yang dilakukan di dalam laboratorium (*in vitro*). Kemudian, 1-2 embrio yang dihasilkan akan ditransfer ke dalam uterus. Namun, seringkali embrio yang telah dihasilkan tidak ditransfer ke dalam uterus sehingga seseorang yang memiliki "kelebihan" embrio tersebut dihadapkan pada 3 pilihan, yaitu menyumbangkan embrio ke pasangan infertil, menyumbangkannya untuk kegiatan penelitian, atau mendestruksi embrio itu sendiri<sup>20</sup>.

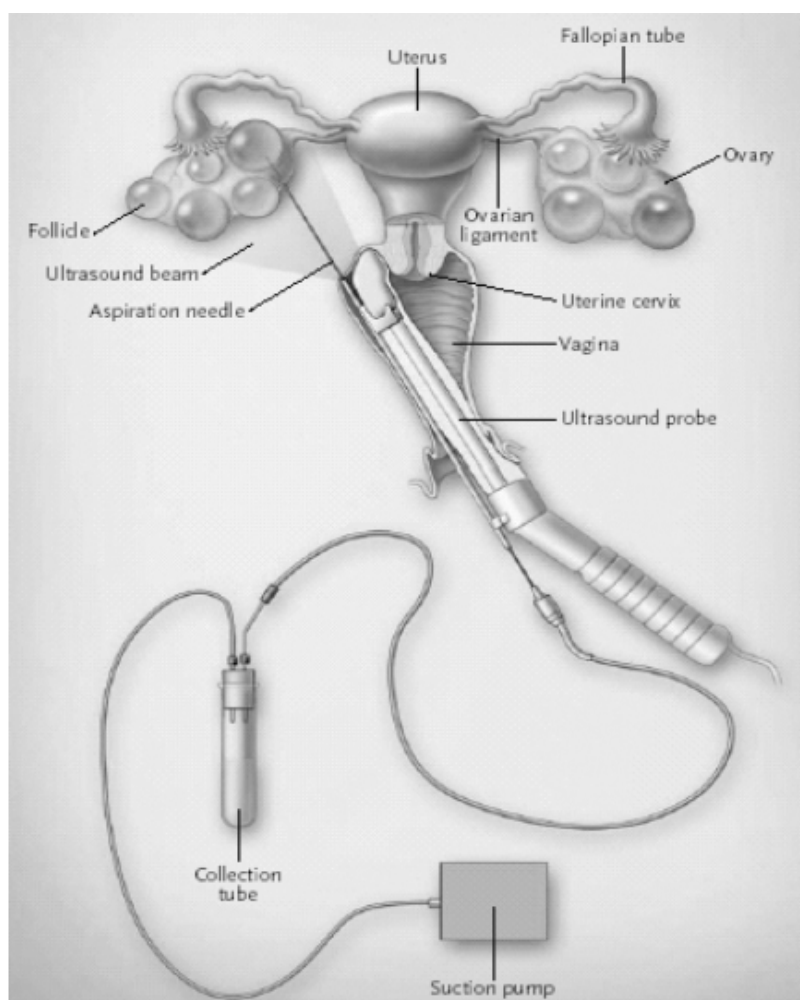
Berbagai batasan-batasan dalam penggunaan embrio untuk kegiatan penelitian

adalah bahwa wanita tidak seharusnya mengalami siklus ovulasi tambahan untuk mendapatkan embrio, juga diharuskan adanya batasan yang jelas antara wanita yang mengikuti program IVF dan wanita yang memang secara sukarela menyumbangkan sel telurnya untuk kepentingan penelitian SCNT<sup>21</sup>.

Pada umumnya, sel telur yang diisolasi diperoleh melalui proses stimulasi pertumbuhan folikel-folikel dalam ovarium. Proses ini meliputi proses injeksi hormon penstimulasi secara subkutan setiap hari selama 7-10 hari<sup>21</sup>. Penentuan lokasi sel telur yang akan dikumpulkan diperoleh dengan panduan alat USG transvaginal dan sel telur akan diisolasi melalui proses aspirasi sel telur dengan menggunakan jarum (Gambar 6).

### Melangkah menuju kloning terapeutik

Pada tahun 2007, Reuters melaporkan bahwa Alan Trouson dari Stem Cell Research Monash University berhasil memproduksi 2 grup sel punca embrionik dari embrio monyet. Sementara itu, Shoukhrat Mitalipov dari *Oregon National Primate Research Centre* di U.S juga berhasil memproduksi sel punca embrionik yang dilaku-



Gambar 6. Proses pengambilan sel telur donor dengan menggunakan panduan USG dan jarum aspirasi secara transvaginal<sup>21</sup>.

kan dengan menggunakan teknik SCNT. Beliau menggunakan sel kulit sebagai donor sel somatik yang berasal dari monyet resus jantan yang berumur 10 tahun, lalu ditransfer ke sel telur yang telah dienukleasi. Mitalipov juga telah berhasil mendiferensiasikan sel punca embrionik tersebut menjadi sel jantung dan neuron<sup>22</sup>.

Penemuan ini menunjukkan bahwa teknologi kloning terapeutik sudah sangat memungkinkan untuk dapat diaplikasikan kepada manusia. Keberhasilan Mitalipov membuat para ilmuwan semakin dekat kepada produksi sel punca embrionik manusia dengan menggunakan teknik SCNT sehingga mengurangi risiko terjadinya penolakan imun pada terapi sel punca. Para ilmuwan berharap bahwa nantinya *kloning terapeutik* (menggunakan sel punca embrionik manusia) akan dapat diaplikasikan ke berbagai penyakit, seperti *sclerosis*, *cardiac illnesses*, *spinal damage*, dan sebagainya.

#### Daftar Pustaka

1. U.S Department of Energy Office of Science. Cloning fact sheet. Human Genome Project Information. <http://www.ornl.gov/hgmis>
2. Kishigami S, Wakayama S, Thuan NV dkk. Production of cloned mice by somatic cell nuclear transfer. *Nat Protoc.* 2006;1(1):125-38.
3. Fischbach GD, Fischbach RL. Stem cells: science, policy, ethics. *J Clin Invest.* 2004;114(10):1364-70
4. Campbell KHS, McWhir J, Ritchie WA, Wilmut I. Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. *Nature.* 1996;380:64-6.
5. Wilmut I. Dolly's false legacy. *Time.* 1999;153(1):74, 76-77.
6. Wilmut I. Dolly ~ her life and legacy. *Cloning Stem Cells.* 2003;5(2):99-100
7. Mullins LJ, Wilmut I, Mullins JJ. Nuclear transfer in rodents. *J Physiol.* 2004; 554(1):4-12.
8. Solter D. Imprinting. *Int J Dev Biol.* 1998;42(7):951-4.
9. Tamashiro KLK, Wakayama T, Akutsu H dkk. Cloned mice have an obese phenotype not transmitted to their offspring. *Nat Med.* 2002;8:262-7.
10. Tanaka S, Oda M, Toyoshima Y dkk. Placentomegaly in cloned mouse concepti caused by expansion of the spongiotrophoblast layer. *Biol Reprod.* 2001;65(6):1813-21.
11. Ogonuki N, Inoue K, Yamamoto Y dkk. Early death of mice cloned from somatic cells. *Nat Genet.* 2002;30(3):253-4.
12. Wilmut I, Beaujean N, de Sousa PA dkk Somatic cell nuclear transfer. *Nature.* 2002;419:583-6.
13. Virgi S. Dasar-dasar stem cell dan potensi aplikasinya dalam ilmu kedokteran. *Cermin Dunia Kedokt.* 2006;153:21-25.
14. Setiawan B. Aplikasi terapeutik sel punca embrionik pada berbagai penyakit degeneratif. *Cermin Dunia Kedokt.* 2006;153:5-8.
15. Hoffman LM, Carpenter MK. Characterization and culture of human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol.* 2005;23(6):699-708
16. Lanza RP, Cibelli JB, West MD. Human therapeutic cloning. *Nat Med.* 1999;5(9):975-7.
17. Mollard R. Somatic Cell Nuclear Transfer (SCNT) or therapeutic cloning. ISSCR. [http://www.isscr.org/public/therapeutic\\_cloning.pdf](http://www.isscr.org/public/therapeutic_cloning.pdf)
18. Perry A. Progress in human somatic cell nuclear transfer. *N Engl J Med.* 2005; 353(1):87-8.
19. Snyder EY, Loring JF. Beyond fraud – stem cell research continues. *N Engl J Med.* 2006;354(4):322-4.
20. Byrne JA, Gurdon JB. Commentary on human cloning. *Differentiation.* 2002;69(4-5):154-7.
21. Steinbrook R. Egg donation and human embryonic stem cell research. *N Engl J Med.* 2006;354(4):324-6.
22. Taylor R. Scientists move closer to human therapeutic cloning. Reuters. <http://www.sciam.com>