



BIOTEKNOLOGI



—  **PENULIS**  —

**Andi Faridah Arsal, Ahmad Zil Fauzi, Angga Aditya
Permana, M. Noris, Risma Rasmani, Agus Putra AS,
Rosyid Ridlo Al-Hakim, Rina Hidayati Pratiwi,
Muh Taufiqurrahman, Analekta Tiara Perdana, Junaedi**

BIOTEKNOLOGI

**Andi Faridah Aرسال
Ahmad Zil Fauzi
Angga Aditya Permana
M. Noris
Risma Rasmani
Agus Putra AS
Rosyid Ridlo Al-Hakim
Rina Hidayati Pratiwi
Muh Taufiqurrahman
Analekta Tiara Perdana
Junaedi**



PT GLOBAL EKSEKUTIF TEKNOLOGI

BIOTEKNOLOGI

Penulis :

Andi Faridah Arsal
Ahmad Zil Fauzi
Angga Aditya Permana
M. Noris
Risma Rasmani
Agus Putra AS
Rosyid Ridlo Al-Hakim
Rina Hidayati Pratiwi
Muh Taufiqurrahman
Analekta Tiara Perdana
Junaedi

ISBN : 978-623-198-154-7

Editor : Dr. Neila Sulung, N.S., S.Pd., M.Kes.
Mila Sari, M.Si.

Penyunting: Tri Putri Wahyuni, S.Pd.

Desain Sampul dan Tata Letak : Atyka Trianisa, S.Pd.

Penerbit : PT GLOBAL EKSEKUTIF TEKNOLOGI
Anggota IKAPI No. 033/SBA/2022

Redaksi :

Jl. Pasir Sebelah No. 30 RT 002 RW 001
Kelurahan Pasie Nan Tigo Kecamatan Koto Tangah
Padang Sumatera Barat
Website : www.globaleksekutifteknologi.co.id
Email : globaleksekutifteknologi@gmail.com

Cetakan pertama, Maret 2023

Hak cipta dilindungi undang-undang
Dilarang memperbanyak karya tulis ini dalam bentuk
dan dengan cara apapun tanpa izin tertulis dari penerbit.

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan puji syukur kehadirat Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayahNya, maka Penulisan Buku dengan judul Bioteknologi dapat diselesaikan. Buku ini berisikan bahasan tentang bioteknologi dan aplikasinya dalam berbagai bidang kehidupan, teknologi dna rekombinan, teknologi enzim, manfaat mikrobioorganisme sebagai model dan sarana aplikasi bioteknologi, produk-produk bioteknologi yang menggunakan system mikroorganisme, prinsip dasar pemuliaan tanaman dengan teknik kultur jaringan, bioteknologi akuatik, bioteknologi hewan, dna fingerprinting, bioteknologi medis, pengaturan etik dalam bioteknologi. Bioteknologi telah berkembang pesat khususnya bioteknologi modern. Bioteknologi modern telah mampu melakukan berbagai proses penting dalam dunia industri di beberapa bidang antara lain bidang kesehatan, pangan, pertanian, industri lainnya serta lingkungan.

Buku ini masih banyak kekurangan dalam penyusunannya. Oleh karena itu, kami sangat mengharapkan kritik dan saran demi perbaikan dan kesempurnaan buku ini selanjutnya. Kami mengucapkan terima kasih kepada berbagai pihak yang telah membantu dalam proses penyelesaian Buku ini. Semoga Buku ini dapat menjadi sumber referensi dan literatur yang mudah dipahami.

Padang, Maret 2023

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	ii
DAFTAR TABEL.....	iii
DAFTAR GAMBAR.....	v
BAB 1 BIOTEKNOLOGI DAN APLIKASINYA DALAM BERBAGAI BIDANG KEHIDUPAN.....	1
1.1 Sejarah dan Perkembangan Bioteknologi.....	1
1.2 Tanaman Transgenik	6
1.3 Hewan transgenik.....	8
1.4 Bioreaktor	10
1.5 Terapi Gen.....	16
DAFTAR PUSTAKA.....	23
BAB 2 TEKNOLOGI DNA REKOMBINAN.....	25
2.1 Pendahuluan	25
2.2 Tinjauan Teknologi DNA Rekombinan.....	26
2.2.1 Pemanfaatan Teknologi DNA Rekombinan.....	27
2.3 Metode DNA Rekombinan.....	34
2.4 Tahapan Teknologi DNA Rekombinan.	43
2.5 Tantangan Teknologi DNA Rekombinan.....	49
DAFTAR PUSTAKA.....	50
BAB 3 TEKNOLOGI ENZIM.....	53
3.1 Mengenal Enzim.....	53
3.2 Penerapan & Pemanfaatan Enzim.....	65
DAFTAR PUSTAKA.....	70
BAB 4 MANFAAT MIKROBIOORGANISME SEBAGAI MODEL DAN SARANA APLIKASI BIOTEKNOLOGI	73
4.1 Pendahuluan	73
4.2 Bakteri Sebagai Organisme Model	74
4.2.1 <i>Escherichia coli</i>	75
4.2.2 <i>Bacillus subtilis</i>	76
4.2.3 <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	76
4.2.4 <i>Streptomyces</i>	77

4.2.5 <i>Cyanobacteria</i>	78
4.3 Masa Depan Mikroorganisme Model	79
DAFTAR PUSTAKA	86
 BAB 5 PRODUK-PRODUK BIOTEKNOLOGI YANG	
MENGUNAKAN SYSTEM MIKROORGANISME	87
5.1 Pendahuluan	87
5.2 Mikrobiologi Teknologi Pangan	87
5.3 Mikrobiologi Tekhnologi Pertanian	90
5.4 Mikrobiologi Teknologi Kimia dan Bahan Bakar	94
5.5 Mikrobiologi Teknologi Lingkungan	96
5.6 Mikrobiologi Teknologi Medis	98
5.6 Mikrobiologi Teknologi Material	101
DAFTAR PUSTAKA	104
 BAB 6 PRINSIP DASAR PEMULIAAN TANAMAN DENGAN	
TEKNIK KULTUR JARINGAN	111
6.1 Pemuliaan Tanaman	111
6.1.1 Dasar-Dasar Pemuliaan Tanaman	111
6.1.2 Pengertian Pemuliaan Tanaman	113
6.1.2 Tujuan Pemuliaan Tanaman	115
6.1.3 Prosedur Teknik Pemuliaan Tanaman	115
6.1.4 Peranan Pemuliaan Tanaman	116
6.2 Kultur Jaringan	116
6.2.1 Tahapan Kultur Jaringan	118
6.2.2 Macam-macam Kultur Jaringan	119
6.2.2 Pemanfaatan Teknik Kultur Jaringan	120
DAFTAR PUSTAKA	123
 BAB 7 BIOTEKNOLOGI AKUATIK	
7.1 Pengertian Bioteknologi	125
7.2 Bioteknologi Akuatik	125
7.3 Bioteknologi Akuakultur	128
7.4 Pembenihan Secara Selektif	132
7.5 Manipulasi Bentuk Kromosom	132
7.6 <i>Monosex Cultivation</i>	133
7.7 Hibridasi	134

7.8 Peningkatan Teknologi	134
7.9 Teknologi Transgenik	134
7.10 Bioteknologi Pengolahan Hasil Perikanan.....	135
DAFTAR PUSTAKA	137
 BAB 8 BIOTEKNOLOGI HEWAN	 139
8.1 Pendahuluan	139
8.2 Kloning.....	139
8.3 Transgenik	141
8.4 Inseminasi Buatan (IB)	142
8.5 Fertilisasi In-Vitro (FIV).....	143
8.6 Transfer Embrio (TE).....	143
8.7 Spermatozoa Seksing	145
8.8 Kriopreservasi.....	145
8.9 Bioteknologi Veteriner	146
8.10 Pengayaan Pakan.....	147
8.11 Keuntungan dan Kerugian Bioteknologi Hewan.....	147
8.11.1 Keuntungan Bioteknologi Hewan	147
8.11.2 Kerugian Bioteknologi Hewan.....	148
DAFTAR PUSTAKA	150
 BAB 9 DNA FINGERPRINTING	 157
9.1 Pendahuluan	157
9.2 DNA Fingerprinting.....	158
9.3 Metode untuk melakukan DNA fingerprinting	160
9.4 Tahapan proses DNA Fingerprinting.....	163
9.5 Aplikasi DNA Fingerprinting.....	165
DAFTAR PUSTAKA	168
 BAB 10 BIOTEKNOLOGI MEDIS	 169
10.1 Pendahuluan	169
10.3 Rekombinan Insulin	172
10.4 Vaksin.....	174
10.5 Antibodi Monoklonal.....	175
10.6 Rekayasa Genetika.....	178
DAFTAR PUSTAKA	181

BAB 11 PENGATURAN ETIK DALAM BIOTEKNOLOGI.....	183
11.1 Pendahuluan.....	183
11.2 Isu Etika dalam Bioteknologi.....	184
11.2.1 Isu Sosio-ekonomi.....	185
11.2.2 Isu Budaya.....	187
11.2.3 Isu Lingkungan	188
11.2.3 Isu Agama.....	191
11.3 Bioetika.....	192
11.4 Pengaturan Etik dalam Bioteknologi	193
DAFTAR PUSTAKA.....	198

BAB 12 CULTURE MEAT, ANCAMAN ATAU SOLUSI	
PANGAN HEWANI MASA DEPAN	199
12.1 Pendahuluan.....	199
12.2 Culture Meat.....	201
12.2.1 Manfaat Daging kultur	201
12.2.2 Daging Kultur VS Daging Konvensional	203
12.2.3 Sejarah Culture Meat	205
12.2.4 Perkembangan Industri Culture Meat.....	206
12.2.5 Proses Produksi Culture Meat.....	208
12.2.6 Tantangan Teknis untuk Memproduksi Daging Budidaya.....	212
12.2.7 Tantangan Regulasi dan Sosial untuk Daging Culture	226
12.2.8 Lima Alasan Utama Kebutuhan Daging Culture Meat	229
12.2.9 Tanggapan terkait Culture Meat.....	232
12.2.10 Tanggapan Teknis dalam Produksi Culture Meat	234
12.2.11 Aspek Sensorik dan Gizi Daging Culture Meat.....	235
12.2.12 Keamanan Pangan pada Daging Culture Meat.....	237
12.2.13 Tanggapan Daging Culture Terkait Kehalalan Menurut Pandangan Islam	238
12.3 Kesimpulan.....	238
DAFTAR PUSTAKA	240
BIODATA PENULIS	

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1. Klasifikasi Enzim Berdasarkan Tipe Reaksi	56
Tabel 3.2. Pengelompokan Enzim sesuai Kelas.....	57

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1 Kucing mengkilap hasil rekayasa	10
Gambar 3.1. Rangkaian proses peran enzim menghambat sintesis suatu jenis protein tertentu	60
Gambar 3.2. Tahapan rangkaian replikasi	61
Gambar 3.3. Kelompok Enzim yang berperan selama proses replikasi berlangsung.....	61
Gambar 3.4. Tahapan Transkripsi yang dilakukan oleh enzim RNA Polymerase	62
Gambar 3.5. Ilustrasi Keseimbangan pada lingkungan eksternal dan internal makhluk hidup yang diwakili oleh sistem fisiologi tubuh manusia.....	64
Gambar 3.6. Larangan merusak keseimbangan secara tak langsung mencakup pada perintah memelihara kelestarian lingkungan serta menjaga kesehatan tubuh.....	65
Gambar 4.1. Struktur beberapa bakteri yang digunakan sebagai organisme model, (a) E. coli, (b) Bacillus subtilis, dan (c) Nostoc.	77
Gambar 4.2. Kultur Streptomyces coelicolor	79
Gambar 5.1. Mikrobiologi Teknologi dalam Bidang Pertanian...	92
Gambar 5.2. mikrobiologi teknologi kimia dan bahan bakar	95
Gambar 5.3. Sample Produksi Berbagai Bahan Kimia	96
Gambar 5.4. Mikrobiologi Teknologi Lingkungan	97
Gambar 5.5. Mikrobiologi Teknologi Medis untuk mengendali- kan penyebaran vektor parasit seperti genus Aedes dan Anopheles.....	99
Gambar 5.6. Produksi Jenis Vaksin Genus Aedes dan Anopheles.....	101
Gambar 12.1. Produksi daging sapi satu kilogram akan menghasilkan 300 kilogram CO ₂ , memerlukan 15 ribu liter air dan membutuhkan 40m ² lahan untuk hijauan pakan ternak.....	204

Gambar 12.2. Distribusi geografis perusahaan daging Culture. Lima puluh delapan perusahaan di bidang daging/ikan culture	207
Gambar 12.3. Tahapan Produksi Daging Culture Meat	208
Gambar 12.4. Bioprinting 3D dalam teknik daging kultur in vitro	211
Gambar 12.5. Diagram alir produksi daging kultur	214
Gambar 12.6. Dampak sensitivitas geser yang dirasakan sel hewan pada desain dan operasi reactor	218
Gambar 12.7. Diagram alir proses dengan parameter operasi utama untuk reaktor produksi daging budidaya skala besar potensial	219
Gambar 12.8. Bioteknologi sintetik berbasis biologi diterapkan pada produksi dan optimalisasi daging kultur	222

BAB 1

BIOTEKNOLOGI DAN APLIKASINYA DALAM BERBAGAI BIDANG KEHIDUPAN

Oleh Andi Faridah Aرسال

1.1 Sejarah dan Perkembangan Bioteknologi

Potensi tanpa batas yang dimiliki manusia dan keinginan untuk selalu mendapatkan yang terbaik dalam memecahkan semua masalah kehidupan membuat manusia mampu untuk memanipulasi segala hal. Seperti halnya yang dialami oleh para ilmuwan di bidang biologi ketika mereka dihadapkan pada masalah kesehatan dan biologi. Para ilmuwan berusaha menemukan suatu solusi untuk menyelesaikan masalah-masalah yang ada. Berusaha memanipulasi dengan menggabungkan sifat-sifat positif dari makhluk hidup yang satu ke makhluk hidup yang lainnya dengan harapan memperoleh hasil sifat-sifat unggul yang diinginkan. Percobaan-percobaan yang mereka lakukan akhirnya menemukan teknik yang dinamakan rekayasa genetika. Perkembangan di bidang rekayasa genetika terutama dengan ditemukannya alat instrumentasi dan didukung oleh perkembangan di bidang ilmu biologi molekuler. Sejak itu dimulailah revolusi life sciences hingga saat ini. Selanjutnya Ilmu biologi terus dikaji secara gigih terutama pada aras molekul dalam lingkup biologi molekuler. Dengan pengkajian ilmu biologi molekuler yang

terus berkembang dan kemajuan masing-masing disiplin ilmu yang berkaitan, menghasilkan revolusi industri yang sangat memukau yaitu Bioteknologi.

Ilmu biologi molekuler disokong oleh paduan dari bidang-bidang ilmu yang dulunya terpisah. Bidang-bidang ilmu tersebut adalah ilmu biokimia, biologi sel, dan genetika. Ketiga ilmu tersebut masing-masing berdiri sendiri dengan mengalami perkembangan pesat, namun saat ini ketiganya terjalin tidak dapat dipisahkan dan membentuk bidang ilmu yang disebut Biologi molekuler.

Masing-masing bidang ilmu yang menyokong perkembangan biologi molekuler mengalami perkembangan pesat. Perkembangan ilmu biokimia oleh Wohler pada tahun 1828 yang menemukan bahwa urea yang merupakan substansi hayati dapat disintesis. Urea dapat disintesis di laboratorium dari senyawa anorganik. Kemudian diketahuinya pengaturan ekspresi gen pada eukariot pada tahun delapan puluhan. Setelah itu perkembangan di bidang ilmu biologi sel yang diawali oleh penemuan Van Leeuwenhook pada abad 16 yakni pada tahun 1674. Van Leeuwenhook menamakan apa yang dilihat di bawah mikroskop sederhana sebagai “animalcules”, dan pada waktu hampir bersamaan Robert Hooke telah memberikan nama sel untuk ruang-ruang irisan gabus sampai penemuan struktur protein dengan X-ray diffraction pada tahun 1970. Adapun di bidang ilmu Genetika juga mengalami perkembangan pesat. Genetika dapat dikelompokkan dalam dua cabang atau kelompok besar yakni ilmu murni dan ilmu terapan. Cabang-cabang ilmu tersebut terbentuk terutama sebagai akibat pendalaman terhadap suatu aspek tertentu dari objek kajiannya. Cabang-cabang murni genetika yang berkembang seperti genetika molekuler, genetika sel

(sitogenetika), genetika populasi, genetika kuantitatif, genetika perkembangan. Sementara cabang-cabang terapan genetika yang berkembang seperti genetika kedokteran, ilmu pemuliaan, rekayasa genetika atau rekayasa gen. Setelah penemuan ulang karya Mendel, genetika berkembang sangat pesat. Perkembangan genetika sering kali menjadi contoh klasik mengenai penggunaan metode ilmiah dalam ilmu pengetahuan atau sains.

Bioteknologi yang merupakan ilmu terapan tidak secara langsung merupakan cabang genetika tetapi sangat terkait dengan perkembangan di bidang genetika. Sebenarnya bioteknologi bukan merupakan hal baru bagi peradaban manusia, sejak lama mikroba telah dimanfaatkan untuk mengubah bahan dasar menjadi bahan yang bernilai ekonomis dalam taraf sederhana atau tradisional. Cara-cara tradisional dalam bioteknologi yang dikategorikan sebagai bioteknologi kuno bersifat sederhana dengan menggunakan mikroba alami. Pada mulanya penggunaan mikroba bersifat untung-untungan belum berdasarkan ilmiah. Perkembangan bioteknologi selanjutnya beriringan dengan perkembangan biologi molekuler. Perkembangan tersebut menghasilkan pengelompokan jenis bioteknologi berdasarkan produk dan prosesnya. Pengelompokan dibagi atas tiga yaitu bioteknologi kuno, bioteknologi konvensional dan bioteknologi modern. Ada perbedaan yang mencolok antara bioteknologi kuno dan bioteknologi modern. Bioteknologi kuno berfokus pada cara seleksi bahan, selain itu mikroba yang digunakan dan modifikasi lingkungan. Cara yang sudah dilakukan sejak lama tersebut untuk menghasilkan produk optimal. Contoh-contoh produk hasil bioteknologi kuno misalnya tempe, tape, kecap, roti, tuak, tauco, dan pengomposan sampah.

Sementara bioteknologi konvensional berbeda dengan bioteknologi kuno dalam hal proses yang lebih maju dalam taraf seluler. Pengelompokan ke dalam Bioteknologi konvensional berdasarkan proses dalam menghasilkan suatu produk secara invitro. Proses-proses yang digunakan telah lebih maju dan modern bila dibandingkan dengan bioteknologi kuno. Selama proses secara invitro tidak ada tahapan mengutak-atik materi genetis, sehingga pengelompokannya tetap dibedakan dengan bioteknologi modern.

Bioteknologi modern memanfaatkan keterampilan manusia dalam melakukan manipulasi pada aras molekuler makhluk hidup. Berdasarkan prinsip dasar pemahaman biologi dalam aras molekul, bahwa seluruh makhluk hidup sama dalam tingkatan atau level molekul. Pada level tersebut tak ada lagi perbedaan antara seluruh jenis makhluk hidup yang ada. Tak ada batasan dan perbedaan baik antara hewan, tumbuhan, vertebrata, anvertebrata, bahkan dengan bakteri dan virus sekalipun. Seluruh makhluk hidup memiliki kesamaan molekuler. Memiliki kesamaan molekul DNA, yang disusun oleh pasangan basa purin dan pirimidin. Berdasarkan pengetahuan prinsip dasar molekuler tersebut mudah untuk melakukan suatu manipulasi untuk mewujudkan suatu jenis makhluk hidup yang diharapkan.

Manipulasi DNA atau rekayasa genetika yang dilakukan pada makhluk hidup bertujuan untuk menghasilkan suatu barang atau jasa yang diinginkan. Bioteknologi modern menghasilkan organisme hasil rekayasa genetika melalui perlakuan yang mengubah landasan penentu kemampuan hidup, yaitu mengutak-atik dan mengubah tatanan gen yang menentukan sifat spesifik suatu organisme. Hasil-hasil produk bioteknologi modern diperuntukkan demi manfaat yang

sebesar-besarnya bagi kesejahteraan umat manusia, namun proses yang rumit dan tingkat keberhasilan yang kecil menyebabkan menyerap biaya sangat tinggi atau padat modal.

Penemuan-penemuan yang paling menentukan dalam perkembangan awal bioteknologi modern adalah dimulai pada tahun 1970. Enzim restriksi ditemukan pada bakteri *Haemophilus influenzae*. Penemuan tersebut memungkinkan dilakukannya pemotongan dan penyambungan DNA antara makhluk hidup berbeda. Tahun 1977 Sekuensing DNA pertama kali oleh Fred Sanger, Walter Gilbert, dan Allan Maxam. Tahun 1983 Perbanyakan (amplifikasi) DNA dapat dilakukan dengan mudah setelah Kary Banks Mullis menemukan Reaksi Berantai Polymerase (PCR). Tahun 1985 Alec Jeffreys menemukan teknik sidik jari genetik. Tahun 1989 Sekuensing pertama kali terhadap gen manusia pengkode protein CFTR penyebab cystic fibrosis. Tahun 1998 Hasil sekuensing pertama terhadap eukariota multiselular, nematoda *Caenorhabditis elegans*, diumumkan. Tahun 2001 Draf awal urutan genom manusia dirilis bersamaan dengan dimulainya Human Genome Project. Kemudian pada tahun 2003 Proyek genom manusia menyelesaikan 99% pekerjaannya pada tanggal 14 april dengan akurasi 99,99%.

Bioteknologi telah berkembang pesat khususnya bioteknologi modern. Bioteknologi modern telah mampu melakukan berbagai proses penting dalam dunia industri di beberapa bidang antara lain bidang kesehatan, pangan, pertanian, industri lainnya serta lingkungan. Di bidang kesehatan, penerapan bioteknologi atau kegiatan rekayasa genetika telah menghasilkan produk-produk penting berupa senyawa-senyawa yang mempunyai fungsi terapeutik seperti antibiotik, vaksin, hormon, kit diagnostika atau memperbaiki

gen rusak atau tidak fungsional (terapi gen) dan produk farmasi lainnya. Dengan penerapan genomik, tanaman dan hewan dirancang menjadi mesin produksi (bioreaktor) bagi komoditi penting seperti obat, vaksin, vitamin, hormon, dan senyawa protein aktif lainnya. Di bidang lingkungan, bioteknologi menciptakan mikroba baru yang mampu mengurai limbah atau tumpahan minyak di laut, mengurai kandungan logam berat dari tanah untuk keperluan penyuburan lahan. Dalam bidang pertanian, rekayasa genetik bertujuan menghasilkan tanaman budidaya baru

1.2 Tanaman Transgenik

Dewasa ini ada lebih dari ratusan produk bioteknologi modern, dan lebih dari seratus produk pertanian pangan telah dipasarkan. Jumlah tanaman transgenik diprediksi meningkat cepat dalam beberapa tahun terakhir ini.

Beberapa sifat yang banyak dikembangkan dalam pembuatan tanaman transgenik untuk meningkatkan kualitas dan kuantitas produk pertanian misalnya (1) gen resisten terhadap hama, penyakit, dan herbisida, (2) gen kandungan protein tinggi, (3) gen resisten terhadap stres lingkungan seperti kadar aluminium tinggi ataupun kekeringan dan (4) gen yang mengekspresikan suatu ciri fenotip yang sangat menarik seperti warna dan bentuk bunga, bentuk daun dan pohon yang eksotik.

Transgen umumnya diambil dari organisme yang memiliki sifat unggul tertentu. Misalnya pada proses membuat jagung Bt tahan hama, pakar bioteknologi memanfaatkan gen bakteri tanah *Bacillus thuringiensis* (Bt) penghasil racun mematikan bagi hama tertentu. Bt merupakan bakteri tanah alami yang biasa digunakan sebagai pestisida biologi sejak awal

1960. Gen toksin insektisida dari Bt ini disisipkan ke genom jagung, sehingga tanaman resipien juga memiliki sifat toksis bagi hama. Ulat atau hama penggerek jagung Bt akan mati. Bahkan kupu-kupu (Lepidoptera) pengisap nektar bunga jagung bisa ikut mati pula. Begitupun racun pada kapas Bt dapat membunuh bollworm, hama perusak tanaman kapas. Tahun 1996, 3 jenis tanaman Bt yakni jagung, kapas, dan kentang ditanam secara komersial untuk pertama kalinya di AS. Luas lahan ketiganya diperkirakan 2 juta acres dengan mayoritas tanaman kapas. Setelah itu tanaman Bt lainnya diujicobakan di AS, termasuk apel, canola, buah beri, terong, poplar, padi, cemara, tomat dan kenari. Selain kentang Bt tahan hama penggerek adapula kentang Bt tahan virus yang disisipi Bt tahan potato leafroll virus dan potato virus Y (mosaic).

Transfer gen pada tanaman transgenik dilakukan dengan menggunakan vektor plasmid, misal plasmid *Agrobacterium tumefaciens* pada tanaman bunga matahari yang memperoleh gen dari phaseolin (*Phaseolus vulgaris*). Tanaman padi yang memperoleh gen penyandi phytoene synthase (psy) dari tanaman Daffodil (*Narcissus pseudonarcissus*) dan gen penyandi phytoene desaturase (crtl) dari bakteri *Erwinia uredovora*. Penyisipan kedua gen ini bertujuan dalam pembentukan provitamin A di dalam endosperma padi dan menjadi harapan untuk dapat membantu mengatasi masalah defisiensi vitamin A bagi berjuta-juta penduduk dunia.

Menurut Clive James dari International Service untuk Acquisition of Agri-biotech Applications (ISAAA), tanaman transgenik mulai ditanam secara komersial di Cina yaitu jenis tembakau tahun 1992. Pada tahun 1994 tomat lambat matang (awet segar). Sejak itu hasil-hasil berbagai jenis tanaman GM (Genetically Modified) melonjak beriringan dengan makin

meluasnya areal penanaman. Tahun 2000 sampai 11%(setara 4,3 juta ha), dan areal tanaman GM seluruhnya 44,2 juta ha. (Scientific American, April 2001)

Jenis tanaman transgenik lainnya seperti Tanaman pakan ternak alfalfa Bt dirancang tahan potato leafhopper. Varietas labu tahan cucumber mosaic virus. Tanaman yang direkayasa tahan herbisida (glyphosate) yaitu gandum, gula bit, selada dan kentang. Pengembangan tanaman transgenik lainnya dengan tujuan sebagai berikut:

1. Pengembangan Tanaman Resisten terhadap Hama dan Penyakit
2. Pengembangan Tanaman Resisten terhadap Herbisida
3. Pengembangan Efisiensi Fotosintesis pada Tanaman Pangan
4. Pengembangan Tanaman untuk Lahan Kritis
5. Pengembangan Kultivar Resisten terhadap Suhu Ekstrem
6. Pengembangan Tanaman non-legum yang mampu melakukan Fiksasi N₂.
7. Pengembangan tanaman pangan lebih berkualitas.

1.3 Hewan transgenik

Hewan transgenik adalah hewan yang telah direkayasa genetiknya sehingga menghasilkan seekor hewan dengan performans seperti yang diharapkan. Ini dilakukan dengan cara pemindahan fragmen DNA yang mengandung kode genetik tertentu ke dalam sel telur yang mengalami pembuahan.

Ikan zebra (*Brachydanio rerio*) dikembangkan oleh Zhiyuang Gong dari National university of Singapura untuk membantu menanggulangi polusi lingkungan, dirancang sebagai detektor adanya racun-racun yang ada di alam. Ikan yang kini disebut Glofish biasanya berwarna perak dengan

garis-garis hitam keunguan. Dengan rekayasa genetis, ikan ini dapat memendarkan warna hijau atau merah dari tubuhnya. Warna merah atau hijau yang bersinar itu diambil dari warna ubur-ubur yang dimasukkan ke telur-telur ikan zebra. Dengan gen ubur-ubur itu, tubuh ikan zebra dapat memancarkan cahaya. Kemudian agar bisa digunakan sebagai indikator polusi ditambahkan gen pemicu yang akan mengaktifkan pancaran cahaya pada ikan bila ikan berada dalam lingkungan yang mengandung zat tertentu.

Telah banyak dilakukan pengubahan susunan gen embrio kambing, babi, dan tikus dengan gen manusia sehingga dapat diproduksi protein atau obat-obatan untuk penyembuhan penyakit kanker dan yang lain. Genzyme Transgenics Corp memelihara kambing yang menghasilkan air susu yang mengandung protein ant clotting manusia. Protein ant clotting sangat dibutuhkan pada pasien yang mengalami operasi jantung. Telah dihasilkan pula sapi dengan kemampuan menghasilkan susu yang sudah sama dengan ASI. Sapi tersebut salah satunya dinamai Rosie yang air susunya berisi protein manusia alphasalactalbumin. Protein ini berisi semua asam amino yang dibutuhkan bayi yang baru lahir. Kemudian protein spesifik dari air susu Rosie tersebut dimurnikan dan dijual dalam bentuk bubuk (powder) untuk selanjutnya diperuntukkan bayi yang lahir premature yang belum dapat disusui ibunya. Pabrik farmasi lain misalnya Alexion bekerja untuk mendapatkan babi yang mempunyai jantung dan ginjal yang tidak akan ditolak jika ditransplantasikan pada manusia. Di negeri Belanda juga telah dihasilkan kelinci yang dapat memproduksi Alphasalactalbumin yang dibutuhkan oleh penderita penyakit tertentu.



Gambar 1.1 Kucing mengkilap hasil rekayasa.

Kucing tahan terhadap Virus Immunodefisiensi Kucing

Sumber: <https://wikiejemplos.com/id/animales-transgenicos/>

1.4 Bioreaktor

Proses yang berkaitan dengan bioreaktor adalah dengan memanfaatkan organisme makhluk hidup untuk memproduksi protein terapeutik atau bahan obat-obatan, atau sebagai alat yang mampu melakukan bioproses seperti fermenter. Pada awalnya produksi protein terapeutik rekombinan melalui rekayasa genetika dilakukan pada bakteri melalui rekayasa genetika diawali oleh Cohen dan Boyer pada tahun 1975. Bioreaktor didefinisikan pula sebagai sebuah peralatan yang menjamin kondisi yang dibutuhkan oleh mikroorganisme misalnya ragi dan bakteri untuk melakukan reproduksi. Kini istilah bioreaktor juga telah melekat pada organisme tingkat tinggi, seperti ikan termasuk telur ikan, serangga, babi, sapi, dan lain-lain yang bisa memproduksi protein asing. Protein yang telah diproduksi dengan tujuan terapi, dan beberapa sistem (organisme yang digunakan) seperti disebutkan di atas telah diteliti untuk memperbaiki tingkat produksinya. Setiap sistem tersebut memiliki kelebihan dan juga kelemahan. Bakteri dapat ditumbuhkan dengan mudah dalam berbagai

skala produksi, tetapi folding protein target sering tidak tepat. Meskipun serangga bisa melakukan modifikasi lanjut setelah proses translasi (post-translational modification, PTM) dan menghasilkan protein rekombinan yang relatif banyak, tetapi memiliki pola glikosilasi yang khas yang berbeda dengan hewan bertulang belakang (vertebrata), sehingga protein rekombinan mungkin tidak berfungsi secara penuh. Sementara itu, sel mamalia dapat melakukan PTM walaupun prosesnya kompleks, tetapi penggunaan sistem ini relatif mahal dan secara umum tidak bisa memproduksi protein dalam jumlah yang banyak. Dengan demikian diperlukan pemilihan sistem yang optimal untuk setiap target protein. Berikut adalah contoh-contoh bioreaktor yang telah dilakukan selama ini;

A. *Escherischia coli* sebagai bioreaktor

Escherischia coli sebagai bioreaktor dalam produksi vaksin hepatitis, insulin dan produksi hormon pertumbuhan manusia (HGH=*Human Growth Hormone*). HGH adalah suatu rantai polipeptida tunggal yang mempunyai 191 asam amino dan diproduksi dalam kelenjar pituitari. Hormon pertumbuhan mengendalikan pertumbuhan tubuh, tubuh kecil orang kerdil disebabkan karena kekurangan hormon pertumbuhan. Gen pembentuk hormon tumbuh manusia dipindahkan ke sel prokariotik seperti *E.coli* untuk kemudian dipelihara dalam suatu medium untuk menghasilkan hormon HGH seperti layaknya “fermentasi” alkohol. Dengan demikian HGH dapat dihasilkan dalam jumlah besar-besaran dengan biaya yang jauh lebih murah. Perusahaan Swedia Kabri Vitrum bekerja sama dengan perusahaan Amerika Genentech telah berhasil melakukan produksi HGH dengan tangki sebesar 450 liter dapat dihasilkan HGH yang jumlahnya ekivalen

dengan jumlah HGH yang diperoleh dari 60.000 kelenjar pituitari hewan.

B. Molecular Farming

Molecular Farming (pertanian molekuler) yaitu tanaman digunakan sebagai wahana untuk memproduksi protein yang memiliki nilai industri seperti enzim, atau bahan obat-obatan/pengobatan (terapeutik) melalui teknologi transgenik; Produksi **human recombinant Erythropoietin** (hEPO) oleh tim dari Kyoto University menggunakan kultur sel tembakau pada tahun 1995 dan dipatenkan di Jepang oleh Snow Brand Milk Products Co (paten nomor JP6153930). EPO adalah sitokina utama yang mengatur fisiologi dari peredaran sel darah merah. EPO digunakan untuk pengobatan penyakit anemia karena berfungsi untuk menstimulasi pembuatan sel darah merah baru. ProdiGene Inc. of College station, Texas, menjadi perusahaan pertama yang berhasil memodifikasi tanaman untuk menghasilkan protein tertentu yang berfungsi sebagai obat. Produknya adalah trypsin, insulin, dan obat penting lainnya pada jagung. Para peneliti sedang mengujinya pada kentang, tomat, dan wortel untuk menghasilkan vaksin hepatitis B. Para peneliti tersebut memodifikasi tomat, bayam dan melon untuk menghasilkan vaksin rabies. Tomat yang diuji tersebut telah melewati tahap awal pengujian sebagai vaksin untuk virus syncytal pernafasan yang mengakibatkan penyakit pada bayi dan orang dewasa. Kedelai Biotek muncul menjadi obat untuk penyakit herpes, sementara sawi sedang diuji untuk perawatan hepatitis B dan C. Sebuah tim ilmuwan dari Purdue University dan Departemen

Pertanian Amerika Serikat (USDA) telah mengembangkan tomat yang tiga setengah kali lebih banyak mengandung lycopene dan antioxidant untuk melawan kanker dibandingkan varietas-varietas tomat yang ada sekarang ini. Saat mengembangkan tomat untuk makanan yang memiliki kualitas lebih tinggi dan kematangan yang dapat ditunda, tim ini juga menemukan bahwa tomat tersebut memiliki lebih banyak antioxidant dibandingkan varietas-varietas tomat yang ada sekarang.

C. Ternak transgenik.

Saat ini ada dua protein terapeutik yang diproduksi melalui ternak transgenik. Produk pertama adalah GTC's recombinant human antithrombin III yang telah berhasil melalui uji kelayakan hingga uji klinis pada manusia dan telah dipasarkan pada akhir tahun 1999. Produk kedua adalah alpha-antitrypsin.

D. Pemanfaatan ikan dengan menggunakan telur ikan sebagai bioreaktor untuk memproduksi bahan-bahan yang berguna untuk manusia. Terdapat beberapa keuntungan menggunakan telur ikan sebagai inang dibandingkan dengan sistem lainnya; jumlah telur ikan berlimpah, pembuahan (fertilisasi) eksternal dan hal ini memudahkan untuk mengintroduksi gen asing pengkode protein target, embrio ikan dapat dipelihara di air tanpa membutuhkan suplemen karena berkembang menggunakan nutrisi dari kuning telur, suatu gen asing pengkode protein target (transgen) mulai terekspresi pada fase mid-blastula embrio oleh karena itu protein rekombinan dapat diproduksi dalam waktu yang relatif singkat. Morita dan kolega melaporkan bahwa transfer gen dapat dilakukan dengan cepat ke telur ikan dalam jumlah yang banyak. Sebagai

contoh, mikroinjeksi transgen dapat dilakukan pada 60 buah telur dalam waktu 1 jam, dan waktu dibutuhkan untuk ekspresi protein hanya 4-5 hari. Juga, penggunaan metode transfer gen lainnya yaitu elektroforasi dan metode partikel-gun memungkinkan produksi embrio transgenik secara massal dan cepat.

Pemanfaatan telur ikan sebagai bioreaktor juga dapat menurunkan biaya produksi. Pada penelitian menggunakan ikan trout, tingkat produksi rikombinan hormon luteinizing hormone (LH) sama dengan yang diperoleh pada sistem sel mamalia. Tetapi, sistem sel mamalia membutuhkan media dan bahan suplemen yang harganya mahal, sehingga biaya produksinya menjadi mahal. Dapat memproduksi protein yang membutuhkan PTM, seperti yang dibuktikan dengan keberhasilan produksi hormon LH yang membutuhkan proses PTM untuk menjadi bioaktif.

Beberapa jenis ikan memiliki telur berukuran relatif besar, seperti ikan salmon. Telur ikan yang besar memiliki potensi memproduksi protein rikombinan dalam jumlah banyak, dan untuk ikan yang hidup pada suhu air rendah seperti ikan salmon (sekitar -10°C) dapat digunakan untuk memproduksi protein yang tidak stabil pada suhu 37°C . Dibandingkan dengan hewan peliharaan, telur ikan akan aman dalam hubungannya dengan kesehatan manusia. Tidak ada yang melaporkan bahwa ikan memiliki potensi sebagai inang patogen untuk manusia. Selain itu penggunaan hewan ternak, seperti babi dan sapi dibatasi oleh faktor agama di beberapa negara, sedangkan telur ikan tidak menjadi masalah untuk hal ini.

Protein terapeutika lain yang sudah diproduksi menggunakan bioreaktor telur ikan adalah alpha-antitripsin. Ikan Nila sebagai model bioreaktor dengan

tujuan memproduksi insulin. Secara anatomi ikan nila memiliki organ islet yang disebut Brockman bodies (BB). Bila organ ini ditransplantasi ke tikus yang menderita penyakit diabetes, inslet ikan nila mampu mempertahankan kadar glukosa pada tingkat normal dalam jangka waktu yang relatif lama dan memperlihatkan daya toleran terhadap glukosa. Telah diketahui bahwa sebagian besar ikan mengandung asam amino lisin atau arginin sebagai asam amino terminal pada rantai-B. Karena itu agar insulin yang diproduksi oleh ikan nila menjadi mirip dengan insulin manusia, dimodifikasi sehingga terbentuklah insulin humanized dengan kode “desThrB30”. Gen konstruksi insulin Humanized disuntikkan ke telur ikan nila dan ikan yang positif membawa transgen yang dipelihara hingga gonadnya matang disilangkan dengan ikan normal untuk membuat keturunan ikan pertama (F1). Ikan F1 yang membawa transgen digunakan untuk mendeteksi produksi insulin humanized. Insulin humanized yang berhasil dideteksi diserum. Sebagai kesimpulan bahwa ikan nila transgenik bisa menjadi sumber islet yang relatif murah untuk Xenotransplantasi islet klinis. Dibandingkan dengan hewan lain, ikan nila jauh lebih efisien dalam mengkonversi makanan menjadi jaringan tubuh dan memiliki siklus hidup yang lebih pendek.

1.5 Terapi Gen

Terapi gen adalah teknik untuk mengoreksi gen-gen yang cacat yang bertanggung jawab terhadap suatu penyakit. Pendekatan terapi gen yang berkembang adalah :

1. Menambahkan gen-gen normal ke dalam sel yang mengalami ketidaknormalan
2. Melenyapkan gen abnormal dengan gen normal dengan melakukan rekombinasi homolog
3. Mereparasi gen abnormal dengan cara mutasi balik selektif, sedemikian rupa sehingga akan mengembalikan fungsi normal gen tersebut
4. Mengendalikan regulasi ekspresi gen abnormal tersebut, lebih ke arah gagasan mencegah diekspresikannya gen-gen yang jelek atau abnormal, dikenal dengan istilah gene silencing. Gene silencing adalah suatu proses membungkam ekspresi gen yang pada mulanya diketahui melibatkan mekanisme pertahanan alami pada tanaman untuk melawan virus.

Prinsip-prinsip terapi gen adalah gen yang akan dipindahkan itu harus diletakkan ke dalam sel yang akan berfungsi normal dan efektif. Untuk gen hemofilia misalnya, harus diletakkan ke dalam sel yang akan menghantarkan protein faktor VIII dan atau faktor IX ke dalam peredaran darah. Saat ditransfer, gen tersebut harus berfungsi dalam sel dalam jangka waktu yang lama, demikian pula sel baru yang disebut transduced cell, harus pula bertahan lama. Program terapi gen terbagi dalam dua jenis. Pertama, pemindahan gen dilakukan di dalam tubuh pasien (in vivo transfer). Kedua, Pemindahan gen dilakukan di luar tubuh pasien (ex vivo transfer). Terapi gen in vivo transfer bersandarkan pada

kemampuan sel-sel untuk menyerap DNA. Melalui cara penyuntikan, sel-sel dapat menerima sesegera mungkin dengan pemetaan gen yang berfungsi normal. Sedangkan *ex vivo* transfer, gen yang berfungsi normal disisipkan ke dalam gen di dalam laboratorium. Kemudian sel yang telah ditransferkan ke gen baru tadi diletakkan ke dalam tubuh pasien. Sel penderita dapat digunakan untuk pemindahan gen ini. Kedua cara ini mempunyai kelebihan dan kekurangan. Kelebihan *in vivo* transfer adalah sangat sedikit membutuhkan manipulasi laboratorium dan dapat digunakan dalam skala besar. Sedangkan *ex vivo* lebih sarat dengan operasi pembedahan, seperti bagaimana mengangkat dan meletakkan kembali sel, karena meletakkan gen baru ke tubuh pasien tidaklah segampang menelan pil atau semudah menyuntikkannya ke dalam darah. Beberapa penanggulangan penyakit melalui terapi gen :

1. Penanggulangan penyakit cacat bawaan yang disebabkan oleh gangguan metabolisme. Pada penderita defisiensi ADA (Adenosin Deaminase) merupakan salah satu contoh terobosan rekayasa genetik untuk terapi gen. Aplikasi terapi gen pertama kali dilakukan pada anak penderita defisiensi ADA pada September 1990. Terapi ini dilakukan terhadap anak perempuan berumur 4 tahun, Ashanthi De Silva di Clinical Center of the US National Institutes of Health di Bethesda Washington D.C. USA. Usulan untuk terapi gen yang diprakarsai oleh Anderson dan Blaese ini diajukan 3 tahun sebelumnya. ADA merupakan enzim untuk metabolisme purin. Defisiensi ADA merupakan penyakit Immunodeficiency, karena tubuh kekurangan enzim tersebut limfosit-T dan limfosit-B yang mutlak dibutuhkan untuk pembentukan sistem kekebalan tidak

dapat berkembang dengan semestinya. Enzim ADA diperlukan untuk perkembangan sel T, gen ADA terletak pada kromosom X. Pada penderita defisiensi ADA, gen untuk menyandi enzim tersebut tidak ada, akibatnya tidak dapat memproduksi enzim tersebut. Dengan tidak adanya enzim ini sel T dan sel B tidak terbentuk dengan sempurna, dan menjadikan tidak berfungsinya sistem kekebalan. Jika bayi penderita defisiensi ADA ini tidak berada dalam lingkungan bebas mikroba (steril) maka tidak dapat mempertahankan hidup. Bayi ini terkenal dengan nama baby baloon karena bayi tersebut harus dimasukkan dalam bola plastik yang steril, baik mainan atau makanan yang akan disentuhnya harus disterilkan terlebih dahulu. Meskipun begitu bayi tersebut hanya berumur sampai 4 tahun. Injeksi langsung enzim ADA dalam darah tidak dapat menolong karena akan rusak dalam beberapa menit. Dengan cara pemindahan sumsum tulangpun memiliki kelemahan, yaitu perlu pendonor yang cocok. Telah pula diusahakan dan disepakati penggunaan “PEG-ADA” (polyethylene glycol-conjugated ADA). Senyawa ini dapat bertahan dalam darah selama beberapa hari. Penggunaan PEG-ADA memiliki kelemahan, karena injeksi dilakukan tiap minggu yang membutuhkan biaya tinggi US \$ 60,000 per tahunnya. Dengan rekayasa genetik yang diusulkan oleh Anderson dan Blaese melalui terapi gen, penyakit tersebut telah dapat diatasi. Sel T diisolasi dari penderita, kemudian ditumbuhkan di dalam kultur medium yang dibuat khusus untuk dapat menstimulasi aktivasi dan pertumbuhan sel T. Setelah sel T berkembang biak, retrovirus (yang bertindak sebagai vektor) yang sudah mengandung DNA penyandi ADA ditambahkan dan

kemudian ditumbuhkan beberapa hari sebelum diberikan kepada penderita. Disini retrovirus yang telah membawa gen ADA akan menginfeksi sel, kemudian bergabung ke dalam DNA sel T. Akhirnya larutan yang mengandung berjuta-juta sel-T yang telah membawa gen ADA dimasukkan pada vena penderita. Dengan demikian gen penyandi ADA di dalam sel T akan diekspresikan, sehingga tubuh penderita akan mampu menghasilkan enzim tersebut. Sementara enzim tersebut belum diproduksi oleh tubuh, penderita tetap diberi PEG-ADA. Salinan-salinan gen terklon untuk enzim ADA disisipkan ke dalam retrovirus lemah (sebagai vektor). Retrovirus ini dicampurkan dengan sel T Ashanthi, retrovirus kemudian menjangkiti sel T dan menyisipkan gen ADA ke dalam DNA sel T. Setelah dilakukan penyaringan, sel T rekombinan tersebut diklonkan, sebagian sel T rekombinan tersebut disuntikkan ke Ashanthi dan sebagian lagi disimpan dalam penyimpanan gen (sebagai simpanan). Ashanthi disuntik berulang kali, dan ternyata setelah lima tahun didapati sel T Ashanthi menunjukkan kehadiran gen ADA, diprediksikan satu milyar sel telah diberikan pada Ashanthi.

2. Memperpanjang usia sel/penanggulangan penyakit-penyakit yang berkaitan dengan keuzuran. Seorang ilmuwan AS telah berhasil menyingkap rahasia penuaan. Dari “main-main dengan materi genetik, mereka menemukan “sumber zat awet muda” untuk membuat sel manusia hidup lebih lama. Usaha memperpanjang usia sel manusia dipandang akan sangat bermanfaat bagi penanggulangan penyakit-penyakit yang berkaitan dengan keuzuran. Tim Dr. Woodring Wrigt, profesor biologi sel di

University of Texas, Dallas, menggunakan enzim telomerase. Enzim ini dihasilkan oleh sel haploid seperti sel telur dan sperma, dan mempengaruhi telomere (ujung kromosom). Sebagian kecil telomere ternyata hilang setiap kali sel soma pada tubuh manusia membelah diri. Sel normal tidak menghasilkan enzim telomerase, sehingga telomere tidak tumbuh lagi. Tim Dr. Wright berhasil menemukan cara untuk menumbuhkan kembali telomere ini dengan menggunakan enzim telomerase. Hilangnya telomere berkaitan dengan keuzuran. Dengan telomerase, telomere bisa diregenerasi sehingga penuaan (setidaknya ditingkat sel) dapat dihentikan. Hal tersebut tidak berarti bahwa manusia dapat hidup selamanya, karena matinya sel hanya salah satu saja dari sekian banyak proses yang membuat seseorang menjadi tua. Penemuan ini dapat membantu memperpanjang usia sel dengan cukup berarti. Kebutuhan akan sel yang jauh lebih panjang umur dari yang sampai kini ada, memang amat dibutuhkan oleh para terapis gen dalam usahanya menyembuhkan pasien berpenyakit menurun, misalnya cystic fibrosis. Dalam terapi ini yang biasa dilakukan adalah mengambil sel-sel si pasien, memasukkan gen sehat ke dalam sel-sel itu, lalu mengembalikan ke tubuh pasien. Diharapkan sel yang telah dimanipulasi itu akan mengambil alih peran sel-sel yang membawa kelainan penyakit tadi. Sayangnya,seringkali sel-sel sehatnya keburu “menua” di saat terapis selesai menanganinya, sehingga mati sebelum bisa berbuat banyak. Dengan mencegah kematian sel, proses telomerase diharapkan juga akan merangsang sel-sel bekerja lebih baik.

3. Pengobatan Hemofilia. Penderita hemofilia adalah manusia yang faktor VIII dalam darahnya berjumlah sedikit. Jika orang normal memiliki jumlah 100 unit, maka penderita hemofilia ringan hanya memiliki sekitar 30 unit saja (6-30%), sedangkan penderita hemofilia berat kurang dari 5 unit atau 1 persen saja. Akibatnya penderita tidak memiliki kemampuan dalam pembekuan darah. Dengan pengobatan terapi gen yang merupakan salah satu cara penyembuhan penyakit hemofilia dapat dilakukan dengan memperbaiki kerusakan genetis, yaitu melalui penggantian gen dengan yang tidak rusak dan berfungsi normal. Penyembuhan melalui terapi gen ini tidak dapat secara permanen dan masih harus dilakukan secara berkala. Studi terapi gen terhadap hemofilia masih terus dikembangkan, percobaan kepada binatang telah dilakukan. Sebuah kasus terapi gen yang dilakukan pada seekor anjing yang mengidap hemofilia dapat sembuh dalam waktu 30 hari, namun serangan hemofilia kembali terjadi setelah itu. Pada manusia penderita hemofilia, masa penyembuhan setelah terapi gen memerlukan waktu satu hingga dua tahun.
4. Pengobatan Thalassemia. Thalassemia merupakan suatu penyakit darah bawaan yang menyebabkan sel darah mudah pecah (hemolisis), sel darah merah penderita mengandung sedikit hemoglobin dan sel darah putihnya meningkat jumlahnya. Merupakan penyakit keturunan yang paling banyak dijumpai di Indonesia dan Italia. 6 sampai 10 % dari 100 orang Indonesia membawa gen penyakit ini. Jika dua orang yang sama-sama membawa gen ini menikah, maka memungkinkan bahwa 25 % dari kemungkinan jumlah anak mereka akan menderita thalassemia berat. Kelainan gen ini akan mengakibatkan kekurangan salah satu unsur pembentuk hemoglobin (Hb),

sehingga produksi Hb berkurang. Terdapat tiga jenis thalassemia yaitu: mayor, intermediate dan karier. Pada thalassemia mayor, Hb sama sekali tidak diproduksi. Akibatnya penderita akan mengalami anemia berat. Dalam hal ini jika penderita tidak diobati, maka bentuk tulang wajahnya akan berubah dan warna kulitnya menjadi hitam. Selama hidupnya penderita akan bergantung pada transfusi darah. Hal ini dapat berakibat fatal, karena efek samping dari transfusi darah terus menerus akan mengakibatkan kelebihan zat besi. Terapi gen merupakan harapan baru bagi penderita thalassemia di masa mendatang. Terapi dilakukan dengan menggantikan sel tunas yang rusak pada sumsum tulang penderita dengan sel tunas dari donor yang sehat. Hal tersebut telah diujicobakan pada mencit.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, W French, et al. 1990. The ADA human gene therapy clinical protocol: Points to Consider response with clinical protocol. PMID: 11642817 DOI: 10.1089/hum.1990.1.3-331
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11642817/>.
- Arsal, Andi Faridah. 2018. Genetika I (Arif Memahami Genetika). Penerbit UNM: Makassar.
- Campbell, dkk. 2003. Biologi. Jakarta. Erlangga.
- McMurry, J., and Castellion, M. E. 1992. Fundamental of General Organic and Biological Chemistry, Prentice Hall Inc., New Jersey, p. 528-545.
- Hochachka, Peter W. & Somero, George N. 1984. Biochemical Adaptation. Princeton University Press: New Jersey.
- Jerzy dan Jean. 2000. Pesticide Biotransformation in Plants and Microorganisms, ACS Symposium Series, 777 (10), pp : 182-193.
- Reynolds, P. H. S. 1998. Inducible Gene Expression in Plants. CABI Publishing: New York.
- In memoriam: Cell biologist Dr. Woodring Wright made seminal discoveries on aging and cancer development. Published on: August 05, 2019. <https://www.utsouthwestern.edu/newsroom/articles/year-2019/woodring-wright.html>
- 17 Contoh Hewan Transgenik Kelebihan Dan Kekurangannya.
<https://wikiejemplos.com/id/animales-transgenicos/>.
Diakses pada tanggal 1 Februari 2023.
- 2001. Scientific American. Volume 284, Issue 4.
<https://www.scientificamerican.com/magazine/sa/2001/04-01/>. Diakses pada tanggal pada tanggal 5 Juli 2006.

BAB 2

TEKNOLOGI DNA REKOMBINAN

Oleh Ahmad Zil Fauzi

2.1 Pendahuluan

Anda pasti pernah mendengar tanaman produksi yang memiliki ketahanan lebih baik terhadap hama dan penyakit dibanding tanaman yang lain. Atau produksi insulin manusia untuk pengobatan diabetes. Atau produksi biofuel yang bersumber dari mikroorganisme. Hal tersebut hanyalah sedikit dari upaya dan hasil dari sebuah teknologi yang saat ini kita sebut dengan teknologi DNA rekombinan. Teknologi DNA rekombinan adalah sebuah teknologi yang sangat penting dan inovatif dalam biologi molekuler. Dengan menggabungkan DNA dari berbagai sumber, teknologi ini memungkinkan para ilmuwan untuk menciptakan genetika baru yang tidak mungkin ditemukan dalam alam. Gen-gen ini kemudian disatukan menjadi suatu molekul yang baru dan dapat diprogram untuk melakukan suatu fungsi tertentu. Teknologi ini banyak digunakan dalam bidang bioteknologi untuk menghasilkan produk-produk yang berguna, seperti insulin sintetis, vaksin, dan obat-obatan lainnya. Hal ini membuka peluang baru dalam bidang kedokteran, pertanian, dan bioteknologi industri.

2.2 Tinjauan Teknologi DNA Rekombinan

Teknologi DNA rekombinan merupakan teknik yang digunakan untuk memadukan dan menggabungkan DNA dengan tujuan tertentu. Teknologi ini merupakan lat utama yang terdapat pada cakupan ilmu rekayasa genetika. Rekayasa genetika yang terus menerus berkembang memungkinkan adanya manipulasi gen sehingga gen-gen yang dihasilkan dapat muncul atau terekspresi sesuai dengan keinginan peneliti. Kemampuan untuk mengembangkan teknologi DNA rekombinan selanjutnya kemudian dapat menghasilkan produk-produk unggulan karena sebelumnya telah disisipkan gen-gen yang mengkode sifat unggul tersebut. Hal tersebut dapat diperoleh karena terjadi proses pemindahan materi genetik dari sumber-sumber gen yang beraneka ragam dengan ketepatan yang presisi dan terkontrol dalam waktu yang singkat.

Rekombinasi DNA secara alami terjadi melalui perkawinan, persilangan, dan penyerbukan. Kesulitan kemudian terjadi karena prosesnya tidak dapat dikontrol dan hasil yang didapatkan hanya terlihat dari variasi genotip dan fenotip yang muncul. Proses rekombinasi DNA yang terjadi secara alami kemudian diadaptasi dan dikembangkan melalui teknologi secara *in vitro* melalui teknologi DNA rekombinan. Keberhasilan teknologi DNA rekombinan ini sangat dipengaruhi oleh kemampuan peneliti untuk mengontrol komponen-komponen dan karakteristik DNA target, vektor plasmid, enzim restriksi (endonuklease restriksi), enzim ligase, dan sel sel yang kompeten dan sesuai. Pemilihan setiap komponen tersebut tidak dapat dilakukan secara acak dan serampangan tetapi mesti menyesuaikan karakteri dari tiap gen yang akan dipadupadankan.

2.2.1 Pemanfaatan Teknologi DNA Rekombinan

Teknologi DNA rekombinan merupakan teknologi yang sangat penting dan inovatif dalam bidang biologi molekuler. Teknologi ini dapat menggabungkan DNA dari berbagai sumber yang selanjtnya memungkinkan para ilmuwan untuk menciptakan genetika baru yang tidak terdapat atau tidak mungkin ditemukan di alam. Gen-gen ini kemudian disatukan menjadi suatu molekul yang baru dan dapat diprogram untuk melakukan suatu fungsi tertentu.

Teknologi DNA rekombinan banyak digunakan dalam bidang bioteknologi untuk menghasilkan produk-produk yang berguna, seperti insulin sintetis, vaksin, dan obat-obatan lainnya. Hal ini membuka peluang baru dalam bidang kedokteran, pertanian, dan bioteknologi industri. Teknologi DNA rekombinan memungkinkan untuk meningkatkan produktivitas tanaman dan mengurangi kerugian yang disebabkan oleh hama dan cuaca buruk, sehingga dapat meningkatkan ketersediaan produk makanan. Teknologi DNA rekombinan juga digunakan dalam bidang ilmu pengetahuan lainnya, seperti biologi evolusi dan genetika, untuk memahami lebih lanjut tentang bagaimana gen-gen bekerja dan bagaimana gen dapat mengalami perubahan dari satu generasi ke generasi berikutnya. Beberapa contoh pemanfaatan Teknologi DNA Rekombinan :

1. Pembuatan insulin sintetis.

Insulin merupakan hormon yang diperlukan oleh tubuh untuk mengontrol kadar gula darah. Dengan menggunakan teknologi DNA rekombinan, insulin dapat diproduksi secara sintetis dengan menggunakan bakteri yang telah ditransformasi dengan gen yang memproduksi insulin.

Pembuatan insulin sintesis melibatkan proses rekombinasi DNA yang meliputi isolasi DNA yang mengandung gen insulin dari sumber yang akan digunakan, pemotongan DNA menggunakan enzim restriksi, dan penyambungan potongan-potongan DNA yang telah dipotong dengan enzim ligase. Gen insulin yang dihasilkan dari proses rekombinasi DNA ini kemudian ditransfer ke sel-sel bakteri atau khamir yang telah dipersiapkan melalui metode transformasi seperti *Agrobacterium-mediated transformation* atau *electroporation*. Sel-sel yang telah ditransformasi dengan gen insulin ini kemudian dikembangkan dalam kondisi yang sesuai untuk memproduksi insulin sintesis. Insulin sintesis yang dihasilkan dari proses ini dapat digunakan sebagai terapi bagi pasien yang mengalami diabetes melitus yang tidak dapat diterima oleh tubuh mereka sendiri. Keuntungan dari insulin sintesis ini adalah bahwa ia dapat diproduksi dalam jumlah yang cukup besar dan dapat dijual dengan harga yang lebih terjangkau dibandingkan insulin yang diperoleh dari sumber alami. Selain itu, insulin sintesis juga dapat dikontrol dengan lebih baik dalam hal kemurnian dan aktivitas biologisnya. Hal ini penting karena insulin yang tidak murni dan/atau yang kurang aktif dapat menyebabkan efek samping yang tidak diinginkan pada pasien.

Teknologi DNA rekombinan juga memungkinkan untuk mengubah gen insulin yang telah diproduksi, untuk meningkatkan efektivitas atau memperpanjang waktu kerja insulin. Hal ini dapat membantu dalam meningkatkan kualitas hidup pasien diabetes yang harus mengonsumsi insulin secara teratur. Selain itu, teknologi ini juga digunakan dalam penelitian tentang

diabetes, seperti mengeksplorasi mekanisme kerja insulin dan cara untuk meningkatkan efektivitas terapi insulin.

2. Pembuatan vaksin.

Vaksin dapat diproduksi dengan menggunakan teknologi DNA rekombinan. Vaksin DNA adalah jenis vaksin yang mengandung DNA patogen yang ditargetkan, seperti gen virus atau bakteri, yang ditransfer ke sel-sel tubuh melalui teknologi DNA rekombinan. Sel-sel yang menerima DNA ini akan memproduksi protein dari patogen yang diimunisasi, yang akan meningkatkan respon imun tubuh terhadap patogen tersebut. Beberapa contoh vaksin yang dihasilkan melalui teknologi DNA rekombinan adalah :

- a) Vaksin HPV: Vaksin HPV yang dihasilkan melalui teknologi DNA rekombinan mengandung DNA virus HPV yang ditargetkan dan digunakan untuk mencegah kanker serviks.
- b) Vaksin malaria: Beberapa vaksin malaria yang dihasilkan melalui teknologi DNA rekombinan mengandung DNA protein dari parasite malaria yang ditargetkan dan digunakan untuk mencegah malaria.
- c) Vaksin rabies: Vaksin rabies yang dihasilkan melalui teknologi DNA rekombinan mengandung DNA virus rabies yang ditargetkan dan digunakan untuk mencegah infeksi rabies.
- d) Vaksin COVID-19: Beberapa vaksin COVID-19 yang dihasilkan melalui teknologi DNA rekombinan mengandung DNA dari spike protein SARS-CoV-2 yang ditargetkan dan digunakan untuk mencegah COVID-19.

Secara umum, vaksin DNA memiliki potensi untuk menjadi lebih aman dan efektif dibandingkan vaksin lainnya karena tidak mengandung patogen yang sebenarnya dan hanya mengandung DNA dari patogen yang ditargetkan. Selain itu, vaksin DNA juga lebih mudah diproduksi dibandingkan vaksin lainnya karena tidak memerlukan kultur patogen atau vaksin virus yang hidup. Hal ini membuat vaksin DNA lebih cepat dan lebih murah untuk diproduksi dibandingkan vaksin lainnya.

3. Penggunaan Obat-Obatan.

Teknologi DNA rekombinan dapat digunakan untuk menghasilkan obat-obatan yang bermanfaat. Salah satu contohnya adalah interferon yang digunakan untuk mengobati infeksi virus. Interferon adalah protein yang diproduksi oleh sel-sel tubuh yang terkena infeksi virus dan berfungsi untuk menghambat perkembangan virus. Obat-obatan interferon yang dihasilkan melalui teknologi DNA rekombinan dapat diproduksi dengan menggunakan sel-sel yang telah ditransformasi dengan gen interferon.

Selain itu, teknologi DNA rekombinan digunakan dalam produksi hormon pertumbuhan yang digunakan untuk mengobati gangguan pertumbuhan. Hormon pertumbuhan manusia yang diproduksi dengan teknologi DNA rekombinan mengandung gen hormon pertumbuhan yang ditransfer ke sel yang dapat memproduksi hormon pertumbuhan yang sama seperti yang diproduksi oleh tubuh. Teknologi DNA rekombinan juga digunakan dalam produksi obat-obatan lainnya seperti enzim-enzim rekombinan, antibodi monoklonal, antigen dan protein-protein lainnya yang digunakan dalam terapi gen.

4. Pembuatan produk makanan

Teknologi DNA rekombinan juga dapat digunakan untuk memodifikasi tanaman sehingga menghasilkan produk-produk makanan yang lebih tahan terhadap hama atau lebih tahan terhadap cuaca yang buruk. Beberapa contoh produk makanan yang dihasilkan melalui teknologi DNA rekombinan adalah:

- a) Padi yang tahan terhadap hama.
Varietas padi yang dihasilkan melalui teknologi DNA rekombinan dapat tahan terhadap hama seperti wereng dan gulma, sehingga meningkatkan produksi padi.
- b) Bawang merah yang tahan terhadap penyakit: Beberapa varietas bawang merah yang dihasilkan melalui teknologi DNA rekombinan dapat tahan terhadap penyakit seperti *Fusarium oxysporum*, sehingga meningkatkan produksi bawang merah.
- c) Jagung yang tahan terhadap kondisi cuaca yang buruk: Beberapa varietas jagung yang dihasilkan melalui teknologi DNA rekombinan dapat tahan terhadap kondisi cuaca yang buruk seperti kekeringan, sehingga meningkatkan produksi jagung.
- d) Tomat yang tahan terhadap penyakit: Beberapa varietas tomat yang dihasilkan melalui teknologi DNA rekombinan dapat tahan terhadap penyakit seperti pembusukan akar, sehingga meningkatkan produksi tomat.
- e) Tebu yang tahan terhadap hama: Beberapa varietas tebu yang dihasilkan melalui teknologi DNA rekombinan dapat tahan terhadap hama seperti wereng, sehingga meningkatkan produksi tebu.

5. Bidang Biologi.

Teknologi DNA rekombinan banyak digunakan dalam penelitian biologi, seperti studi genetika dan evolusi. Melalui teknologi DNA rekombinan maka dapat dipahami tentang bagaimana gen-gen bekerja dan bagaimana gen dapat mengalami perubahan dari satu generasi ke generasi berikutnya. Teknologi ini juga digunakan dalam penelitian biologi untuk mengetahui lebih lanjut tentang mekanisme biologi dan interaksi antar molekul dalam sel. Sebagai contohnya yaitu penggunaan metode CRISPR-Cas9 dalam terapi gen.

CRISPR adalah sistem imunitas yang ditemukan pada bakteri yang digunakan untuk mengenali dan menghapus DNA virus. Cas9 adalah enzim yang digunakan untuk memotong DNA. Dengan menggabungkan CRISPR dengan Cas9, para peneliti dapat mengedit gen dengan sangat akurat dan efisien. Ini memungkinkan untuk mengeksplorasi fungsionalitas gen yang berbeda dan mengetahui peran gen dalam berbagai proses biologi, seperti perkembangan, penyakit, dan respon lingkungan.

6. Bidang Bioteknologi Industri

Bioteknologi industri adalah cabang bioteknologi yang mengeksplorasi penggunaan organisme hidup atau produk biologi untuk menghasilkan produk yang bermanfaat dalam industri. Dengan menggunakan teknologi DNA rekombinan, para ilmuwan dapat mengubah gen organisme hidup untuk menghasilkan enzim, vitamin, dan bahan baku lain yang dibutuhkan dalam industri.

Teknologi DNA rekombinan memungkinkan untuk meningkatkan efisiensi, mengurangi biaya produksi dan menghasilkan produk yang lebih berkualitas dalam industri.

Beberapa contoh produk yang dihasilkan melalui bioteknologi industri adalah :

a) Enzim.

Enzim digunakan dalam berbagai industri, seperti industri makanan, farmasi, dan tekstil. Enzim yang dihasilkan melalui bioteknologi industri lebih stabil dan efisien dibandingkan dengan enzim alami.

b) Vitamin.

Vitamin dapat dihasilkan melalui bioteknologi industri, seperti vitamin B12 yang digunakan dalam industri makanan dan farmasi.

c) Asam amino.

Asam amino dapat dihasilkan melalui bioteknologi industri, seperti lisin yang digunakan dalam industri pakan ternak.

d) Protein rekombinan.

Teknologi DNA rekombinan digunakan untuk menghasilkan protein yang bermanfaat, seperti insulin, hormon pertumbuhan, dan faktor koagulasi.

e) Produk kimia.

Beberapa produk kimia dapat dihasilkan melalui bioteknologi industri, seperti bioplastic yang dihasilkan dari pati.

2.3 Metode DNA Rekombinan.

Teknik teknik maupun metode yang lazim digunakan dalam teknologi DNA rekombinan diantaranya :

1. Teknik Enzim Restriksi.

Teknik enzim restriksi merupakan salah satu teknik utama dalam teknologi DNA rekombinan yang diaplikasikan dengan bantuan enzim emdonuklease restriksi. Enzim ini diproduksi oleh bakteri sebagai mekanisme pertahanan terhadap DNA asing, seperti yang ditemukan pada virus. Enzim ini memotong DNA pada situs yang spesifik, yang memungkinkan para ilmuwan untuk mengisolasi gen tertentu dan memasukkannya ke dalam vektor. Vektor ini dapat diperkenalkan ke dalam sel inang, di mana gen tersebut dapat direplikasi dan diekspresikan. Hal ini memungkinkan para ilmuwan untuk menghasilkan jumlah besar protein tertentu yang dapat digunakan dalam berbagai aplikasi yang bermanfaat bagi manusia.

Enzim restriksi sangat penting dalam kloning gen dan membuat plasmid rekombinan. Hal ini memungkinkan para ilmuwan untuk memotong DNA pada titik tertentu dan mengisolasi gen tertentu. Dengan cara ini, para ilmuwan dapat memasukkan gen yang diinginkan ke dalam vektor, yang kemudian dapat diperkenalkan ke dalam sel host, di mana ia dapat direplikasi dan diekspresikan. Oleh karena itu, enzim restriksi merupakan salah satu alat yang esensial dalam penelitian biologi molekuler.

Enzim restriksi yang diperoleh dari sumber yang berbeda mungkin memiliki situs pemotongan yang berbeda dan sensitivitas yang berbeda terhadap lingkungan, sehingga perlu diperhatikan dalam penggunaannya. Hal tersebut dapat menjadi jelas karena kemudian lingkungan yang berbeda dapat mempengaruhi keberhasilan isolasi enzim restriksi dan juga spesifitas situs pemotongan.

Sebagian besar enzim restriksi diisolasi dari bakteri. Namun, juga ada yang diisolasi dari archaea, jamur, dan virus. Beberapa diantaranya diisolasi dari bakteri yang hidup pada lingkungan yang berbeda-beda, seperti air, tanah, maupun lingkungan dalam tubuh manusia. Beberapa contoh enzim restriksi yang diisolasi dari archaea adalah SfiI dari *Sulfolobus acidocaldarius*, dan AluI dari *Aeropyrum pernix*. Beberapa contoh enzim restriksi yang diisolasi dari jamur adalah BsaXI dari *Bacillus stearothermophilus* dan BsaHI dari *Bacillus spp.* Beberapa contoh enzim restriksi yang diisolasi dari virus adalah Bpu1102I dari Bacillus phages dan EcoRV dari E.coli phages. Namun, perlu diingat bahwa enzim restriksi yang diisolasi dari lingkungan yang berbeda mungkin memiliki karakteristik yang berbeda, seperti kecepatan pemotongan, stabilitas termal, dan sensitivitas terhadap kondisi lingkungan. Beberapa contoh enzim restriksi disebutkan dibawah :

- a) EcoRI G[^]AATTC, (enzim restriksi yang diisolasi dari *Escherichia coli*) : memotong pada situs 5' - G[^]AATTC - 3'. Digunakan dalam kloning gen dan analisis DNA.
- b) BamHI G[^]GATCC, (enzim restriksi yang diisolasi dari *Bacillus amyloliquefaciens*) : memotong pada situs 5' - G[^]GATCC - 3'. Digunakan dalam kloning gen dan analisis DNA.
- c) HindIII A[^]AGCTT, (enzim restriksi yang diisolasi dari *Haemophilus influenzae*) : memotong pada situs 5' - A[^]AGCTT - 3'. Digunakan dalam kloning gen dan analisis DNA.
- d) PstI C[^]TGCA[^]G, (enzim restriksi yang diisolasi dari *Providencia stuartii*) : memotong pada situs 5' - C[^]TGCA[^]G - 3'. Digunakan dalam kloning gen dan analisis DNA.

- e) Sall G^ATCGAC , (enzim restriksi yang diisolasi dari *Streptococcus albus*) : memotong pada situs 5' - G^ATCGAC - 3'. Digunakan dalam kloning gen dan analisis DNA.
- f) XhoI C^ATCGAG , (enzim restriksi yang diisolasi dari *Xanthomonas campestris*): memotong pada situs 5' - C^ATCGAG - 3'. Digunakan dalam kloning gen dan analisis DNA.
- g) NheI G^CTAGC , (enzim restriksi yang diisolasi dari *Neisseria gonorrhoeae*) : memotong pada situs 5' - G^CTAGC - 3'. Digunakan dalam kloning gen dan analisis DNA
- h) NotI GC^GGCCGC , (enzim restriksi yang diisolasi dari *Nocardia otitidiscaviarum*) : memotong pada situs 5' - GC^GGCCGC - 3'. Digunakan dalam kloning gen dan analisis DNA.
- i) KpnI G^GTAC^C , (enzim restriksi yang diisolasi dari *Klebsiella pneumonia*) : memotong pada situs 5' - G^GTAC^C - 3'. Digunakan dalam kloning gen dan analisis DNA.
- j) SfiI $GGCCNNNNNGGCC$, (enzim restriksi yang diisolasi dari *Staphylococcus aureus*) : memotong pada situs 5' - $GGCCNNNNNGGCC$ - 3'. Digunakan dalam kloning gen dan analisis DNA.

2. Teknik Ligasi.

Teknik ligasi merupakan teknik yang digunakan dalam teknologi DNA rekombinan untuk menyatukan dua fragmen DNA yang telah dipotong dengan bantuan enzim Ligase. Enzim ini menyatukan fragmen DNA dengan cara menyambung ujung bebas dari fragmen-fragmen DNA tersebut. Metode ini digunakan dalam kloning gen untuk menyatukan fragmen DNA yang diinginkan ke dalam

vektor DNA seperti plasmid atau virus. Teknik ini dibagi dalam dua metode :

- a) Ligasi kimia : digunakan untuk menyatukan fragmen DNA tanpa bantuan enzim ligase dengan cara menggunakan reagen kimia yang dapat menyambung ujung bebas DNA.
- b) Ligasi enzimatik: digunakan untuk menyatukan fragmen DNA dengan bantuan enzim ligase. Enzim ini menyambung ujung bebas DNA dengan cara menambahkan basa nitrogen pada ujung bebas DNA.

Setelah proses ligasi selesai, sel host yang diisolasi dari plasmid atau virus yang mengandung gen yang diinginkan di seleksi dan di verifikasi dengan beberapa metode seperti PCR atau Southern blot. Kemudian klon yang berhasil dikloning diidentifikasi dan di verifikasi, klon tersebut dapat digunakan dalam aplikasi biologi molekuler selanjutnya.

3. Teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Teknik Polymerasi Chain Reaction (PCR) merupakan teknik yang digunakan untuk memperbanyak fragmen DNA secara in vitro dengan cara mengulangi proses sintesis DNA. PCR menggunakan enzim Polymerase dan dibantu dengan primer, suhu dan kondisi optimal lainnya. PCR merupakan metode yang sangat kuat dan cepat untuk memperbanyak fragmen DNA yang diinginkan.

Teknik PCR sangat berguna dalam bidang kedokteran, bioteknologi, dan ilmu forensik. Dalam bidang kedokteran, PCR digunakan untuk mengidentifikasi patogen seperti virus atau bakteri yang menyebabkan penyakit. Dalam bioteknologi, PCR digunakan untuk memperbanyak gen yang diinginkan untuk digunakan

dalam aplikasi seperti kloning gen atau produksi protein. Dan dalam ilmu forensik, PCR digunakan untuk menganalisis DNA yang diperoleh dari sampel yang berasal dari tersangka atau korban.

Proses PCR terdiri dari tiga tahap utama:

a) Tahap pemanasan.

Pada tahap ini, fragmen DNA dikelekasikan pada suhu yang tepat (sekitar 72-75°C) untuk memungkinkan aktivitas enzim DNA polimerase. Pada suhu ini, enzim DNA polimerase akan membuka heliks DNA dan memulai proses sintesis DNA baru.

Selain itu, pada tahap pemanasan ini juga akan terjadi denaturasi dari DNA, yang artinya ikatan hydrogen yang menyatukan basa-basa dalam DNA akan terlepas, sehingga basa-basa tersebut akan bebas dan dapat digunakan oleh enzim DNA polimerase untuk membuat rantai baru. Pemanasan yang tepat sangat penting untuk proses PCR agar dapat berjalan dengan optimal dan hasil yang diharapkan dapat tercapai.

b) Tahap primer.

Pada tahap ini, primer yang ditambahkan akan melekat pada ujung bebas DNA yang terpisah pada tahap pemanasan sebelumnya. Primer ini merupakan fragmen DNA yang diformulasikan dengan spesifikasi tertentu yang mengikuti komplementer dari ujung bebas DNA yang akan dibentuk. Primer ini akan digunakan sebagai situs awal sintesis DNA baru, sehingga enzim DNA polimerase dapat memulai proses replikasi DNA dengan benar. Setelah primer melekat pada ujung bebas DNA, enzim DNA polimerase akan memulai

proses sintesis DNA baru dengan menambahkan basa-basa yang dibutuhkan. Selain itu, primer juga bertindak sebagai marker yang digunakan untuk menentukan lokasi dari fragmen DNA yang akan diperbanyak. Proses primer ini sangat penting karena tanpa primer yang tepat, enzim DNA polimerase tidak dapat memulai proses sintesis DNA baru dan hasil PCR akan tidak optimal.

c) Tahap sintesis / perakitan.

Pada tahap ini, enzim polimerase akan mengikat primer dan mulai mensintesis fragmen DNA baru dengan cara mengkopi fragmen DNA yang terpisah. tahap sintesis adalah tahap penting berikutnya dalam PCR. Setelah primer melekat pada ujung bebas DNA pada tahap sebelumnya, enzim DNA polimerase akan mengikat primer dan memulai proses sintesis DNA baru. Enzim DNA polimerase akan mengkopi fragmen DNA yang terpisah pada tahap pemanasan sebelumnya dan menambahkan basa-basa yang dibutuhkan untuk membentuk fragmen DNA baru. Proses sintesis ini akan berlangsung secara berulang-ulang, sehingga fragmen DNA yang diinginkan akan diperbanyak dalam jumlah yang cukup besar. Proses sintesis ini sangat penting karena tanpa proses sintesis DNA baru, PCR tidak akan dapat menghasilkan fragmen DNA yang diinginkan dalam jumlah yang cukup besar.

Setiap tahap PCR diulang sampai jumlah fragmen DNA yang diinginkan diperoleh. Setelah proses PCR selesai, fragmen DNA yang diperbanyak dapat digunakan dalam aplikasi biologi molekuler selanjutnya.

4. Teknik Kloning in vitro.

Teknik kloning in vitro adalah salah satu metode yang digunakan dalam teknologi DNA rekombinan untuk mengkloning DNA secara in vitro. Metode ini menggunakan enzim restriksi untuk memotong DNA pada situs pengenalan yang spesifik dan menginsertkan fragmen DNA yang diinginkan ke dalam vektor DNA. Vektor DNA ini kemudian dapat ditransferkan ke dalam sel inang yang sesuai, di mana fragmen DNA yang diinginkan akan diperbanyak. Metode Kloning in vitro sangat penting dalam berbagai bidang biologi, seperti kedokteran, bioteknologi, dan biologi molekuler, karena dapat menghasilkan jumlah besar DNA yang diperlukan untuk analisis dan aplikasi.

Teknik kloning in vitro juga digunakan dalam pembuatan tanaman transgenik, produksi protein rekombinan, dan pengembangan terapi gen. Pemotongan DNA dengan menggunakan enzim restriksi memungkinkan untuk memisahkan fragmen DNA yang diinginkan dan menyisipkannya ke dalam vektor DNA. Vektor DNA ini kemudian ditransferkan ke dalam sel inang yang sesuai, di mana fragmen DNA yang diinginkan akan diperbanyak.

Sel inang yang di-transformasi dengan vektor DNA yang mengandung fragmen DNA yang diinginkan akan diidentifikasi dengan menggunakan metode seleksi yang sesuai, seperti seleksi resistensi terhadap antibiotik atau seleksi warna. Plasmid yang berhasil diisolasi dari sel inang yang di-transformasi kemudian dapat di-amplifikasi dengan menggunakan PCR atau kultur sel. Setelah diperbanyak, plasmid yang diisolasi dari sel inang dapat digunakan untuk berbagai aplikasi, seperti produksi protein rekombinan, pembuatan

tanaman transgenik, atau terapi gen. Langkah – langkah dalam metode kloning in vitro sebagai berikut :

- a) Pemotongan DNA dengan menggunakan enzim restriksi pada situs pengenalan yang spesifik.
- b) Ligasi fragmen DNA yang diinginkan ke vektor DNA dengan menggunakan enzim ligase.
- c) Transformasi sel inang dengan vektor DNA yang telah di-ligasi. Sel inang yang digunakan dapat berasal dari bakteri, jamur, atau sel eukariot. Transformasi sel inang dapat dilakukan dengan metode elektroporasi, metode lipofeksin, atau metode pengenalan sel.
- d) Seleksi sel inang yang berhasil di-transformasi dengan menggunakan metode seleksi yang sesuai, seperti seleksi resistensi terhadap antibiotik atau seleksi warna.
- e) Amplifikasi plasmid yang berhasil diisolasi dengan menggunakan PCR atau kultur sel.

5. Teknik Transfeksi

Teknik transfeksi adalah metode yang digunakan untuk mengintroduksi DNA ke dalam sel eukariot, seperti sel hewan atau sel manusia, dengan cara menggunakan vektor DNA atau langsung dengan DNA yang diinginkan. Langkah-langkah dalam metode ini diuraikan berikut :

- a) Persiapan DNA yang akan ditransfer ke dalam sel. DNA dapat dalam bentuk plasmid, fragmen DNA, atau gen tunggal.
- b) Persiapan sel yang akan ditransfer DNA. Sel dapat dalam bentuk sel hewan atau sel manusia.
- c) Penyiapan reagen transfection yang sesuai. Beberapa metode transfection memerlukan penambahan reagen khusus seperti lipofeksin, DEAE-dextran, atau calcium phosphate.

- d) Transfeksi sel dengan DNA. DNA dapat ditransfer ke dalam sel dengan cara elektroporasi, pengenalan sel, atau metode lain yang sesuai.
- e) Seleksi sel yang berhasil ditransfer DNA. Sel yang berhasil ditransfer DNA dapat diidentifikasi dengan menggunakan metode seleksi yang sesuai, seperti seleksi resistensi terhadap antibiotik atau seleksi warna.

Metode transfeksi sangat penting dalam berbagai bidang biologi, seperti kedokteran, bioteknologi, dan biologi molekuler karena dapat mengintroduksi DNA ke dalam sel eukariot dan mengekspresikan protein rekombinan yang diinginkan. Namun, metode ini juga memiliki beberapa keterbatasan seperti efisiensi transfeksi yang rendah dan potensi kerusakan sel yang ditransfer DNA. Selain itu, metode transfeksi juga memiliki potensi masalah etika dan keamanan, seperti potensi konsekuensi yang tidak diinginkan dan potensi penyalahgunaan. Oleh karena itu, penelitian dan penggunaan metode transfeksi harus diatur dan diperhatikan dengan baik dalam lingkup etika dan keamanan.

6. Teknik Seleksi Antibiotik.

Teknik ini merupakan salah satu metode yang digunakan dalam teknologi DNA rekombinan untuk memilih sel yang berhasil di-transformasi dengan menggunakan antibiotik. Pada metode ini, sel inang yang di-transformasi dengan vektor DNA yang mengandung gen resistensi antibiotik akan dapat bertahan hidup dan tumbuh di dalam media yang mengandung antibiotik tertentu. Sel inang yang tidak berhasil ditransformasi akan mati karena tidak mampu bertahan hidup di dalam media yang mengandung

antibiotic. Tahapan-tahapan dalam metode ini diuraikan sebagai berikut :

- a) Transformasi sel inang dengan vektor DNA yang mengandung gen resistensi antibiotik
- b) Inkubasi sel inang yang di-transformasi dalam media yang mengandung antibiotik tertentu
- c) Pemilihan sel inang yang berhasil di-transformasi dengan menggunakan metode seleksi yang sesuai, seperti seleksi resistensi terhadap antibiotik.
- d) Amplifikasi plasmid yang berhasil diisolasi dengan menggunakan PCR atau kultur sel.

Metode seleksi antibiotik sangat penting dalam teknologi DNA rekombinan karena dapat mempermudah pemilihan sel yang berhasil di-transformasi dan meningkatkan efisiensi pengkloningan. Namun, metode ini juga memiliki beberapa keterbatasan, seperti resistensi bakteri terhadap antibiotik yang digunakan dan potensi masalah etika dan keamanan yang diakibatkan dari penyalahgunaan antibiotik.

2.4 Tahapan Teknologi DNA Rekombinan.

Tahapan-tahapan dalam teknologi DNA rekombinan ini dapat bervariasi sesuai komposisi dan karakter gen dari tiap-tiap sel yang akan direkombinasikan. Secara umum tahapan dalam teknologi ini dikerjakan dengan penuh ketelitian dan kecermatan yang akurat dimulai dari isolasi DNA sumber gen, kloning gen yang diinginkan ke dalam vektor plasmid atau virus, transformasi vektor DNA yang telah disisipkan gen yang diinginkan ke dalam sel yang sesuai, seleksi dan identifikasi sel target, hingga pemurnian dan analisis produk akhir sel target.

1. Isolasi DNA asal.

Isolasi DNA merupakan proses pemisahan DNA dari komponen-komponen sel lain seperti protein, karbohidrat, dan lipid. Proses ini dilakukan untuk mendapatkan DNA yang berkualitas tinggi dan murni yang dapat digunakan dalam berbagai aplikasi biologi molekuler seperti kloning, PCR, dan sebagainya. Tahapan-tahapan dalam isolasi DNA dapat bervariasi tergantung pada metode yang digunakan, namun umumnya meliputi beberapa tahap sebagai berikut :

a) Ekstraksi.

Tahap pertama dalam isolasi DNA adalah ekstraksi, di mana DNA diambil dari sel atau jaringan yang akan diisolasi. Pada tahap ini, sel atau jaringan yang diinginkan dihomogenisasi atau dibelah dengan menggunakan teknik fisik atau kimia.

b) Pengenceran.

Setelah ekstraksi, DNA diencerkan dengan menambahkan pengencer seperti etanol atau asam asetat untuk mengendapkan DNA dan memisahkannya dari komponen sel lain.

c) Pemurnian.

Tahap selanjutnya adalah pemurnian DNA. Pada tahap ini, DNA akan diencerkan dengan menambahkan pengencer seperti etanol atau asam asetat untuk mengendapkan DNA dan memisahkannya dari komponen sel lain.

d) Pemurnian DNA.

DNA akan diendapkan dari campuran yang dihasilkan dari tahap sebelumnya dan diperoleh dari dalam fase cair yang diendapkan.

e) Pengeringan.

DNA diendapkan akan di keringkan dengan

menggunakan alat pengering seperti sentrifuge atau freeze dryer.

f) Pemurnian lanjutan.

DNA yang sudah di keringkan akan diperoleh dari alat pengering dan dilakukan pemurnian lanjutan dengan menggunakan teknik-teknik lain seperti purifikasi dengan kolom-kolom atau teknik-teknik PCR.

g) Analisis.

Setelah DNA diisolasi, dilakukan analisis untuk mengevaluasi kualitas dan jumlah DNA yang diperoleh. Analisis ini dapat dilakukan dengan menggunakan metode-metode seperti spektrofotometri, elektroforesis, atau PCR

Setelah tahapan isolasi DNA selesai dilakukan maka kemudian DNA tersebut digunakan sebagai sumber gen yang akan digunakan dalam teknologi DNA rekombinan. Pada tahap ini, gen yang diinginkan akan diambil dari DNA asal tersebut dan dikloning ke dalam vektor DNA yang sesuai. Keberhasilan dalam proses isolasi DNA sangat penting karena dapat mempengaruhi hasil akhir dari analisis genetik yang akan dilakukan.

2. Kloning gen yang diinginkan.

Tahapan kloning gen merupakan tahapan yang dilakukan dengan mengambil DNA yang diinginkan dan disisipkan ke dalam vektor DNA yang sesuai seperti plasmid atau virus. Setelah gen yang diinginkan dikloning ke dalam vektor DNA, vektor DNA tersebut akan diintroduksi ke dalam sel pembawa (sel host : digunakan untuk menggandakan gen yang diinginkan) dengan menggunakan metode-metode seperti transformasi elektroporasi, transferesis, atau metode lain.

Sel host yang digunakan dapat bervariasi tergantung pada aplikasi yang diinginkan. Sel host yang paling sering digunakan dalam kloning gen adalah sel bakteri seperti *E. coli* dan sel hewan seperti HEK293. Sel host yang telah berhasil diintroduksi dengan vektor DNA yang mengandung gen yang diinginkan disebut sebagai "klon". Klon ini kemudian digunakan untuk menghasilkan jumlah yang cukup banyak dari gen yang diinginkan melalui proses replikasi sel.

3. Transformasi vektor DNA yang telah diisikan gen yang diinginkan ke dalam sel yang sesuai (seperti bakteri atau sel eukariot). Transformasi adalah proses di mana vektor DNA yang telah diisikan gen yang diinginkan diintroduksi ke dalam sel host yang sesuai. Ada beberapa metode yang digunakan untuk melakukan transformasi, diantaranya:

- a) Transformasi Elektroporasi.

Transformasi yang dilakukan untuk mengintroduksi vektor DNA ke dalam sel host dengan menggunakan arus listrik yang diterapkan pada sel. Arus listrik yang diterapkan pada sel akan menyebabkan pembukaan dari membran sel yang disebut dengan pembentukan "pori-pori" pada membran. Pori-pori ini akan memungkinkan untuk masuknya vektor DNA ke dalam sel.

- b) Transformasi Bakteri dengan metode CaCl_2 .

Transformasi ini digunakan untuk mengintroduksi vektor DNA ke dalam sel host bakteri dengan menggunakan garam CaCl_2 sebagai pengencer. Metode ini umumnya digunakan untuk transformasi bakteri, karena metode ini efektif untuk sel bakteri, namun tidak efektif untuk sel eukariot.

c) Transfaresis.

Transformasi menggunakan metode transfaresis ini digunakan untuk mengintroduksi vektor DNA ke dalam sel host dengan menggunakan partikel-partikel seperti liposom atau partikel koloid. Metode ini lebih efektif untuk mengintroduksi vektor DNA ke dalam sel eukariot dibandingkan dengan sel prokariot.

4. Seleksi dan Identifikasi Sel Lanjutan.

Tahapan seleksi dan identifikasi sel dimaksudkan untuk melihat sejauh mana tingkat keberhasilan dan keefektifan gen yang telah diintroduksi ke dalam vektor. Gen tersebut sudah mengalami penyisipan dan mengandung DNA rekombinan sesuai dengan keinginan peneliti. Gen tersebut dikenal sebagai “klon”. Tahapan dalam seleksi dan identifikasi klon ini adalah :

- a) Penambahan zat selektif.
- b) Identifikasi klon menggunakan teknik PCR.
- c) Verifikasi klon untuk memastikan sel yang diinginkan telah berhasil diintroduksi dengan vektor DNA yang mengandung gen yang diinginkan dengan metode seperti PCR, Southern blot, atau analisis sekuensing.
- d) Seleksi klon yang dilakukan dengan cara analisis ekspresi gen, uji fungsi gen, uji stabilitas gen, dan uji kerapatan gen.

5. Pemurnian dan analisis produk akhir.

Tahap pemurnian dan analisis produk akhir merupakan tahap terakhir dari teknologi DNA rekombinan. Tahapan ini dilakukan untuk menjamin bahwa produk akhir yang dihasilkan dari proses kloning adalah produk yang berkualitas tinggi dan dapat digunakan untuk aplikasi

yang diinginkan. Tahap ini terdiri dari beberapa langkah sebagai berikut:

- a) Pemurnian protein.
Isolasi dan purifikasi sel yang mengandung gen yang diinginkan. Hal tersebut dilakukan untuk melihat ekspresi gen yang muncul dan kesesuaian komposisi gen hasil dan produk protein yang terbentuk pada produk akhir.
- b) Pemurnian DNA.
DNA hasil dari gen yang diinginkan yang diisolasi dari sel yang diperoleh dan di purifikasi dengan metode yang sesuai seperti sentrifugasi, filtrasi, dan kromatografi.
- c) Analisis kualitas produk.
Produk yang dihasilkan di analisis untuk menjamin bahwa produk yang dihasilkan berkualitas tinggi dan sesuai dengan spesifikasi yang diinginkan. Ini meliputi analisis sekuens, uji kekeruhan, uji kadar protein, dan uji stabilitas.
- d) Analisis kuantitatif produk.
Produk yang dihasilkan di analisis untuk menentukan jumlah produk yang dihasilkan dan memastikan bahwa jumlah produk yang dihasilkan sesuai dengan yang diharapkan.

Setelah tahap ini, produk yang dihasilkan dari teknologi DNA rekombinan dapat digunakan untuk aplikasi yang diinginkan seperti terapi gen, produksi protein rekombinan, dan pembuatan vaksin. Produk yang dihasilkan dari teknologi DNA rekombinan juga digunakan dalam berbagai bidang seperti bioteknologi, kedokteran, dan pertanian.

2.5 Tantangan Teknologi DNA Rekombinan

Teknologi DNA rekombinan secara keseluruhan merupakan cakupan teknik, metode, dan alat yang sangat baik dan inovatif dalam biologi molekuler. Dengan segala kecanggihan yang dimilikinya, teknologi ini memungkinkan para ilmuwan untuk terus menghasilkan kreasi yang berdaya guna dan berdaya saing dengan mengaplikasikannya dalam berbagai aspek yang sangat luas. Namun, seperti halnya kemajuan pada berbagai bidang teknologi yang lain, pengaplikasian teknologi ini dikhawatirkan dapat menimbulkan masalah ketika berhadapan dengan etika dan keamanan yang mencakup keselamatan manusia dan organisme di alam semesta. Karena itu, pengembangan dan penggunaan teknologi ini diatur secara ketat oleh pedoman nasional dan internasional untuk memastikan bahwa teknologi ini memiliki standar maksimal untuk meminimalisir resiko yang dapat ditimbulkan terlebih terkait etika penerapannya pada manusia. Misalnya, mencakup potensi konsekuensi yang tidak diinginkan seperti dampak lingkungan atau efek samping kesehatan, serta potensi penyalahgunaan dalam aplikasi yang tidak sesuai.

Untuk menjamin keamanan dan etika dalam penggunaan teknologi ini, para ilmuwan harus terus melakukan riset dan mengevaluasi potensi dampak dari aplikasi teknologi ini. Selain itu, pendidikan dan komunikasi yang transparan dengan masyarakat juga penting untuk meningkatkan kesadaran dan pemahaman tentang potensi manfaat dan risiko dari teknologi DNA rekombinan.

DAFTAR PUSTAKA

- Andorno, R. (2005) 'Human dignity and the UNESCO Declaration on the Human Genome', *In J. Gunning & S. Holm (Eds.), Ethics, Law and Society*, (Vol. 1, pp. 73-84), Burlington, VT: Ashgate Publishing Company.
- Arras, J. (2016) 'Theory and bioethics', *The Stanford Encyclopedia of Philosophy*,
<http://plato.stanford.edu/archives/sum2016/entries/theory-bioethics>.
- Bader, J., Brigham, C., Stahl, U. and Popovic, M.K. (2018) 'Development of controlled cocultivations for reproducible results in fermentation processes in food biotechnology', *Advances in Biotechnology for Food Industry*, <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-811443-8.00005-0>
- Barrangou, R., & Dudley, E. G. (2016). 'CRISPR-Based Typing and Next-Generation Tracking Technologies', *Annual Review of Food Science and Technology*, 7, 395-411, doi: 10.1146/annurev-food-022814-015729.
- Berg, P., & Mertz, J. E. (2010). 'Personal reflections on the origins and emergence of recombinant DNA technology', *Genetics*, 184(1), 9-17,
<https://doi.org/10.1534/genetics.109.112144>
- Brown, T. A. (2020). 'Gene Cloning and DNA Analysis: An Introduction', *John Wiley & Sons*.
- Campbell, N.A. (2003) 'Biology'. 25th edn. Edited by G.F. Brooks et al. New York.: McGraw Hill Companies.
doi:<https://doi.org/10.1036/0071476660>.
- Chisholm, R. L. (1984). 'Recombinant DNA: A short course', by James D. Watson, John Tooze and David T. Kurtz, WH Freeman.

- De Ruiter, G.A., & Rudolph, B. (1997). 'Carrageenan Biotechnology', *Trends in Food Science & Technology*, 8(12), 389-395
- Khan, F. A. (2020). 'Biotechnology Fundamentals', *CRC Press*, Retrieved from <https://doi.org/10.1201/9781003024750>
- Kleinstiver, B. P., Pattanayak, V., Prew, M. S., Tsai, S. Q., Nguyen, N. T., Zheng, Z., & Joung, J. K. (2016). 'High-fidelity CRISPR-Cas9 nucleases with no detectable genome-wide off-target effects', *Nature*, 529(7587), 490–495. <https://doi.org/10.1038/nature16526>
- Mali, P., Yang, L., Esvelt, K. M., Aach, J., Guell, M., DiCarlo, J. E., Norville, J. E., and Church, G. M. (2013) 'RNA-guided human genome engineering via Cas9 *Science*', 339(6121), 823–826. <https://doi.org/10.1126/science.1232033>
- MIT (Massachusetts Institute of Technology). (2011) 'The Third Revolution: The Convergence of the Life Sciences, Physical Sciences, and Engineering', *MIT Washington Office*, <http://dc.mit.edu/sites/dc.mit.edu/files/MIT%20White%20Paper%20on%20Convergence.pdf>
- Naldini, L. (2015) 'Gene therapy returns to centre stage', *Nature*, 526(7573), 351-360, <https://doi.org/10.1038/nature15818>.
- Pranita, N. P., Novtarina, R., Nugroho, R. C., Himayani, R., & Ismunandar, H. (2021) 'Penerapan Bioteknologi DNA Rekombinan: Pengembangan Vaksinasi COVID-19', *Medical Profession Journal of Lampung*, 11(3), 300-305.
- Susmiarsih, T. P. (2018) 'Kajian DNA rekombinan pada vaksin DNA dan vaksin subunit protein', *Majalah Kesehatan Pharma Medika*, 10(2), 108-128.

BAB 3

TEKNOLOGI ENZIM

Oleh Andi Faridah Aarsal

3.1 Mengenal Enzim

Enzim merupakan salah satu jenis protein spesifik. Protein yang khusus berperan sebagai biokatalisator atau mempercepat terjadinya reaksi dalam sistem metabolisme. Berperan dalam anabolisme dan katabolisme. Terdapat baik pada organisme tingkat tinggi multiseluler maupun pada mikroorganisme uniseluler. Disintesis oleh sel hanya saat diperlukan yang merupakan fenotip dalam taraf fisiologi. Sama halnya dengan seluruh jenis protein lainnya, kode atau sandi seluruh ragam jenis (gen) enzim tersimpan di dalam kromosom. Lebih tepatnya sesuai dengan dogma genetika *one gen one polipeptida*, maka enzim merupakan biomolekul berupa protein berbentuk globular yang terdiri atas satu rantai polipeptida atau lebih dari satu rantai polipeptida.

Pada tahapan katabolisme, enzim merombak makromolekul menjadi molekul yang lebih sederhana. Molekul yang lebih sederhana yang dihasilkan kemudian dapat berperan sebagai bahan baku bagi sintesis makromolekul yang dibutuhkan tubuh. Sementara pada tahapan anabolisme, enzim menyusun atau mengikat suatu molekul menjadi molekul baru. Dengan demikian peran enzim dalam kehidupan amat luas, menyeluruh dan genting. Enzim membantu sel dalam hal

menyediakan bahan baku untuk sintesis makromolekul sekaligus membantu sel dalam hal konstruksi sel. Sebagai contoh enzim merombak makromolekul protein atau peptida menjadi molekul yang lebih sederhana yakni Asam Amino. Sebaliknya enzim berperan juga dalam rangkaian kompleks AA tersebut sebagai bahan baku untuk mensintesis protein baru yang akan dirakit sesuai kebutuhan sel atau tubuh. Aktivitas enzim dalam proses katabolisme, enzim sangat berperan dalam menjamin tersedianya energi yang cukup bagi proses konstruksi sel saat tahap anabolisme.

Lebih jelasnya sifat-sifat enzim secara umum dapat dikelompokkan ke dalam enam sifat sebagai berikut.

1. Enzim hanya mengubah kecepatan reaksi. Enzim tidak mengubah produk akhir yang dibentuk atau mempengaruhi keseimbangan reaksi, hanya meningkatkan laju suatu reaksi.
2. Enzim bekerja secara spesifik. Enzim hanya mempengaruhi substrat tertentu.
3. Enzim merupakan protein. Oleh karena itu, enzim memiliki sifat seperti protein yang disintesis oleh materi genetis. Kelainan pada materi genetis yang bertanggung jawab terhadap sintesis suatu enzim menyebabkan suatu kelainan yang bersifat turun temurun. Bekerja pada suhu optimum, umumnya suhu kamar. Enzim akan kehilangan aktivitasnya oleh beberapa hal seperti pH yang terlalu asam atau basa kuat, dan pelarut organik. Selain itu panas yang terlalu tinggi akan membuat enzim terdenaturasi sehingga tidak dapat berfungsi sebagaimana mestinya.
4. Enzim diperlukan dalam jumlah sedikit, sesuai dengan fungsinya sebagai katalisator.
5. Enzim bekerja secara bolak-balik. Reaksi-reaksi yang dikendalikan enzim dapat berbalik. Ini berarti enzim tidak menentukan arah reaksi tetapi hanya mempercepat laju

reaksi sehingga tercapai keseimbangan. Enzim dapat menguraikan suatu senyawa menjadi senyawa-senyawa lain, dan juga sebaliknya, menyusun senyawa-senyawa menjadi senyawa tertentu.

6. Enzim dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Aktivitas enzim dapat dipengaruhi oleh suhu, pH, aktivator (pengaktif), dan inhibitor (penghambat), serta konsentrasi substrat.

Enzim memiliki penamaan tersendiri. Pemberian nama enzim berdasarkan tata cara yang berlaku secara internasional. Penamaan enzim dapat secara trivial maupun berdasarkan sistem klasifikasi. Tata nama secara trivial dapat dikelompokkan berdasarkan pada substrat yang dikatalisis, produk yang terbentuk, substrat dan jenis mekanisme reaksi, produk yang disintesis dan berdasarkan jenis reaksi umum yang dikatalisis dengan enzim. Penamaan berdasarkan sistem klasifikasi sesuai dengan *Enzyme Commission* (EC) dari International Union of Biochemistry (IUB). berdasarkan substrat yang dikatalisis, penamaan enzim menerangkan substrat yang dikatalisis yang ditambahkan dengan kata “ase” di akhir suku katanya. Sebagai contoh enzim yang mengubah substrat maltosa diberi nama maltase, laktase dari laktosa, lipase dari lipid, fumarase dari fumarat. Pada beberapa enzim proteolitik, penamaannya berbeda yang diakhiri dengan “in”, seperti papain, bromelin, dan pepsin.

Enzim dapat diklasifikasikan berdasarkan tipe reaksi yang dikatalisis, dapat dilihat pada tabel 3.1 dan tabel 3.2 berikut.

Tabel 3.1. Klasifikasi Enzim Berdasarkan Tipe Reaksi

No	Kelas Enzim	Tipe reaksi
1	Oksidoreduktase	Reaksi reduksi oksidasi (transfer elektron dari satu substrat ke substrat lainnya)
2	transferase	Transfer atom atau gugus dari satu substrat ke substrat lain
3	Hidrolase	Reaksi hidrolisis (pemecahan ikatan karena adanya air)
4	Liase	Penambahan gugus fungsi pada ikatan rangkap (adisi) atau pemutusan ikatan rangkap dengan pelepasan gugus Fungsi
5	Isomerase	Reaksi isomerisasi (penyusunan ulang atom-atom substrat)
6	Ligase	Pembentukan ikatan C-C, C-S, C-O, dan C-N diikuti dengan pemutusan isofosfat dari ATP

Sumber: McMurry, J., and Castellion, M. E. 1992

Tabel 3.2. Pengelompokan Enzim sesuai Kelas

No	Kelas	SubKelas	Tipe reaksi yang dikatalisis
1	Oksidoreduktase	Oksidase	Oksidasi Substrat
		Reduktase	Reduksi substrat
		Dehidrogenase	Pelepasan atom hidrogen (H_2) sehingga terbentuknya ikatan rangkap
2	Tansferase	Transaminase	Transfer gugus amino antara substrat
		Kinase	Transfer gugus fosfat antara substrat
3	Hidrolase	Lipase	Hidrolisis gugus ester dalam lipid
		Protease	Hidrolisis gugus amida dalam protein
		Nuklease	Hidrolisis gugus fosfat dalam asam nukleat

No	Kelas	SubKelas	Tipe reaksi yang dikatalisis
4	Liase	Dehidrase	Kehilangan air
		Dekarboksilase	Kehilangan karbondioksida
5	Isomerase	Epimerase	Isomerisasi pada pusat kiral substrat
6	Ligase	Sintetase	Pembentukan ikatan baru dengan melibatkan ATP
		Karboksilase	Pembentukan ikatan baru antara substrat dan CO ₂ dengan melibatkan ATP

Sumber: McMurry, J., and Castellion, M. E. 1992

Terdapat bagian utama yang membedakan antara enzim dan jenis protein lainnya. Enzim terdiri atas dua komponen penyusun, yakni protein yang disebut apoenzim dan bagian tambahan non-protein yang disebut gugus prostetik. Apoenzim adalah komponen paling dominan dalam struktur enzim. Apoenzim juga bersifat labil karena mudah dipengaruhi oleh perubahan suhu dan pH, serta tidak tahan panas. Adapun gugus prostetik terdiri dari ion anorganik dan ion organik kompleks. Ion anorganik dalam gugus prostetik disebut sebagai kofaktor. Fungsi kofaktor ialah katalis yang mampu meningkatkan kerja enzim. Sedangkan ion organik dalam gugus prostetik disebut

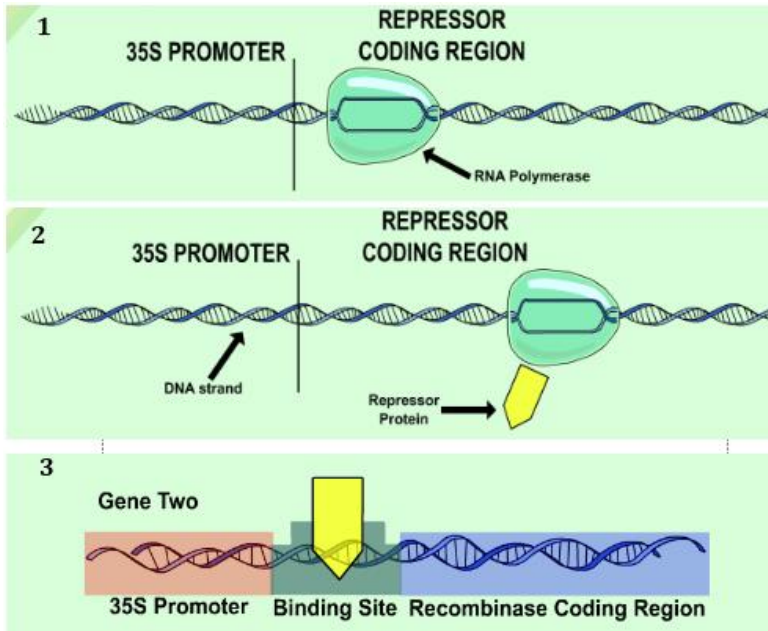
koenzim, yang berfungsi untuk memindahkan zat kimia dari satu enzim ke enzim lain. Selanjutnya peranan enzim secara rinci dapat diuraikan sebagai berikut.

1. Enzim sebagai biokatalisator

Enzim mengubah suatu molekul yang disebut substrat menjadi molekul lain yang disebut produk. Bukan cuma sekedar mengubah suatu molekul, tetapi pengubahan tersebut juga dipercepat. Kelebihan lainnya, enzim merupakan biokatalis yang dapat mempercepat proses pengubahan molekul dalam suatu reaksi tanpa ikut dalam reaksi tersebut. Dengan demikian walaupun enzim terlibat dalam proses reaksi pengubahan suatu substrat tak menyebabkan enzim tak habis bereaksi. Terdapat keunggulan-keunggulan enzim sebagai biokatalisator; enzim memiliki spesifitas tinggi, enzim mempercepat reaksi kimia tanpa membentuk produk samping, produktivitas tinggi dan dapat menghasilkan produk akhir yang tidak terkontaminasi.

2. Enzim sebagai represor

Represor merupakan protein yang bekerja sama dengan bagian gen yang berfungsi sebagai pengatur bagi ekspresi gen atau sintesis suatu protein. Kehadiran suatu enzim dalam suatu reaksi dapat pula berarti menghambat bagi disintesisnya suatu protein. Dapat pula Enzim berperan dalam terekspresinya protein represor yang akan menghambat disintesisnya suatu jenis protein tertentu. Proses kerja antara gen, enzim dan represor dapat dilihat pada Gambar 3.1. berikut.

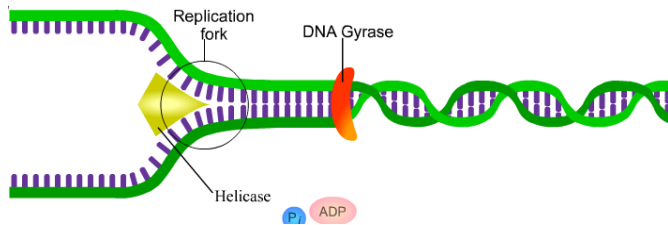


Gambar 3.1. Rangkaian proses peran enzim menghambat sintesis suatu jenis protein tertentu.
Sumber: animasi University of Nebraska Lincoln
(Makromedia flash player 7)

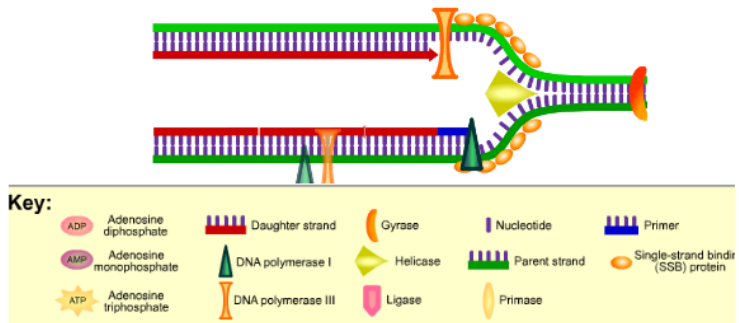
3. Enzim sebagai penentu ekspresi gen

Bagian terpenting dalam proses metabolisme terletak pada pusat penyimpanan kendali aktivitas sel. Pusat penyimpanan kendali yang dimaksud adalah gen yang merupakan molekul asam nukleat berupa Dioksiribo Nukleat Acid (DNA). Seluruh kode atau sandi yang tersimpan dalam pusat pengendalian aktivitas tersebut memerlukan mekanisme pengungkapan. Terdapat tiga rangkaian kompleks dalam tahapan mekanisme pengungkapan oleh DNA. Setiap tahapan dapat

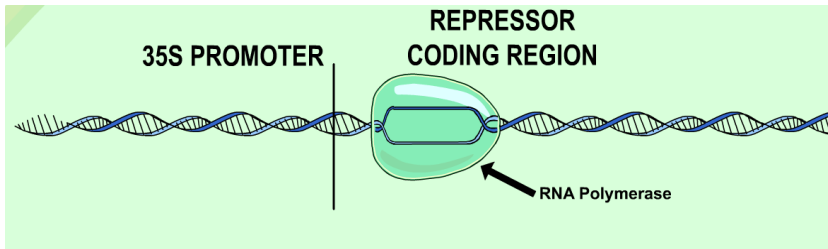
berlangsung hanya dengan bantuan serangkaian kerja kelompok enzim. Enzim-enzim yang berperan antara lain adalah Helikase yang berperan membuka pilinan DNA, DNA polimerase yang berperan membuat salinan (mensintesis) DNA dari deoksiribonukleotida. Ilustrasi tahapan pertama berupa proses replikasi DNA beserta enzim-enzim yang terlibat dapat dilihat pada gambar 2 berikut.



Gambar 3.2. Tahapan rangkaian replikasi
Sumber: animasi University of Nebraska Lincoln
(Makromedia flash player 7)



Gambar 3.3. Kelompok Enzim yang berperan selama proses replikasi berlangsung
Sumber: animasi University of Nebraska Lincoln
(Makromedia flash player 7)



Gambar 3.4. Tahapan Transkripsi yang dilakukan oleh enzim RNA Polymerase

Sumber: animasi University of Nebraska Lincoln
(Makromedia flash player 7)

4. Enzim berperan dalam memecah makromolekul (pencernaan)

Sistem pencernaan oleh tubuh terbagi atas pencernaan mekanik dan kimiawi. Pencernaan kimiawi melibatkan sejumlah enzim. Setiap makromolekul yang berasal dari nutrisi makanan yang disebut substrat akan diurai atau dipecah oleh enzim tertentu menjadi molekul yang lebih sederhana. Setiap jenis substrat berbeda akan diurai oleh jenis enzim tertentu yang berbeda pula.

Pencernaan oleh enzim bertujuan agar nutrisi dan seluruh molekul yang dibutuhkan sel dapat terserap dan dimanfaatkan dengan baik. Sebagai contoh; Lemak di usus dicerna oleh sekelompok enzim yang disebut lipase. Enzim yang mengubah pati atau karbohidrat menjadi gula adalah amilase yang terdapat dalam air liur. Kemudian enzim yang mengubah gula maltosa menjadi glukosa adalah maltase yang juga terdapat pada air liur. Tripsin yang terdapat pada usus halus memecah protein menjadi asam amino. Laktase: juga ditemukan di usus kecil mengurai laktosa atau gula dalam susu menjadi glukosa dan galaktosa.

Asetilkolinesterase mengurai neurotransmitter asetilkolin di saraf dan otot. Terdapat pula sekelompok enzim di organ hati yang berfungsi mengurai zat-zat beracun dalam tubuh.

5. Enzim berperan dalam pertahanan tubuh

Beberapa enzim berperan pula dalam pertahanan tubuh terhadap mikroorganisme seperti bakteri. Sebagai contoh lisosim yang merupakan enzim aktif dapat menghancurkan atau menguraikan dinding sel bakteri. Terdapat pada hasil sekresi beberapa sel tubuh seperti air mata dan air liur, terdapat pula pada putih telur.

6. Enzim berperan dalam konstruksi sel

7. Enzim berperan dalam pemenuhan energi bagi tubuh

Enzim-enzim yang termasuk ke dalam enzim hidrolase bekerja dalam penguraian senyawa adenosin triphospat melalui proses hidrolisis dengan adanya air.

8. Enzim berperan utama dalam keseimbangan

Keseimbangan yang terjadi baik di lingkungan eksternal maupun internal makhluk hidup telah disebutkan secara detil dan sangat jelas dalam surah alquran al Mulk ayat 3 dan 4. Keseimbangan internal dalam tubuh makhluk hidup terjadi karena proses metabolisme yang berlangsung dengan penuh keteraturan. Seluruh proses kompleks metabolisme hanya dapat berlangsung dengan bantuan enzim. Ketiadaan enzim tertentu dapat mengakibatkan terganggunya serangkaian proses tubuh hingga mengakibatkan suatu kelainan fisiologi dan morfologi. Sebagai contoh, alanya jenis enzim tirosinase mengakibatkan kelainan yang dikenal sebagai albinisme. Enzim tirosinase bertanggung jawab dalam proses pengubahan tirosin hingga menghasilkan zat melanin. Zat melanin sangat dibutuhkan tubuh terutama sel kulit dalam

hal sistem pertahanan fisiologi terhadap paparan sinar ultraviolet. Secara morfologi, seseorang dengan kelainan albinisme akan tampak sangat berbeda dibandingkan orang normal. Seluruh permukaan kulit dan rambut berwarna pucat, hingga mata yang berwarna pink atau merah oleh refleksi warna sel darah merah. Selain itu kemungkinan besar juga mengalami anomali pada beberapa organ tubuh.



Gambar 3.5. Ilustrasi Keseimbangan pada lingkungan eksternal dan internal makhluk hidup yang diwakili oleh sistem fisiologi tubuh manusia. Sumber: S.Q Al-Mulk:3-4 dan <https://www.google.com/search?q=gambar+anatomi+tubuh+manusia&oq=Gubahan+Andi+Faridah+Aarsal>.



Gambar 3.6. Larangan merusak keseimbangan secara tak langsung mencakup pada perintah memelihara kelestarian lingkungan serta menjaga kesehatan tubuh

3.2 Penerapan & Pemanfaatan Enzim

Enzim dapat berfungsi di luar sel hidup sebagai katalis biologis secara *in vitro*. Penerapan enzim telah dilakukan sejak zaman dahulu kurang lebih pada abad 18. Saat itu enzim yang digunakan berasal dari mikroba, tanaman maupun hewan. Berkembang pada industri pangan seperti pembuatan tape, minuman beralkohol, dan industri keju. Setelah abad 19 barulah terungkap dan diketahui secara persis mengenai reaksi katalis oleh enzim itu sendiri.

Seiring perkembangan ilmu pengetahuan terutama di bidang biologi molekuler dan bioteknologi, pemanfaatan enzim pun semakin meluas. Enzim telah dimanfaatkan secara luas pada berbagai bidang selain bidang pangan, diantaranya; bidang kesehatan, bioteknologi, penanganan masalah

pencemaran lingkungan, industri produk pertanian, kimia, dan lain-lain. Perkembangan pemanfaatan enzim dalam teknologi disebabkan oleh kelebihan enzim diantaranya enzim memiliki spesifitas tinggi, enzim mempercepat reaksi kimia tanpa membentuk produk samping, produktivitas tinggi dan dapat menghasilkan produk akhir yang tidak terkontaminasi sehingga mengurangi biaya purifikasi dan efek kerusakan lingkungan.

1. Di bidang kesehatan

Di bidang kesehatan, enzim telah digunakan untuk mengatasi berbagai kelainan dan penyakit, serta pencegahan penyakit. Beberapa contoh enzim yang biasa digunakan adalah enzim proteolitik (pepsin) untuk membantu mengobati gangguan gastrointestinal seperti dispepsia, enzim nuklease ekstraselular dari *Bacillus pyocyaneus* yang mampu membunuh *Bacillus anthracis*.

Pemanfaatan enzim di bidang kesehatan lebih mengarah pada pemanfaatan enzim sebagai agen terapi. Berbagai kelainan genetis yang tak dapat diobati dapat disembuhkan melalui pemberian enzim. Dengan terapi enzim penanganan masalah kesehatan terutama terkait penyakit jantung, kanker, gangguan pencernaan, infeksi virus dan bakteri serta penyakit keturunan semakin mudah diatasi.

2. Di bidang Pangan

Perkembangan industri pangan sangat dipengaruhi oleh pemanfaatan enzim sebagai bahan tambahan alami. Perkembangan ini sangat berkaitan dengan kemajuan di bidang teknologi bioreaktor. Memanfaatkan mikro-

organisme yang telah mengalami modifikasi DNA untuk menghasilkan enzim.

Proses pengolahan pangan berawal dari ketidaksengajaan penggunaan enzim. Sejak lama sudah diterapkan dalam pembuatan kecap, tape, yogurt, keju, minuman beralkohol tanpa pemahaman kerja enzimatik. Tanpa kesengajaan proses enzimatik tetap berlangsung disebabkan karena enzim sudah ada dalam kandungan bahan itu sendiri yang disebut endogenous. Ketatnya persaingan dan tuntutan peningkatan kuantitas dan kualitas produksi dalam industri pangan menjadikan diperlukannya penambahan enzim eksogenous. Keuntungan yang dapat diperoleh dengan penambahan enzim terutama dalam hal perbaikan mutu produk, memperoleh cita rasa baru, mendapatkan hasil yang diharapkan dalam waktu yang lebih singkat, penghematan biaya dan lain-lain.

Industri Pembuatan roti dan produk fermentasi lainnya telah memanfaatkan pula enzim untuk peningkatan kualitasnya, selain karena mulai dibatasinya penggunaan tambahan bahan kimia. Penambahan enzim pada tepung dan adonan membantu mempercepat proses pematangan. Enzim biasanya ditambahkan untuk modifikasi dough rheology, retensi udara dan melembutkan remahan pada produksi pembuatan roti, untuk modifikasi dough rheology pastry dan biskuit, untuk mengubah kadar kelembutan produk pada pembuatan kue.

3. Di bidang bioteknologi

Perkembangan bioteknologi terutama dalam rekayasa genetika memungkinkan diproduksi enzim yang dibutuhkan dalam jumlah besar. Pemanfaatan

organisme yang telah melalui rekayasa genetika dikembangkan sebagai bioreaktor ataupun molekuler farming. Hal tersebut dimaksudkan bahwa organisme tersebut digunakan sebagai wahana untuk memproduksi protein yang memiliki nilai industri seperti enzim. Sebagai contoh memanfaatkan mikroorganisme, tumbuhan, dan hewan dalam menghasilkan enzim protease. Enzim Protease merupakan enzim penting dan memiliki nilai ekonomi yang tinggi, karena aplikasinya yang sangat luas. Industri pengguna protease diantaranya ialah industri deterjen, kulit, tekstil, makanan, hidrolisat protein, pengolahan susu, farmasi, bir, dan limbah. Protease tumbuhan yang dikenal antara lain papain, bromealin, keratinase. Protease hewan yang paling dikenal adalah tripsin, kimotripsin, pepsin dan rennin. Enzim-enzim ini walaupun dapat diperoleh dalam keadaan murni dengan jumlah besar, pemanfaatan tumbuhan maupun hewan sebagai molekuler farming sangat terbatas. Menumbuhkan tanaman dan beternak hewan selain memerlukan lahan yang luas juga memerlukan energi dan modal yang besar. Selain itu, produksi protease dari tumbuhan dan hewan membutuhkan waktu yang lama. Enzim protease yang digunakan dalam bidang industri umumnya dihasilkan oleh mikroorganisme.

4. Kelestarian Lingkungan

Seiring peningkatan aktivitas manusia, lingkungan mengalami kondisi darurat limbah. Baik oleh limbah padat maupun limbah cair. Jika kondisi tersebut tak segera memperoleh penanganan serius, maka dampaknya akan kembali kepada manusia sendiri. Kelestarian lingkungan terancam oleh terganggunya kestabilan habitat, siklus

hidup berbagai organisme yang hidup di dalamnya, dan berbagai ketidakstabilan lainnya yang disebabkan oleh pencemaran. Pemanfaatan enzim dalam mengurangi pencemaran lingkungan khususnya terkait pengolahan limbah industri diterapkan dalam cara bioremediasi. Melalui cara bioremediasi, polutan penyebab pencemaran akan diubah strukturnya oleh enzim-enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme. Enzim-enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme memodifikasi polutan beracun dengan mengubah struktur kimia polutan tersebut, reaksi ini disebut biotransformasi. Proses biotransformasi adalah terjadinya proses biodegradasi pada zat polutan. Polutan beracun terdegradasi strukturnya menjadi tidak kompleks, dan menjadi metabolit yang tidak berbahaya dan tidak beracun. Proses bioremediasi telah berkembang pada proses recovery limbah buangan yang berbahaya berupa senyawa-senyawa kimia.

Adapun penanganan terhadap limbah padat dapat dilakukan dengan berbagai cara tergantung pada jenis limbah padatnya. Pada limbah pertanian seperti jerami yang akan makin menumpuk setiap kali masa panen, dilakukan proses penguraian hidrolisis menggunakan enzim selulase. Pemanfaatan selulase untuk mengurai jerami padi limbah pertanian. Seperti yang telah dilakukan Kodri (2013) dalam penelitiannya dengan memanfaatkan Enzim Selulase dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* sebagai Katalisator Hidrolisis Enzimatis Jerami Padi.

DAFTAR PUSTAKA

- Arsal, Andi Faridah. 2018. Genetika I (Arif Memahami Genetika). Penerbit UNM: Makassar.
- McMurry, J., and Castellion, M. E. 1992. Fundamental of General Organic and Biological Chemistry, Prentice Hall Inc., New Jersey, p. 528-545.
- Gonzales, N. J., Isaacs, L. L. 1999. Evaluation of pancreatic proteolytic enzyme treatment of adenocarcinoma of the pancreas with nutrition and detoxification support. *Nutrition and Cancer*, 33, 117-124
- Kodri, dkk. 2013. Pemanfaatan Enzim Selulase dari *Trichoderma Resееi* dan *Aspergillus Niger* sebagai Katalisator Hidrolisis Enzimatik Jerami Padi dengan Pretreatment Microwave. *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis* Vol. 1 No. 1, April 2013
- Jerzy dan Jean. 2000. Pesticide Biotransformation in Plants and Microorganisms, ACS Symposium Series, 777 (10), pp : 182-193.
- Moon dan Parulekar, 1993. Same observation on protease producing in continuous suspension cultures of *Bacillus firmus*. *Biotech. Bioeng*, 1993,41 :43-54.
- Nadeem MT, Butt MS, Anjum FM and Asgher M. Improving Bread Quality by Carboxymethyl Cellulase Application. *Int. Journal. Agric. Biol. Department of Biochemistry, University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan.*, 2009. 11. 727-730
- Susanti VH. E.. 2003. Isolasi dan Karakterisasi Protease dari *Bacillus subtilis* 1012M15, *Biodiversitas*, 4, 1, 12-17.

Sarah, Putra SR., Putro HS. Isolasi α -Amilase Termostabil Dari Bakteri Termofilik. Prosiding Kimia FMIPA. Institut Teknologi Sepuluh Nopember. 2009.

Hochachka & Somero. 1984. Biochemical Adaptation. Princeton University Press: New Jersey.

BAB 4

MANFAAT MIKROBIOORGANISME SEBAGAI MODEL DAN SARANA APLIKASI BIOTEKNOLOGI

Oleh Angga Aditya Permana

4.1 Pendahuluan

Saat kita ingin memelihara hewan, maka kita akan mencari informasi lengkap terkait cara merawat, bagaimana cara memberi makan, bagaimana cara membersihkan kandang dan informasi lainnya. Saintis menemukan permasalahan yang sama. Ketika berencana akan menggunakan objek dalam penelitian, saintis perlu mengetahui berbagai hal tentang objek penelitian tersebut. Objek penelitian memiliki jumlah yang tidak terhingga, sehingga tidak semua objek dapat dipelajari dan untuk mempelajarinya juga membutuhkan waktu yang cukup panjang. Sebagian besar saintis menggunakan objek penelitian yang sudah diketahui karakteristiknya dengan baik atau biasa disebut dengan organisme model, salah satunya adalah mikroorganisme (Bustos-Diaz, 2020).

Organisme model adalah spesies non-manusia yang dipelajari secara ekstensif untuk memahami serangkaian fenomena biologis. Organisme model merupakan salah satu komponen kunci dalam melakukan penelitian, terutama jika dilakukan dalam bidang biologi kontemporer. Penggunaan model ini memungkinkan pembentukan pengetahuan biologi karena data dan teori yang dihasilkan oleh organisme model

dapat diterapkan pada organisme lain. Beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam pemilihan organisme model, sebagai berikut: (1) apa yang diwakili oleh organisme model, (2) bagaimana organisme model dapat mewakili, (3) bagaimana hubungan organisme model dengan konteks eksperimen yang digunakan (Ankeny and Leonelli, 2020).

4.2 Bakteri Sebagai Organisme Model

Bustos-Diaz (2020) menjelaskan bahwa bakteri, seperti semua makhluk hidup lainnya, terbuat dari sekumpulan bahan kimia. Meskipun ada banyak jenis bahan kimia di dalamnya, dua yang paling penting adalah DNA dan protein. Molekul DNA menyimpan informasi genetik suatu organisme. Informasi genetik inilah yang memberikan identitas pada organisme hidup, seperti warna bunga atau bentuk mata seseorang. Daerah DNA yang bertanggung jawab untuk ini dan banyak fungsi lainnya disebut gen.

Protein juga merupakan bahan kimia, tetapi fungsinya lebih beragam. Sementara DNA seperti daftar resep, protein adalah kue yang sebenarnya. Protein datang dalam berbagai bentuk dan ukuran dan dapat melakukan banyak fungsi yang berbeda, tetapi hal penting untuk diketahui adalah bahwa mereka dikodekan dalam DNA, dalam gen yang telah saya ceritakan, dan jika suatu organisme mengalami perubahan dalam urutan DNA-nya, protein dapat diubah secara signifikan, terkadang menjadi lebih baik, di lain waktu menjadi lebih buruk.

Setiap organisme memiliki DNA dan protein, tetapi yang membuat bakteri istimewa adalah mereka tidak memiliki banyak molekul ini. Bakteri memang memiliki ribuan gen dan protein, tetapi dengan jumlah yang relatif rendah dibandingkan

dengan ratusan ribu gen dan protein yang dimiliki hewan atau tumbuhan. Karena relatif sederhana, sedikit lebih mudah untuk memahami fungsi dan interaksi gen dan protein bakteri. Jumlah protein dan gen yang rendah juga berarti bahwa bakteri pada umumnya adalah organisme yang lebih sederhana. Sementara organisme lain mungkin memiliki organ yang didedikasikan untuk respirasi atau pencernaan makanan, bakteri melakukan semuanya sekaligus dalam satu organ mereka yaitu sel. Setiap sel bakteri adalah organisme utuh di dalam dan dari dirinya sendiri.

4.2.1 *Escherichia coli*

E. coli adalah bakteri yang tak terbantahkan menjadi mikroorganisme model. *E. coli* digunakan untuk hampir semua hal, mulai dari studi tentang siklus hidup bakteri hingga eksperimen tentang cara bakteri berperilaku dalam suhu yang sangat dingin. Bakteri kecil dan bulat ini (Gambar 1a), ditemukan oleh dokter Theodor Escherich pada tahun 1885, telah digunakan dalam banyak percobaan yang membantu kita memahami cara kerja bakteri: cara mereka makan, cara mereka bereproduksi, pertanyaan tentang gen dan protein mereka dan lain sebagainya. Jadi, dapat dikatakan bahwa mikrobiologi modern telah dibangun di atas "bahu" *E. coli*. *E. coli* biasanya ditemukan di usus kita, di mana mereka hidup tanpa membahayakan kita, walaupun beberapa galur *E. coli* diketahui menyebabkan diare dan penyakit gastrointestinal lainnya. Galur *E. coli* yang digunakan di laboratorium tidak berbahaya.

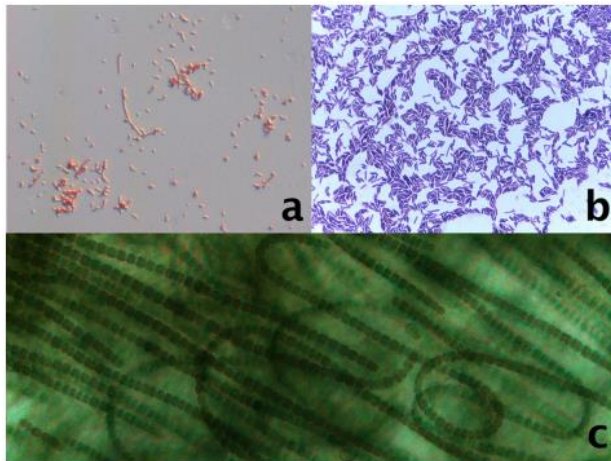
4.2.2 *Bacillus subtilis*

Bacillus dikenal dengan kemudahan para ilmuwan untuk memanipulasi gennya, yang memungkinkan kita untuk menyelidiki fungsi dari banyak gen tersebut. Karakteristik lain yang menarik dari bakteri ini adalah menghasilkan struktur yang disebut endospora, yang merupakan bentuk seluler khusus yang memungkinkannya bertahan bahkan ketika kondisinya tidak terlalu baik untuk pertumbuhannya. Sedangkan *Bacillus* bukan satu-satunya organisme yang bisa membuat endospora, sebagian besar penelitian menyelidiki bagaimana bentuk endospora dilakukan di *Bacillus*. Bakteri ini ditemukan di dalam tanah dan memiliki bentuk seperti batang (Gambar 1b), seringkali dengan endospora ditemukan di salah satu ujungnya.

4.2.3 *Mycobacterium tuberculosis*

Bakteri ini menyebabkan tuberculosis (TBC), penyakit yang dulunya sangat mematikan. Banyak penelitian yang dilakukan dengan menggunakan *Mycobacterium* mengajarkan kita bagaimana menggunakan bahan kimia yang dapat membunuh bakteri berbahaya. Meskipun tuberculosis tidak mematikan seperti dulu, sekarang ada galur *Mycobacterium* yang resistan terhadap obat. Galur ini berbahaya, karena dapat bertahan hidup dengan adanya banyak antibiotik. Saat ini, banyak penelitian yang dilakukan dengan menggunakan *Mycobacterium* difokuskan untuk mempelajari bagaimana ia menginfeksi manusia, bagaimana bakteri berinteraksi dengan antibiotik, dan bagaimana kita dapat mempertahankan diri dari mereka. Bidang penelitian lain yang menggunakan *Mycobacterium* adalah studi tentang komunitas bakteri. Komunitas bakteri adalah sekumpulan sel *Mycobacterium*

individu yang melekat erat satu sama lain oleh senyawa kimia khusus yang diproduksi oleh bakteri, yang disebut asam *mycolic*. Kumpulan sel *Mycobacterium* ini terlihat seperti tali, dengan sel-sel individual saling melilit satu sama lain dengan cara yang tidak teratur.



Gambar 4.1. Struktur beberapa bakteri yang digunakan sebagai organisme model, (a) *E. coli*, (b) *Bacillus subtilis*, dan (c) *Nostoc*.

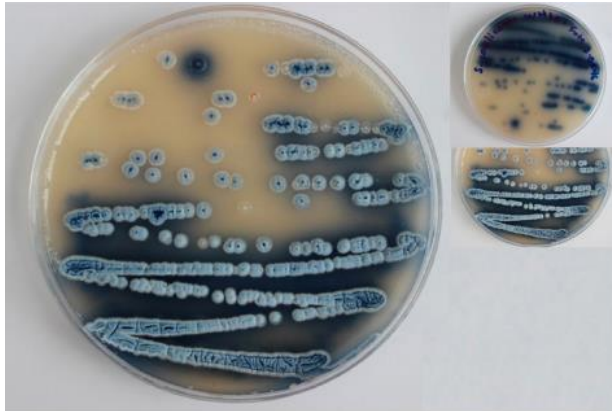
4.2.4 Streptomyces

Anda mungkin tahu antibiotik sebagai zat yang membunuh bakteri, tetapi tahukah Anda bahwa beberapa bakteri benar-benar menghasilkan antibiotik? *Streptomyces* adalah produsen antibiotik yang hebat. Selama sekitar 20 tahun, bakteri ini dipelajari secara intensif dan digunakan untuk menghasilkan banyak antibiotik baru. Berkat pekerjaan itu, kami sekarang tahu lebih banyak tentang bagaimana antibiotik dibuat dan tentang gen dan protein yang terlibat. *Streptomyces* juga telah digunakan untuk mempelajari bagaimana sel bakteri berkembang. Bakteri ini dapat

menghasilkan sel-sel khusus yang disebut spora, bersama dengan filamen panjang bercabang yang tumbuh keluar dari sel, yang disebut hifa. Struktur tersebut memberikan *Streptomyces* tampilan yang unik berupa sel yang memanjang, dengan hifa bercabang yang terkadang memiliki spora bulat di sekelilingnya, membuat sel terlihat seperti cipratan berwarna (Gambar 2), karena susunan bahan kimia yang dihasilkannya. *Streptomyces* dapat ditemukan hidup di banyak habitat darat.

4.2.5 *Cyanobacteria*

Cyanobacteria sebenarnya terdiri dari seluruh kelompok bakteri terkait, yang disebut filum. Dalam suatu filum, semua organisme memiliki beberapa karakteristik dan, dalam kasus *cyanobacteria*, karakteristik yang sama adalah warna hijaunya yang hidup. Penampilan hijau besar mereka disebabkan oleh protein yang disebut klorofil, yang memungkinkan *Cyanobacteria* melakukan fotosintesis. Fotosintesis adalah proses yang banyak dipelajari pada tanaman. Seperti tumbuhan, *Cyanobacteria* dapat menggunakan fotosintesis untuk mengubah energi matahari menjadi energi kimia, yang kemudian mereka gunakan untuk memberi tenaga pada diri mereka sendiri. Para ilmuwan telah mempelajari protein dan gen di *Cyanobacteria* yang memungkinkannya melakukan fotosintesis. Beberapa tahun terakhir terdapat minat yang lebih besar pada *Cyanobacteria* karena orang berpikir tentang energi terbarukan. Saat ini banyak penelitian yang berusaha mempelajari bagaimana memanfaatkan potensi fotosintesis *Cyanobacteria* untuk aplikasi industri. *Cyanobacteria* dapat ditemukan hampir di mana-mana, dan banyak spesies *Cyanobacteria* memiliki struktur yang unik (Gambar 1c), tetapi semuanya berwarna hijau, berkat klorofilnya.



Gambar 4.2. Kultur *Streptomyces coelicolor*

4.3 Masa Depan Mikroorganisme Model

Mikroorganisme seperti khamir dan bakteri digunakan pada penelitian dan industry untuk kloning gen, replikasi DNA, produksi protein hasil purifikasi (Keeney, 2007). Paradigma komunitas riset besar yang secara kolektif mengerjakan sejumlah kecil bakteri model seperti *E. coli* dan *B. subtilis* sedang berubah. Sementara bakteri model klasik ini akan terus menjadi penting untuk biologi dengan sistem yang lebih canggih dan pengembangan teknologi baru. Solusi berbasis mikrobiologi telah diusulkan untuk banyak tantangan planet kita yang paling mendesak termasuk kesehatan manusia, pertanian berkelanjutan, biomanufaktur, dan pengelolaan lingkungan. Dalam rangka memenuhi tantangan ini maka memerlukan penyelidikan genetik molekuler dari sejumlah besar bakteri yang tidak ada literaturnya, misalnya anggota mikrobioma kompleks yang baru diisolasi atau pengembangan inang autotrofik baru untuk rekayasa metabolisme bahan kimia canggih. Investigasi bakteri baru menimbulkan tantangan yang unik, yang paling jelas adalah kurangnya komunitas penelitian dengan alat genetik yang tersedia, koleksi galur, dan kekayaan

akumulasi pengetahuan, seperti yang telah dikembangkan di *E. coli* dan *B. subtilis*. Oleh karena itu, menerjemahkan potensi bakteri yang belum dipelajari secara molekuler ini ke dalam aplikasi akan terhambat kecuali kita mempercepat pengembangan bakteri model baru (Liu and Deutschbauer, 2018).

Peran khusus organisme model dalam biologi kontemporer tidak dapat disangkal. Kemampuan untuk mengurutkan genom spesies kunci dengan jelas memperbesar peran mereka sebagai platform untuk penelitian biologi integratif. Menjelang akhir abad lalu, *Caenorhabditis elegans*, *E. coli*, dan *Arabidopsis thaliana* telah menjadi organisme pertama yang urutan DNA-nya lengkap, sehingga membuka ruang yang sama sekali baru untuk penelitian yang ditujukan untuk menguraikan kode, yang meskipun sekarang sudah dirinci masih membutuhkan banyak interpretasi. Pentingnya asumsi implisit tentang konservasi evolusioner, visi pengurutan genomik sebagai alat yang sangat diperlukan untuk penelitian biologi, dan komitmen lainnya, jelas memengaruhi pilihan organisme model: misalnya, spesies yang genom kecilnya lebih dapat menerima analisis molekuler terperinci (seperti *A. thaliana*) lebih disukai daripada spesies dengan genom besar. Misalnya, meskipun jagung (*Zea mays*), sangat populer sebagai organisme penelitian pada 1950-an dan 1960-an karena kromosomnya yang besar terlihat di bawah mikroskop, ia memiliki genom besar yang tidak dapat ditelusur untuk pendekatan berbasis pengurutan. Tetapi terkait erat dengan faktor-faktor teknologi dan material semacam ini adalah serangkaian elemen kelembagaan, sosial, dan konseptual yang berkontribusi pada penelitian organisme model, seperti yang didokumentasikan di seluruh elemen ini. Ini pada gilirannya mempengaruhi cara-cara di mana penelitian yang berpusat pada organisme model telah dilakukan, dengan komitmen yang

terkait dengan adopsi organisme model sebagai model yang semakin mengakar dari waktu ke waktu dalam pendekatan ahli biologi untuk praktik eksperimental. Dengan munculnya teknologi pengurutan baru, ukuran genom cenderung tidak memengaruhi pilihan organisme mana yang paling cocok untuk eksperimen dan bentuk penelitian lainnya di bidang tertentu. Faktor lain, seperti variabilitas alami atau potensi dampak lingkungan atau komersial suatu spesies, menjadi lebih menonjol (Ankeny and Leonelli, 2020).

Penggunaan organisme model sebagai referensi untuk perbandingan antar spesies yang sangat beragam, termasuk beberapa yang sangat berbeda dari model itu sendiri sering disorot sebagai tren utama dalam biologi kontemporer dan salah satu alasan utama pentingnya organisme model. Kemampuan untuk menggunakan organisme model dengan cara ini telah diperkuat dengan tersedianya produksi data *throughput* tinggi dan metode komputasi yang semakin canggih untuk penyimpanan dan analisis data. Ini termasuk konstruksi dan penyelarasan jaringan genom referensi; pengembangan sistem gudang data yang kuat, seperti Intermine, dibuat khusus untuk mengintegrasikan dan menganalisis data biologis yang kompleks, dan secara historis didasarkan pada upaya jangka panjang untuk menghubungkan database model organisme; pembangunan sistem anotasi *crowdsourced* standar untuk genom referensi, seperti sistem Chado, yaitu ketika peneliti dapat berkontribusi dan membandingkan data, metadata, dan latar belakang pengetahuan; dan penggunaan antarmuka pemrograman untuk mencocokkan profil genotip dan fenotipik yang memfasilitasi perbandingan antara organisme model dan non-model, serta antara organisme model dan manusia untuk tujuan klinis (Bustos-Diaz, 2020).

Seharusnya tidak mengherankan bahwa organisme model terus memainkan peran epistemik penting dalam konteks ini. Pendekatan komparatif sangat penting bagi bagaimana para peneliti organisme model telah membuat konsep dan melaksanakan pekerjaan mereka selama lima puluh tahun terakhir. Jauh dari menjadi komponen baru penelitian organisme model karena ketersediaan teknologi baru, peluang untuk membandingkan spesies model dengan jenis organisme yang lebih beragam selalu dianimasikan dengan cara ini. Sepanjang tahun 1980-an, 1990-an, dan 2000-an, orang menemukan sejumlah besar publikasi ilmiah yang mengeksplorasi peluang untuk perbandingan tidak hanya di antara galur organisme model tertentu, tetapi juga dengan spesies serupa, seringkali dalam keluarga yang sama. Dengan demikian, di satu sisi, penelitian organisme model bertujuan untuk melakukan perbandingan antar organisme serupa sebagai langkah pertama menuju latihan perbandingan yang lebih luas dan untuk mengetahui alat, pengetahuan, dan sumber daya mana yang benar-benar dibutuhkan untuk memenuhi tujuan ini. Di sisi lain, upaya untuk mengembangkan alat, standar, dan infrastruktur untuk memfasilitasi perbandingan di antara spesies yang sangat berbeda juga telah mendukung sejarah penelitian organisme model sejak awal, termasuk fokus pada pemahaman kondisi di mana integrasi data berasal dari berbagai organisme model mungkin dan informatif. Beberapa inisiatif bersama terjadi pada 1990-an hingga 2000-an, yang menyatukan perwakilan dari komunitas organisme model yang berbeda untuk merancang cara berbagi data dan membandingkan wawasan. Inisiatif ini termasuk, misalnya, pengembangan ontologi gen yang mencakup semua organisme model utama dan database organisme model generik (Ankeny and Leonelli, 2020).

Penumpukan keahlian dan sumber daya yang memfasilitasi analisis komparatif ini menghasilkan ledakan makalah yang menggunakan organisme model untuk memahami ciri-ciri dari apa yang sering dicirikan sebagai organisme 'non-model'. Misalnya, thale cress *A. thaliana* digunakan untuk mempelajari vernalisasi dan metabolisme pada spesies tanaman penting seperti jelai dan padi, dan hasil energi pada rumput dengan pertumbuhan cepat dan biomassa tinggi seperti rumput gajah Afrika *Miscanthus* yang dianggap sebagai biofuel yang memungkinkan. Kemampuan untuk membangun cetak biru yang luas yang disediakan oleh kerja organisme model, dan pengetahuan serta alat terkait, tidak diragukan lagi telah mempercepat penemuan pada spesies lain dan membuka jalan menuju pendekatan sistematis dan integratif untuk mempelajari keanekaragaman hayati. Dalam pengertian ini, 'pembingkaian ulang' penelitian organisme model saat ini sebagai referensi untuk latihan komparatif yang jauh lebih luas bukanlah pembingkaian ulang sama sekali, melainkan puncak dari program kerja biologis ini dan penalaran serta sumber daya yang mendasarinya. Meningkatnya peluang untuk pendekatan komparatif lintas spesies tidak serta merta mengalihkan perhatian dari penelitian organisme model, tetapi mengubah persepsi tentang perannya dalam biologi. Alih-alih berfungsi sebagai pengganti organisme lain, organisme model sekarang secara eksplisit digunakan sebagai dasar untuk perbandingan lintas spesies. Alat komparatif menjadi bagian tak terpisahkan dari apa artinya organisme model untuk mewakili seluruh organisme dan organisme lain. Peran-peran ini tidak akan mungkin terjadi tanpa dukungan dari berbagai komponen repertoar organisme model (Keeney, 2007).

Alat komparatif, dan data genotipik dan fenotipik besar terkait, memfasilitasi identifikasi perbedaan dan persamaan di antara spesies. Penekanan pada perbedaan telah memungkinkan penyelidikan sistematis terhadap bentuk dan sumber variasi biologis yang signifikan dan kecil, termasuk variasi di antara spesimen dan galur organisme model. Garis penelitian ini memberikan cara untuk mengatasi salah satu keterbatasan kemampuan organisme model untuk 'mewakili', yaitu, standarisasi tingkat tinggi dari spesies dan galur yang digunakan dan idealisasi yang diakui dengan baik yang melekat dalam melakukan budidaya mereka di pengaturan laboratorium. lebih efisien dan karenanya penggunaannya lebih mudah diatur. Oleh karena itu, baru-baru ini ada minat yang kuat dalam menilai keterbatasan galur organisme model yang umum digunakan. Misalnya, dalam kasus nematoda *C. elegans*, percobaan telah mendokumentasikan tekanan selektif yang tampaknya mengarah pada fiksasi alel turunan laboratorium untuk gen tertentu dalam galur penelitian tipikal yang telah memengaruhi sejumlah besar sifat serta perilaku yang pada gilirannya memengaruhi interpretasi eksperimental. Selain itu, efek fenotipik yang kuat yang disebabkan oleh alel yang diturunkan dari laboratorium ini diklaim menghambat penemuan alel 'alami'. Oleh karena itu, dengan *C. elegans* dan organisme model lainnya, terdapat perhatian baru untuk membandingkan hasil di lingkungan laboratorium yang berbeda, termasuk perbandingan terkait nutrisi, tempat tinggal, proses pemuliaan, dan sejauh mana mereka berinteraksi dengan organisme lain di lingkungan laboratorium termasuk mikroba (Ankeny and Leonelli, 2020).

Upaya ini disertai dengan lebih fokus pada pendokumentasian dan mempelajari varian alami dari berbagai spesies organisme model di seluruh dunia dan membandingkan spesimen stok dengan spesimen 'liar'. Misalnya, *Caenorhabditis*

elegans *Natural Diversity Resource* yang baru didirikan bertujuan untuk mengisolasi dan mengumpulkan galur liar dari berbagai lingkungan alam. Ini menyediakan sekuens luas genom dan data varian untuk setiap strain serta alat terintegrasi untuk analisis komparatif untuk mendukung studi tentang bagaimana populasi individu berbeda secara genetik satu sama lain dan bagaimana perbedaan tersebut dapat memengaruhi penyakit, terutama mengingat bidang medis dan pertanian (Liu and Deutschbauer, 2018).

DAFTAR PUSTAKA

- Ankeny, R. and Leonelli, S. (2020) *Model Organisms, Model Organisms*. Available at:
<https://doi.org/10.1017/9781108593014>.
- Bustos-Diaz, E.D. (2020) 'What Are Model Microorganisms?', *Frontiers for Young Minds*, 7. Available at:
<https://doi.org/10.3389/frym.2019.00145>.
- Keeney, J.B. (2007) 'Microorganisms: Applications in Molecular Biology', *eLS* [Preprint]. Available at:
<https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0000971.pub2>.
- Liu, H. and Deutschbauer, A.M. (2018) 'Rapidly moving new bacteria to model-organism status', *Current Opinion in Biotechnology*, 51(2), pp. 116–122. Available at:
<https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.12.006>.

BAB 5

PRODUK-PRODUK BIOTEKNOLOGI YANG MENGGUNAKAN SYSTEM MIKROORGANISME

Oleh M. Noris

5.1 Pendahuluan

Bioteknologi telah mengalami fluktuasi dan perkembangan yang sangat pesat dari model konvensional sampai modern. Bioteknologi konvensional memanfaatkan mikroorganisme untuk melakukan proses fermentasi, seperti pembuatan tempe, tape, tahu, dan oncom. Sedangkan bioteknologi modern tetap menggunakan mikroorganisme, namun memanfaatkan proses lain seperti penambahan biokimia dan rekayasa DNA. Dalam hal ini semakin banyak pemanfaatan mikroorganisme untuk perkembangan produk-produk bioteknologi.

Bioteknologi adalah penggunaan organisme biologis dalam proses teknologi. Ia hampir setara peradaban itu sendiri, meskipun baru disebut "bioteknologi" pada abad ke-20. Jauh dari meninggalkannya di abad ke-21.

5.2 Mikrobiologi Teknologi Pangan

Meskipun penerapan teknik bioteknologi untuk industri pengolahan makanan dan agroindustri, yang terjadi sebelum kemajuan teknologi tahun 1970-an, tren saat ini

menggabungkan penggunaan mikroorganisme hasil rekayasa genetika atau bahkan penggunaan enzim, pewarna, dan senyawa lain yang diperoleh. dari metabolisme mikroba dengan tujuan meningkatkan produktivitas, meningkatkan karakteristik organoleptik, atau bahkan menghubungkan fungsi nutrisi baru dengan makanan tertentu. Rekayasa genetika telah digunakan untuk memodifikasi sifat ragi dan ragi alami, meningkatkan kinerjanya dalam proses fermentasi.

Pemilihan ragi penghasil β -lyase meningkatkan pelepasan tiol aromatik dan, akibatnya, sifat sensorik anggur (Belda et al., 2016), sedangkan pemilihan ragi yang berspesialisasi dalam proses tertentu seperti flokulasi dapat meningkatkan fermentasi anggur khusus seperti itu. sebagai anggur bersoda (Tofalo et al., 2016). Prospek keberadaan bakteri asam laktat dalam produk yang difermentasi dengan berbagai kultur (Satish et al., 2013; Mokoena et al., 2016) telah menciptakan sumber probiotik baru dan penemuan strain yang dapat meningkatkan kualitas produk fermentasi. Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang dikaitkan dengan manfaat kesehatan inang (Gawkowski dan Chikindas, 2016).

Saat ini, mikroorganisme probiotik yang paling dikenal adalah yang termasuk dalam genera *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* (Prasad et al., 2000). Secara historis digunakan untuk menghasilkan produk susu fermentasi, strain tertentu dari kedua genera semakin banyak digunakan untuk memformulasikan makanan fungsional. Hasil dari fenomena ini adalah peningkatan jumlah makanan probiotik yang tersedia di pasaran, termasuk minuman probiotik non-susu yang berkembang pesat (Enujiughda dan Badejo, 2017).

Sejumlah persiapan enzim asal mikroba telah dievaluasi dalam pengolahan makanan. Amilase diperoleh dari kultur *Aspergillus niger* (Omemu et al., 2005) atau *Bacillus subtilis* (Salman et al., 2016), yang telah digunakan sebagai pengganti bahan tambahan kimia dalam pengolahan tepung terigu (Bueno et al., 2016), meningkatkan persiapan adonan untuk dipanggang dan memungkinkan diperolehnya makanan yang sudah dimasak sebelumnya.

Lipase mikroba ini digunakan dalam hidrolisis lemak susu, meningkatkan aromatisasi produk susu. Mereka juga dapat meningkatkan aroma minuman dan kualitas margarin dan mayones (Sharma et al., 2001). Selulase dan pektinase, yang digunakan terutama dalam penjernihan jus dan pengurangan viskositas, juga telah dengan mudah diperoleh kembali dari kultur jamur berfilamen yang efisien dalam degradasi biomassa tanaman, seperti *Cladosporium sphaerospermum*, *Penicillium chrysogenum* (Andersen et al., 2016), dan *Trichoderma viride* (Ismail et al., 2016). Selain itu, teknologi imobilisasi enzim-enzim ini dalam penopang prefabrikasi atau matriks polimer meningkatkan stabilitas, aktivitas, dan selektivitasnya, mendukung aplikasi dan penggunaan kembali untuk waktu yang lama di industri.

Banyak strain bakteri *Bacillus*, *Hydrogenomonas*, *Methanomonas*, *Methylomonas*, dan *Pseudomonas* telah digunakan sebagai substrat untuk produksi S dalam skala industri karena bakteri ini dapat mengandung sekitar 80% protein kasar dari total berat keringnya. Ragi yang paling banyak digunakan untuk memperoleh SCP adalah *Saccharomyces*, *Candida*, dan *Rhodotorula*. Budidaya khamir lebih praktis karena mikroorganisme ini mampu menggunakan berbagai macam substrat (Patelski et al., 2015). Namun, SCP

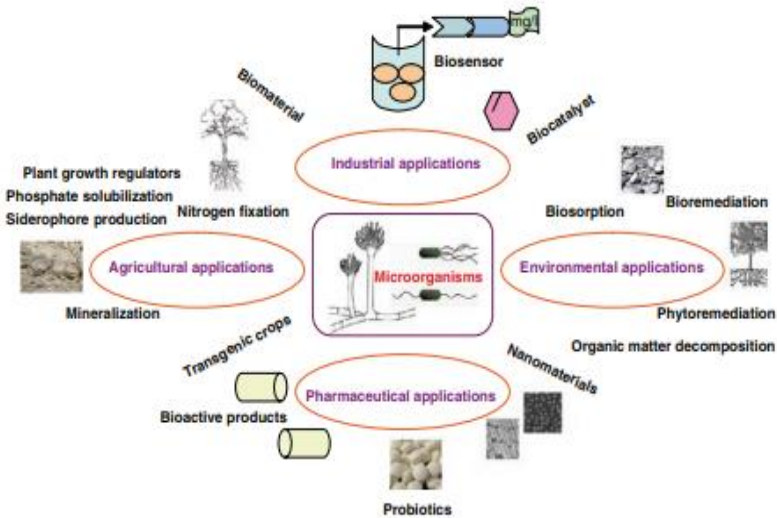
yang diperoleh tidak cukup dalam asam amino yang mengandung belerang. Jamur berfilamen yang paling umum digunakan adalah *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, dan di antara alga prokariotik, yang paling banyak digunakan adalah genus *Spirulina*, dengan sekitar 65% dari berat keringnya terdiri dari protein (Nalage et al., 2016). Kemungkinan penggunaan mikroorganisme untuk mendapatkan makanan, bahan tambahan makanan, atau bahkan biomassa mikroba untuk makanan telah menghidupkan kembali industri pengolahan makanan, yang melihat kemungkinan baru untuk makanan konvensional, seperti rasa, tekstur, dan aroma, atau bahkan penemuan makanan baru.

5.3 Mikrobiologi Teknologi Pertanian

Baru-baru ini, minat terhadap mikroorganisme telah difokuskan pada senyawa dengan aktivitas pestisida, terutama herbisida, insektisida, dan nematisida. Mikroherbisida pertama yang terdaftar secara komersial terdiri dari suspensi klamidospora *Phytophthora palmivora* untuk mengendalikan *Morrenia odorata* (McRae, 1988), dan sejak saat itu, banyak spesies mikroba penghasil parasit dan fitotoksin lainnya telah diidentifikasi. *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) Sacc. f. sp. *aeschynomene* dapat menginduksi gejala antraknosa pada *Aeschynomene virginica*, sehingga mengendalikan kacang-kacangan ini, yang merupakan gulma padi dan kedelai. Di sisi lain, *Puccinia canaliculata* dapat mengendalikan teki kuning (*Cyperus esculentus* L) dengan menghambat pembungaan secara sempurna dan mengurangi pembentukan umbi (Duke et al., 2015).

Bioherbisida, bagaimanapun, belum banyak diterapkan pada tanaman agronomi dan hortikultura untuk pengelolaan gulma karena mereka memiliki sejumlah persyaratan, seperti kondisi kelembaban yang ideal, yang mengurangi efektivitasnya jika dibandingkan dengan herbisida kimia. Di masa depan, kemajuan bioteknologi kemungkinan besar akan membalikkan situasi ini dan meningkatkan kinerja bioherbisida.

Protein endotoksin Cry dan Cyt saat ini paling dikenal sebagai pestisida. Endotoksin ini disintesis oleh bakteri tanah *B. thuringiensis* (Bt) dan memiliki aksi entomopatogen, mengendalikan hama yang ada di kubis, kentang, dan biji-bijian (Sarwar, 2015). Beberapa spesies transgenik yang mengekspresikan kristal protein Bt, seperti tomat, tembakau, dan jagung, telah dibudidayakan di seluruh dunia karena berhasil mencegah penyebaran ulat, terutama *Lepidoptera* (Khan et al., 2016). Ulat dan telur hama seperti *Spodoptera frugiperda* juga dapat terinfeksi oleh *baculovirus*, sehingga mengurangi kerugian pertanian yang disebabkan oleh ulat ini, terutama pada tanaman jagung. Selain itu, kemajuan yang dicapai oleh perbaikan genetik virus ini telah meningkatkan efektivitasnya sebagai insektisida (Popham et al., 2016). Beberapa jamur patogen serangga juga digunakan sebagai agen kontrol, termasuk *Beauveria*, *Metarhizium*, dan *Paecilomyces*. Ini paling sering digunakan untuk melawan ulat daun di rumah kaca atau tempat lain yang kelembabannya relatif tinggi (Sarwar, 2015).



Gambar 5.1. Mikrobiologi Teknologi dalam Bidang Pertanian

Di antara mikroorganisme yang berperan dalam pengendalian hama secara biologis, spesies yang paling banyak disebarluaskan adalah jamur yang termasuk dalam genus *Trichoderma*. Jamur ini bersifat saprofit, pengurai mikoparasit, dan simbion tanaman, biasanya berasosiasi dengan ekosistem tanah, dan memiliki sebaran geografis global. Kisaran gaya hidup dalam genus ini menjelaskan mengapa *Trichoderma* adalah sumber dari banyak strain yang digunakan secara komersial dalam pengendalian biologis. *Trichoderma spp.* parasit dan berhasil mengendalikan spesies jamur fitopatogenik seperti *Sclerotinia*, *Fusarium*, *Verticillium*, dan *Macrophomina* yang memiliki efek nematicidal pada *Meloidogyne* pembentuk empedu (Sokhandani et al., 2016).

Karakteristik fungsional dari Trichoderma dan spesies biokontrol lainnya menanggapi meningkatnya permintaan untuk praktik yang meminimalkan efek samping yang ditinggalkan oleh pestisida, seperti resistensi populasi hama, penurunan kualitas tanah dan air, dan pembentukan residu dengan efek berbahaya pada non- organisme sasaran.

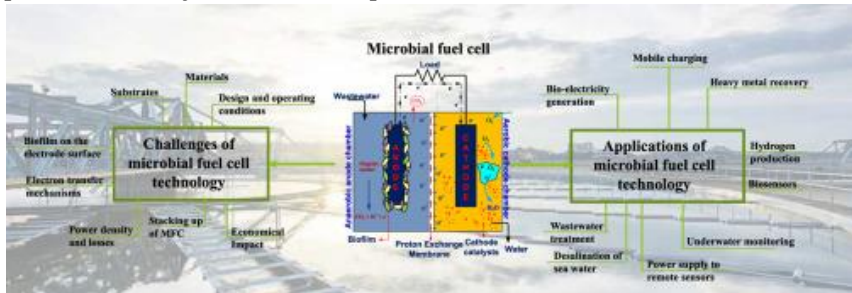
Akan tetapi, pertanian berkelanjutan tidak hanya memberikan pengendalian fitopatogen tetapi juga penggunaan karakteristik mikroba fungsional yang terkait dengan promosi pertumbuhan tanaman. Mikroorganisme simbiotik seperti jamur *mikoriza* dan *rhizobakteri* mengembangkan aktivitas yang dapat meningkatkan kebugaran tanaman, memfasilitasi perolehan nutrisi oleh tanaman. Jamur dan akar *mikoriza* saling melengkapi dalam mencari makan tanaman didalam tambalan nutrisi (Cheng et al., 2016) dan memfasilitasi perolehan fosfor oleh tanaman, melalui ekspresi gen yang mengkode pengangkut anorganik ion ini. Demikian juga, PGPRs (*plant growth-promoting rhizobacteria*) bertindak melalui mekanisme langsung dan tidak langsung untuk mendorong pertumbuhan tanaman. Mekanisme langsung meliputi biofertilisasi, dengan sintesis nitrogen oleh strain yang termasuk dalam genera *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, dan *Allorhizobium* untuk stimulasi pertumbuhan akar melalui sintesis auksin, sitokinin, dan giberelin. Mekanisme tidak langsung terkait dengan pengurangan kerentanan terhadap penyakit, termasuk antibiosis, induksi resistensi sistemik dan persaingan nutrisi dan relung.

5.4 Mikrobiologi Teknologi Kimia dan Bahan Bakar

Memperoleh bahan kimia seperti asam organik melalui aktivitas mikroba sangat menjanjikan, terutama jika diperkirakan terjadi dari sumber karbon terbarukan. Sebagian besar asam organik adalah produk alami atau zat antara metabolisme mikroba yang ada di jalur metabolisme penting. Karena gugus fungsinya, asam-asam ini, seperti asam asetat, sitrat, laktat, dan suksinat, sangat berguna sebagai bahan baku industri kimia atau makanan. Asam sitrat, misalnya, telah dibutuhkan di pasar untuk digunakan sebagai bahan tambahan makanan, dan semua produksi skala industri tahunan di seluruh dunia terjadi melalui fermentasi glukosa, molase bit, molase tebu, atau tepung jagung menggunakan *A. niger* (Adham, 2002; Wang et al., 2016).

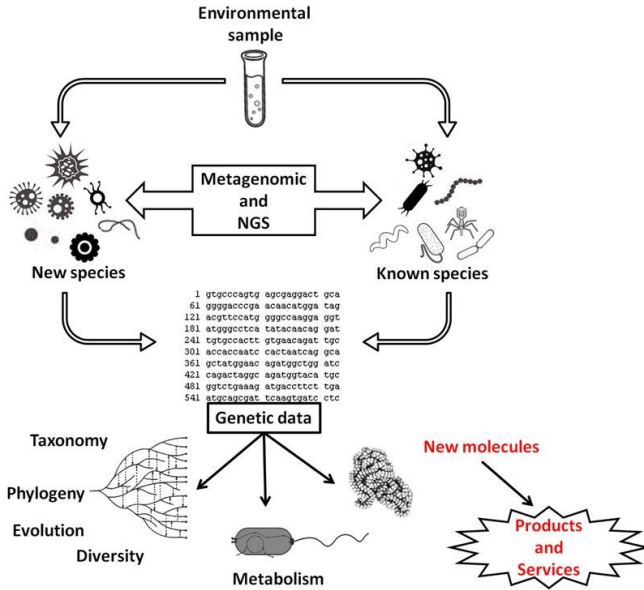
Di sisi lain, semua produksi asam laktat dunia tahunan juga berasal dari fermentasi yang dilakukan oleh mikroorganisme. Asam ini dan turunannya banyak digunakan dalam industri makanan, farmasi, kulit, dan tekstil. Selain itu, proses fermentasi asam laktat baru-baru ini mendapat lebih banyak perhatian karena meningkatnya permintaan biomaterial baru, seperti produk biodegradable dan polilaktik biokompatibel (Gao et al., 2011). Metode yang paling umum untuk memperoleh asam ini adalah dengan menggunakan *Lactobacillus spp.* dibudidayakan dalam whey. Namun, juga dapat diperoleh melalui aktivitas *Rhizopus sp.* dalam kondisi aerobik dalam medium kaya glukosa dan dengan jumlah nitrogen terbatas (Fu et al., 2014), dan bahkan melalui fermentasi *Saccharomyces cerevisiae* dalam medium berbasis glukosa dan jus tebu.

Di masa depan, proses mikrobiologis untuk mendapatkan berbagai asam organik diharapkan akan kompetitif, mapan di pasar, dan memungkinkan peningkatan produksi senyawa ini setiap tahun.



Gambar 5.2. Mikrobiologi Teknologi Kimia dan Bahan Bakar

Produksi mikroba aseton dan butanol, yang dilakukan secara efisien oleh genus *Clostridium* adalah salah satu proses fermentasi industri skala besar pertama yang mendapatkan kepentingan global. Tetapi produksi ini telah kalah dari sintesis kimia. Demikian pula, sintesis mikroba seratus tahun dari gliserol dipengaruhi oleh ketidakmampuan untuk bersaing dengan sintesis kimia dari bahan baku petrokimia. Namun, dalam skenario dimana biaya propilena meningkat karena ketersediaannya menurun, terutama di negara berkembang, gliserol menjadi bahan baku penting untuk produksi berbagai bahan kimia, yang membuat sintesis alternatifnya dengan fermentasi lebih menarik (Wang et al., 2001).

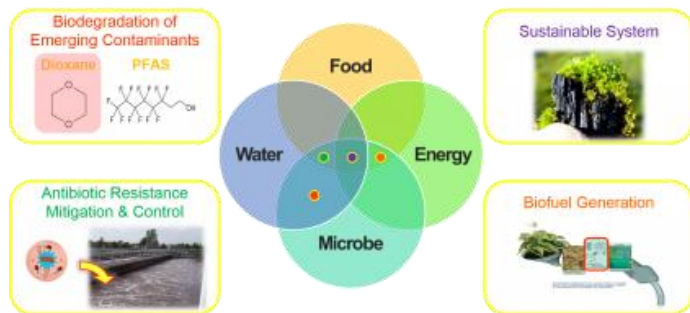


Gambar 5.3. Sample Produksi Berbagai Bahan Kimia

5.5 Mikrobiologi Teknologi Lingkungan

Berbagai macam mikroorganisme, termasuk bakteri aerobik heterotrofik atau autotrofik, *actinomycetes*, *fecal coliforms*, dan termofil, serta ragi dan jamur lainnya telah dilaporkan dalam proses pengomposan limbah padat. Banyak faktor yang menentukan keberadaan komunitas mikroba selama pengomposan, tetapi dalam kondisi aerob, suhu merupakan faktor utama yang menentukan tidak hanya jenis mikroba tetapi juga keanekaragaman spesies dan laju metabolisme (Hassen et al., 2001). Di sisi lain, penggunaan enzim mikroba secara langsung dalam pengolahan limbah, terutama limbah industri, telah didorong karena aksi enzimatik lebih cepat, tanpa memerlukan kondisi yang diperlukan untuk proses fermentasi. Lipase, misalnya, digunakan dalam

pengolahan air limbah yang mengandung terutama trigliserida (Jamie et al, 2016). Kehadiran enzim ini dalam lumpur aktif dan proses degradasi aerobik lainnya penting untuk menghilangkan lapisan lemak yang terbentuk di permukaan tangki aerasi secara terus menerus untuk memungkinkan transportasi oksigen (Hasan et al., 2001). Peroksidase, fenoloksidase, dioksigenase, dan senyawa mirip fenoloksidase juga telah digunakan untuk menghilangkan kontaminan yang ada dalam air limbah. Peroksidase, polifenol oksidase, dan tirosinase yang diperoleh dari mikroorganisme seperti *P. syringae*, *Arthromyces ramosus*, dan *Agaricus bisporus* dapat digunakan untuk menghilangkan fenol, bifenol, dan klorofenol. *Laccases* dari *P. cinnabarinus* ditemukan efisien untuk degradasi *benzopyrene*, sedangkan peroksidase mangan dari *Phanerochaete chrysosporium*, *Nematoloma frowardii*, dan *Phlebia radiata* dapat diterapkan untuk menghilangkan lignin dalam air limbah (Kunz et al., 2001).



Gambar 5.4. Mikrobiologi Teknologi Lingkungan

Aspek lain dari mikrobiologi teknologi lingkungan adalah kemajuan dalam pengetahuan dan penggunaan hubungan simbiosis antara tanaman dan jamur mikoriza

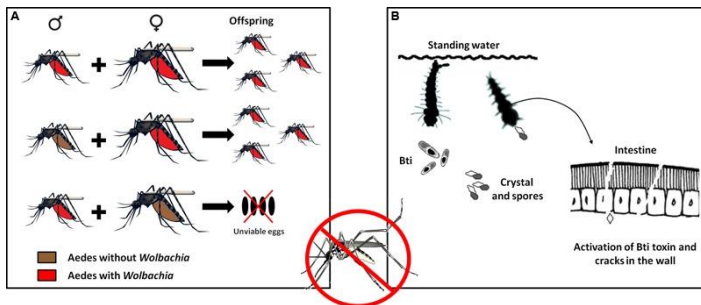
sebagai strategi untuk meningkatkan biomassa tanaman atau meningkatkan hasil produk pertanian atau kepentingan farmakologi. Manfaat tersebut merupakan hasil dari peran positif dan multifungsi jamur mikoriza dalam nutrisi tanaman, perlindungan patogen, toleransi cekaman, dan penyediaan struktur tanah (Smith and Read, 2008). Karena sifat biologisnya yang unik, yang meliputi biotrofi wajib dan pengembangan intraseluler dalam jaringan tanaman, dan berbagai fungsi ekologis, jamur *mikoriza arbuskula* (FMA; yang juga dianggap telah membantu tanaman menaklukkan lingkungan terestrial) telah membangkitkan minat agronomi dengan tujuan berkelanjutan. produksi dengan konsumsi bahan kimia yang rendah (Lanfranco et al., 2016).

Dalam pertanian berkelanjutan, FMA dikenal sebagai pupuk hayati. Dalam hubungan tumbuhan-mikroorganisme, unsur hara mineral (terutama fosfor, nitrogen, dan air) diekstrak dari tanah melalui jaringan hifa yang luas dan dipindahkan ke tumbuhan, dan senyawa organik karbon dipindahkan dari tumbuhan ke FMA. Oleh karena itu, mikroorganisme ini mengurangi kebutuhan aplikasi pupuk kimia di tanah (Oliveira et al., 2016). Dalam konteks saat ini, “*micro technology*” bertujuan untuk meningkatkan kelimpahan dan keragaman FMA di tanah secara umum untuk meningkatkan fungsi kualitas dan efisiensi produksi tanaman.

5.6 Mikrobiologi Teknologi Medis

Partisipasi mikroorganisme dalam pembuatan produk atau layanan medis melibatkan empat aspek berbeda: (1) biokontrol penyakit, (2) produksi vaksin, (3) produksi antibiotik, dan (4) produksi bioterapi (hormon, biomaterial, dan lain-lain). Aspek-aspek ini akan dibahas sepanjang sesi ini.

Masalah yang biasa dihadapi di negara berkembang adalah sulitnya implementasi kebijakan publik untuk mengendalikan penyebaran vektor parasit seperti genus *Aedes* dan *Anopheles*. Namun, wabah penyakit baru-baru ini yang muncul dan muncul kembali telah mendorong pengembangan teknik bioteknologi yang tidak hanya dapat membantu diagnosis tetapi juga berfungsi sebagai alternatif untuk mengendalikan penularan. Contohnya adalah potensi yang dihadirkan oleh introduksi bakteri *Wolbachia* sebagai endosimbion nyamuk *Aedes aegypti*, yang menularkan penyakit seperti demam berdarah, demam kuning, chikungunya, dan virus Zika yang baru terdeteksi (Walker et al., 2011).

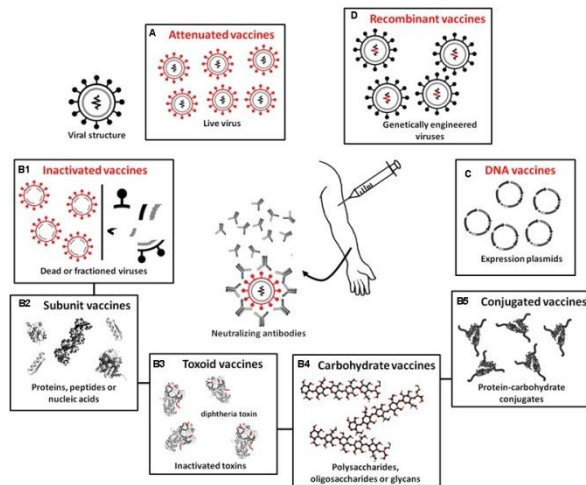


Gambar 5.5. Mikrobiologi Teknologi Medis untuk mengendalikan penyebaran vektor parasit seperti genus *Aedes* dan *Anopheles*

Vaksin *HPV* (*human papilloma virus*) adalah contoh lain dari vaksin yang baru dikembangkan yang telah digunakan secara luas di banyak Negara. Untuk produksi vaksin, mikroorganisme tidak berfungsi sebagai biofaktor tetapi hanya digunakan (utuh atau difraksinasi) untuk merangsang sintesis antibodi spesifik.

Dalam vaksin yang dilemahkan, patogen (virus atau bakteri) masih hidup dan menginduksi reaksi kekebalan yang mirip dengan yang dihasilkan dari infeksi nyata (Plotkin et al., 2008). Vaksin yang dilemahkan telah dikembangkan secara efisien untuk berbagai penyakit: gondong, polio (Sabin), rubella, campak, cacar air, cacar air, tuberkulosis, demam kuning, dan demam berdarah. Vaksin ini dianggap sangat imunogenik dan secara efisien merangsang imunitas humoral, sehingga hanya satu dosis yang mampu memberikan kekebalan selama beberapa dekade. Studi terbaru telah mengungkapkan strategi untuk pengembangan strain virus influenza yang dilemahkan yang memicu respons imun yang kuat.

Teknik bioteknologi yang berbeda digunakan dalam produksi jenis vaksin yang tersedia saat ini. (A) Vaksin hidup atau dilemahkan, yang menggunakan patogen yang dilemahkan. (B) Vaksin inaktif yang mengandung patogen yang sepenuhnya tidak aktif atau terfraksionasi atau hanya komponen antigenik dari patogen tersebut, dibagi menjadi (B1) utuh atau terfraksi; (B2) vaksin subunit, yang menggunakan protein, peptida, atau asam nukleat sebagai antigen; (B3) toksoid, yang menggunakan racun patogen yang tidak aktif sebagai antigen; (B4) vaksin karbohidrat yang dihasilkan dari polisakarida, oligosakarida, dan glikan; dan (B5) vaksin konjugat, yang memiliki polisakarida yang dikombinasikan dengan protein transpor. (C) Vaksin DNA yang membawa plasmid yang mengandung gen yang mengkode antigen imunogenik. (D) Vaksin rekombinan yang mengandung virus yang direkayasa untuk membawa gen penyandi antigen dari virus penyebab penyakit lainnya.



Gambar 5.6. Produksi Jenis Vaksin Genus Aedes dan Anopheles

5.6 Mikrobiologi Teknologi Material

Penerapan teknik bioteknologi untuk mikrobiologi juga telah memungkinkan untuk mendapatkan biomaterial dan biosensor yang sangat beragam. Biomaterial adalah produk buatan atau alami, biasanya disintesis oleh mikroorganisme dalam kondisi lingkungan yang berbeda, yang dapat bekerja dalam sistem biologis (jaringan atau organ). Biosensor mengintegrasikan mikroorganisme dengan transduser fisik untuk menghasilkan sinyal terukur yang sebanding dengan konsentrasi analit, memungkinkan deteksi target analisis yang cepat dan akurat di berbagai bidang seperti kedokteran, pemantauan lingkungan, pengolahan makanan, dan lain-lain (Lei et al., 2006).

Sebuah keluarga penting dari biomaterial termasuk bioplastik. Bioplastik adalah poliesther yang terakumulasi secara intraseluler dalam mikroorganisme dalam bentuk butiran penyimpanan, dengan sifat fisikokimia yang mirip dengan

plastik petrokimia. Namun, sifat-sifat ini serta komposisi monomer dapat diubah sesuai dengan asal mikroba bioplastik, dan minat utama polimer ini terletak pada biodegradabilitas dan biokompatibilitasnya (Luengo et al., 2003). Bioplastik juga dapat diproduksi sebagai produk sampingan dari biorefinery menggunakan fermentasi asidogenik atau pirolisis biomassa lignoselulosa, serta produk sampingan dari biotreatment limbah padat atau cair (Ivanov dan Stabnikov, 2016).

Bioplastik digunakan dalam pembuatan bahan medis bernilai tambah tinggi, seperti film yang berfungsi sebagai kendaraan untuk pengiriman obat (Awadhiya et al., 2016). Untuk digunakan sebagai bahan medis, kemurnian PHA yang tinggi ditingkatkan dengan menggunakan biokeramik dan/atau kaca bioaktif yang meningkatkan sifat biomekaniknya dan meningkatkan bioaktivitasnya (Radecka et al., 2016). Formulasi bioplastik baru-baru ini diuji untuk lapisan benih spesies agronomis. Lapisan ini, yang mengandung spora promotor pertumbuhan seperti *T. harzianum*, dapat membantu pengendalian hama pertanian di masa depan. Bioplastik juga memiliki potensi untuk meningkatkan, dalam konstruksi sipil, material yang memiliki energi rendah, berkontribusi pada efisiensi energi.

Polisakarida yang berasal dari mikroba, seperti kitosan, alginat, gom xanthan, dan selulosa, adalah kelas lain dari biomaterial yang telah mendapatkan minat yang cukup besar untuk penggunaan medis karena sifatnya, termasuk dapat diperbarui, dapat terurai secara hayati, dan meniru komponen ekstraseluler. matriks, yang menjadikannya elemen kunci dalam proses biologis (Pires et al., 2015). Kitosan dapat dengan mudah diperoleh kembali dari dinding sel jamur seperti *A.*

niger, *Rhizopus oryzae*, *Cunninghamella elegans*, dan *Mucor indicus* (Ruholahi et al., 2016)

Interaksi spesifik dengan komponen matriks ekstraseluler memungkinkan penggunaan kitosan di bidang rekayasa jaringan untuk memperbaiki kulit, tulang, dan tulang rawan (Khor dan Lim, 2003). Potensi kitosan jamur, ketika hadir dalam filter bioaktif, untuk mengkelat logam berat dan menghambat agen mikroba patogen dalam air yang terkontaminasi baru-baru ini dievaluasi (Ruholahi et al., 2016) untuk pengembangan energi terbarukan. , ramah lingkungan, dan polimer hemat biaya yang dapat membantu mengatasi masalah pencemaran air kimia dan mikroba saat ini (Tayel et al., 2016).

DAFTAR PUSTAKA

- Adham N. Z. (2002). Attempts at improving citric acid fermentation by *Aspergillus niger* in beet-molasses medium. *Bioresour. Technol.* 84 97–100. 10.1016/S0960-8524(02)00007-X
- Andersen B., Poulsen R., Hansen G. H. (2016). Cellulolytic and xylanolytic activities of common indoor fungi. *Int. Biodeter. Biodegr.* 107 111–116. 10.1016/j.ibiod.2015.11.012
- Awadhiya A., Tyeb S., Rathore K., Verma V. (2016). Agarose bioplastic-based drug delivery system for surgical and wound dressings. *Eng. Life Sci.* 17 204–214. 10.1002/elsc.201500116
- Belda I., Ruiz J., Navascués E., Marquina D., Santos A. (2016). Improvement of aromatic thiol release through the selection of yeasts with increased β -lyase activity. *Int. J. Food. Microbiol.* 225 1–8. 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.03.001
- Bueno M. M., Thys R. C. S., Rodrigues R. C. (2016). Microbial enzymes as substitutes of chemical additives in baking wheat flour-part II: combined effects of nine enzymes on dough rheology. *Food Bioprocess Technol.* 9 1598–1611. 10.1007/s11947-016-1744-1748
- Cheng L., Chen W., Adams T. S., Wei X., Li L., McCormack M. L., et al. (2016). Mycorrhizal fungi and roots are complementary in foraging within nutrient patches. *Ecology* 97 2815–2823. 10.1002/ecy.1514

- Duke S. O., Scheffler B. E., Boyette C. D., Dayan F. E. (2015). *Biotechnology in Weed Control. Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*. New York, NY: John Wiley & Sons, Inc. 10.1002/0471238961.herbduke.a01.pub2
- Enujiugha V. N., Badejo A. A. (2017). Probiotic potentials of cereal-based beverages. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 57 790–804. 10.1080/10408398.2014.930018
- Fu Y. Q., Yin L. F., Zhu H. Y., Jiang R., Li S., Xu Q. (2014). Effects of pellet characteristics on L-lactic acid fermentation by *R. oryzae*: pellet morphology, diameter, density, and interior structure. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 174 2019–2030. 10.1007/s12010-014-1146-1
- Gawkowski D., Chikindas M. L. (2016). Non-dairy probiotic beverages: the next step into human health. *Benef. Microbes* 4 127–142. 10.3920/BM2012.0030
- Hassen A., Belguith K., Jedidi N., Cherif A., Cherif M., Boudabous A. (2001). Microbial characterization during composting of municipal solid waste. *Bioresour. Technol.* 80 217–225. 10.1016/S0960-8524(01)00065-7
- Ismail A.-M., Abo-Elmagd H., Housseiny M. M. (2016). A safe potential juice clarifying pectinase from *Trichoderma viride* EF-8 utilizing Egyptian onion skins. *J. Genet. Eng. Biotechnol.* 14 153–159. 10.1016/j.jgeb.2016.05.001
- Ivanov V., Stabnikov V. (2016). “Construction biotechnological plastics,” in *Construction Biotechnology, Part of the Series Green Energy and Technology* (Singapore: Springer;) 51–75. 10.1007/978-981-10-1445-1_4

- Jamie A., Alshami A. S., Maliabari Z. O., Ateih M. A., Al Hamouz O. C. S. (2016). Immobilization and enhanced catalytic activity of lipase on modified MWCNT for oily wastewater treatment. *Environ. Prog. Sustain. Energy* 35 1441–1449. 10.1002/ep.12375
- Khan M. A., Paul B., Ahmad W., Paul S., Aggarwal C., Khan Z., et al. (2016). "Potential of *Bacillus thuringiensis* in the management of pernicious lepidopteran pests," in *Plant, Soil and Microbes* eds Hakeem K. R., Akhtar M. S. (New York City, NY: Springer International Publishing;) 277–301. 10.1007/978-3-319-29573-2_13
- Khor E., Lim L. Y. (2003). Implantable applications of chitin and chitosan. *Biomaterials* 24 2339–2349. 10.1016/S0142-9612(03)00026-7
- Kunz A., Reginatto V., Durán N. (2001). Combined treatment of textile effluent using the sequence *Phanerochaete chrysosporium*-ozone. *Chemosphere* 44 281–287. 10.1016/S0045-6535(00)00165-X
- Lanfranco L., Bonfante P., Genre A. (2016). The mutualistic interaction between plants and arbuscular mycorrhizal fungi. *Microbiol. Spectr.* 4:FUNK-0012-2016 10.1128/microbiolspec.FUNK-0012-2016
- Lei Y., Chen W., Mulchandani A. (2006). Microbial biosensors. *Anal. Chim. Acta* 568 200–210. 10.1016/j.aca.2005.11.065
- McRae C. F. (1988). Classical and inundative approaches to biological weed control compared. *Plant Prot. Quart.* 3 124–127.

- Mokoena M. P., Mutanda T., Olaniran A. O. (2016). Perspectives on the probiotic potential of lactic acid bacteria from African traditional fermented foods and beverages. *Food Nutr. Res.* 60:29630 10.3402/fnr.v60.29630
- Nalage D. N., Khedkar G. D., Kalyankar A. D., Sarkate A. P., Ghodke S. R., Bedre V. B., et al. (2016). "Single cell proteins," in *The Encyclopedia of Food and Health* eds Caballero B., Finglas P., Toldrá F. (Oxford: Academic Press;) 790–794. 10.1016/B978-0-12-384947-2.00628-0
- Omemu A. M., Akpan I., Bankole M. O., Teniola O. D. (2005). Hydrolysis of raw tuber starches by amylase of *Aspergillus niger* AM07 isolated from the soil. *Afr. J. Biotechnol.* 4 19–25.
- Patelski P., Berlowska J., Dziugan P., Pielech-Przybylska K., Balcerek M., Dziekonska U., et al. (2015). Utilisation of sugar beet bagasse for the biosynthesis of yeast SCP. *J. Food Eng.* 67 32–37. 10.1016/j.jfoodeng.2015.03.031
- Popham H. J. R., Nusawardani T., Bonning B. C. (2016). "Introduction to the use of baculoviruses as biological insecticides," in *Baculovirus and Insect Cell Expression Protocols* ed. Murhammer D. W. (New York, NY: Springer;) 383–392. 10.1007/978-1-4939-3043-2_19]
- Prasad J., Gill H., Smart J., Gopal P. K. (2000). Selection and characterisation of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains for use as probiotics. *Int. Dairy J.* 8 993–1002. 10.1016/S0958-6946(99)00024-2

- Radecka I. K., Guozhan J., Hill D. J., Kowalczyk M. M. (2016). "Poly(Hydroxyalkanoates) composites and their applications," in *Green Polymer Composites Technology* ed. Inamuddin (New York, NY: Taylor & Francis Group;) 163–176.
- Ruholahi F., Mohammadi M., Karimi K., Zamani A. (2016). Nickel biosorption by fungal chitosan from *Mucor Indicus*. *J. Chitin. Chitosan*. 4 69–73. 10.1166/jcc.2016.1102
- Salman T., Kamal M., Ahmed M., Siddiqua S. M., Khan R. A., Hassan A. (2016). Medium optimization for the production of amylase by *Bacillus subtilis* RM16 in Shake-flask fermentation. *Pak. J. Pharm. Sci*. 29 439–444.
- Sarwar M. (2015). Biopesticides: an effective and environmental friendly insect-pests inhibitor line of action. *Int. J. Eng. Adv. Res. Technol*. 1 10–15.
- Satish K. R., Kanmani P., Yuvaraj N., Paari K. A., Pattukumar V., Arul V. (2013). Traditional Indian fermented foods: a rich source of lactic acid bacteria. *Int. J. Food. Sci. Nutr*. 64 415–428. 10.3109/09637486.2012.746288 [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- Sharma R., Chisti Y., Banerjee U. C. (2001). Production, purification, characterization, and applications of lipases. *Biotechnol. Adv*. 19 627–662. 10.1016/S0734-9750(01)00086-6
- Sokhandani Z., Moosavi M. R., Basirnia T. (2016). Optimum concentrations of *Trichoderma longibrachiatum* and cadusafos for controlling *Meloidogyne javanica* on Zucchini plants. *J. Nematol*. 48 54–63.

- Tayel A. A., Gharieb M. M., Zaki H. R., Elguindy N. M. (2016). Bio-clarification of water from heavy metals and microbial effluence using fungal chitosan. *Int. J. Biol. Macromol.* 83 277–281. 10.1016/j.ijbiomac.2015.11.072
- Tofalo R., Perpetuini G., Di Gianvito P., Arfelli G., Schirone M., Corsetti A., et al. (2016). Characterization of specialized flocculent yeasts to improve sparkling wine fermentation. *J. Appl. Microbiol.* 120 1574–1584. 10.1111/jam.13113
- Walker T., Johnson P. H., Moreira L. A., Iturbe-Ormaetxe I., Frentiu F. D., McMeniman C. J., et al. (2011). The wMel *Wolbachia* strain blocks dengue and invades caged *Aedes aegypti* populations. *Nature* 476 450–453. 10.1038/nature10355
- Wang L., Cao Z., Hou L., Yin L., Wang D., Gao Q., et al. (2016). The opposite roles of *agdA* and *glaA* on citric acid production in *Aspergillus niger*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 100 5791–5803. 10.1007/s00253-016-7324-z
- Wang Z., Zhuge J., Fang H., Prior B. A. (2001). Glycerol production by microbial fermentation: a review. *Biotechnol. Adv.* 19 201–223. 10.1016/S0734-9750(01)00060-X

BAB 6

PRINSIP DASAR PEMULIAAN TANAMAN DENGAN TEKNIK KULTUR JARINGAN

Oleh Risma Rasmani

6.1 Pemuliaan Tanaman

Perbanyakan kultur jaringan di latar belakang oleh berbagai aspek, salah satunya aspek dibidang pertanian. Pemenuhan kebutuhan dan keinginan dengan perbaikan di sektor pertanian seperti perbaikan sifat tanaman menjadi tanaman yang lebih baik dan perlu peningkatan produk demi keseimbangan antara produksi bahan pangan dan jumlah penduduk yang ada. hal ini lah yang menyebabkan munculnya pemuliaan tanaman. Seorang pemulia tanaman diperlukan cara yang tepat pada proses pemuliaan tanaman.

6.1.1 Dasar-Dasar Pemuliaan Tanaman

Pada siklus pemuliaan tanaman perlu adanya perhatian waktu yang akan digunakan. Seorang pemuliaan wajib memiliki pengetahuan dasar yang harus dikuasai meliputi aspek dibidang genetika, karakter dari pembaruan yang akan diperbaiki pada tanaman tersebut, dan lain sebagainya. Munculnya karakteristik dari tanaman yang baru dipengaruhi oleh sifat asal gen dan lingkungannya. Misal, pada ekspan baru

tersebut sudah memiliki genetik yang baik pada tinggi nya dengan di tanaman pada media yang sesuai atau optimum maka tentu akan menghasilkan kesesuaian dengan induknya. tetapi jika sebaliknya saat ekspan tanaman yang baru ditanam tidak pada media yang sesuai atau tidak optimum, tentu pada pertumbuhan nya pun tidak akan menghasilkan yang optimum, ini semua dikarenakan tanaman tumbuh sesuai dengan potensi genetiknya.

Beberapa ilmu yang berkaitan dengan kegiatan pada pemuliaan tanaman dapat dilakukan dengan proses perbaikan sifat turunan dari tanaman secara genetik dan perlu memahami tentang ilmu genetika. Sehingga kegiatan ini disebut dengan genetika. Namun, terdapat ahli dari genetika yang tidak ahli dalam melakukan pemuliaan tanaman. Sebagai contoh, ada seseorang pemuliaan tanaman yang ingin menyelidiki suatu varietas dengan memiliki kemampuan tahan terhadap kondisi cekaman yang ringan. Dalam pendudukan proses kerjanya, seorang tersebut harus tahu mengenai setiap respons dari tanaman yang akan diamati terhadap cekaman kekeringan. Selain itu, pemulia juga harus memahami mengenai semua mekanisme kekeringan yang dapat mempengaruhi sifat – sifat dari genetik dan juga perilaku tanaman tersebut pada respons cekaman kekeringan, dan juga bisa mengetahui tahapan dari mekanisme kekeringan yang dapat mempengaruhi perkembangan dan pertumbuhan tanaman itu sendiri (Selvia, 2021). Hal ini yang membuat dizaman modern institusi pemuliaan tanaman dapat dilakukan dengan para ahli macam – macam disiplin ilmu. Tujuan kegiatan pemuliaan tanaman ini yaitu diharapkan akan merealisasi secara cepat, tepat dan juga akurat dengan melalui kerja sama.

Ilmu pendukung dari berbagai bidang yang berkaitan dengan pemuliaan tanaman yaitu diantaranya :

- a) Ilmu Botani
- b) Ilmu Morfologi
- c) Ilmu Fisiologi
- d) Ilmu Hama dan Penyakit
- e) Ilmu Statistik
- f) Ilmu Rancangan Percobaan
- g) Ilmu Biokimia dan lain – lain (Selvia, 2021).

6.1.2 Pengertian Pemuliaan Tanaman

Kegiatan yang dilakukan dengan tujuan memperbaiki sifat atau karakter pada tanaman yang diturunkan dari suatu kelompok tanaman dengan mencerminkan munculnya karakter dari gen yang baru disebut dengan pemuliaan tanaman. Selain itu pengertian dari pemuliaan tanaman adalah kombinasi antara seni dan ilmu pengetahuan untuk perbaikan suatu spesies pada tanaman tertentu yang manfaatnya untuk setiap makhluk hidup khususnya manusia (Sudarka *et al.*, 2009). Produk pemuliaan tanaman merupakan sebuah varietas yang memiliki ciri-ciri khusus yang sesuai dengan pemuliaan yang diinginkan contohnya seperti : memiliki produksi yang tinggi, tahan terhadap hama, penyakit dan sebagainya. Rangkaian yang ada didalam pertanian, pemuliaan tanaman ini adalah suatu bagian yang berawal dari mata rantai usaha pertanian untuk memastikan bahwa bibit tersedia dan juga memiliki mutu yang baik atau unggul.

Pemuliaan tanaman merupakan suatu kegiatan yang intens dan berkelanjutan. Munculnya hambatan dan tantangan dalam keadaan perubahan lingkungan alam yang terus terjadi, hal ini di cerminkan dari kedinamisan pemuliaan tanaman. Contohnya seperti *strain pathogen* yang terus melakukan

perkembangan, konsumen memiliki selera pangan yang berkembang, sehingga kegiatan pemuliaan tanaman ini akan terus melakukan perkembangan sejalan dengan perubahan-perubahan tersebut. Keberlanjutan dari pemuliaan tanaman bisa diamati melalui kegiatan yang berkesinambungan setiap *step by step* atau dari tingkatan pertama ke tingkatan selanjutnya (Carsono,2008).

Kegiatan dari pemuliaan tanaman adalah sebuah ilmu dari terapan yang di mana menggunakan berbagai ilmu lain yang meliputi, ilmu genetika, ilmu sitogenetik, ilmu botani, ilmu agronomi, ilmu fisiologi, ilmu entomologi, ilmu patologi, ilmu biokimia, ilmu statistika dan juga pada ilmu genetika molekular (Carsono, 2008).

Secara umum prosedur dari kegiatan pemuliaan tanaman ini dimulai dari:

- 1) Adanya upaya pada koleksi plasma yang digunakan dalam sumber kesamaan.
- 2) Adanya pengenalan dan juga karakteristik
- 3) Adanya pembaruan dari keberagaman, contohnya seperti, melalui tahap persilangan atau dengan tahap transfer suatu gen
- 4) Melakukan proses penyeleksian
- 5) Melakukan kegiatan percobaan dan pengevaluasian
- 6) Melakukan pelepasan, diseminasi dan pengomersialan pada spesies. Cara ini merupakan cara persilangan yang didapatkan melalui metode seleksi, cara ini digunakan untuk melakukan pembaharuan dalam menghasilkan varietas terbaru yang unggul (Carsono, 2008).

6.1.2 Tujuan Pemuliaan Tanaman

Seorang pemuliaan terlebih dahulu perlu mengetahui masalah, kebutuhan dan kemauan dari pihak produsen dan juga konsumen. Maka, tujuan mendasar dari pemuliaan tanaman diantaranya adalah ekonomis. Tujuan dari pemuliaan tanaman adalah memberikan keuntungan pada penanam dan pemakainya. Selain itu, adanya pemuliaan tanaman ini dapat menangani masalah lainnya seperti pengembangan varietas yang tahan terhadap hama dan penyakit, serta dapat mengatasi cekaman kekeringan (Syukur *et al.*, 2010). Jika di ringkas, tujuan dari pemuliaan tanaman yaitu :

1. Menghasilkan perbanyakan yang semakin baik dari segi jumlah
2. ukuran bahkan kandungannya.
3. Menghasilkan tanaman yang tahan terhadap cekaman
4. kekeringan
5. Menghasilkan tanaman yang berkualitas baik
6. Menghasilkan tanaman yang bernilai estetik.

6.1.3 Prosedur Teknik Pemuliaan Tanaman

Langkah-langkah prosedur dalam teknik pemuliaan tanaman, diantaranya :

1. Penetapan tujuan dari pemuliaan tanaman yang akan dilakukan
2. Penyediaan materi pemuliaan tanaman, guna untuk mengetahui karakter dari tanaman tersebut
3. Penilaian pada ekspan yang akan diperbarui menjadi varietas yang berbeda atau unggul
4. Pengujian terhadap tanaman, sebaiknya melakukan evaluasi terhadap lingkungan sekitar (Selvia, 2021).

6.1.4 Peranan Pemuliaan Tanaman

Terdapat beberapa peranan pada pemuliaan tanaman diantaranya adalah :

1. Mengoptimalkan daya produksi
2. Meningkatkan area pabrikasi suatu produk dengan menghasilkan pembaruan pada karakter tanaman tertentu.
3. Menciptakan spesies hibrida
4. Menemukan varietas tahan/resistan hama penyakit
5. Meningkatkan kualitas tanaman
6. Meningkatkan kesesuaian terhadap mesin pemanenan
7. Menggalakkan penggunaan teknologi pertanian modern (Selvia, 2021).

6.2 Kultur Jaringan

Istilah dari kultur jaringan digunakan pada kegiatan yang berkaitan dengan kultur protoplas, jaringan, sel dan organ tanaman (Taji *et al.*, 2005). Pada kultur jaringan tidak heran bahwa kultur jaringan berhubungan dengan perbanyakan tanaman yang bebas akan mikroba dengan dukungan lingkungan yang aseptis. Asepsis disini adalah sterilnya bahan, alat dan medium pada wadah kultur. Perkembangan teknik kultur jaringan ini sudah dapat diandalkan untuk pembiakan dan pemuliaan tanaman dengan berbagai spesies tanaman.

Pada dasarnya terdapat 3 kemampuan dasar tanaman yaitu antara lain :

- Totipotensi

Kemampuan dasar tanaman yang dapat tumbuh dan kembang menjadi tanaman lengkap jika diberi perlakuan secara tepat. Kata totipotensi memiliki arti bahwa semua informasi yang digunakan dalam pertumbuhan tanaman berlangsung didalam sel. Tetapi tidak semua sel memiliki

sifat totipoten, melainkan hanya sel-sel yang meristematik saja yang dapat tumbuh menjadi tanaman yang lengkap.

- Dediferensiasi

Kemampuan ini yaitu melibatkan sel-sel yang telah dewasa untuk dapat berada kembali di fase meristematik dengan titik tumbuh yang baru, setelah itu diikuti oleh rediferensiasi yaitu kemampuan lanjutan untuk tumbuh menjadi tanaman yang baru.

- Kompetensi

Kemampuan ini berhubungan dengan potensi endogen dari satu sel atau jaringan yang tumbuh dan berkembang. Misalnya pada sel-sel embriogenik yang bersifat kompeten yaitu mampu berkembang menjadi embrio yang fungsional. Sebaliknya jika non-kompetent maka tidak mampu secara morfogenetiknya (Taji *et al.*, 2005).

Perbanyakan tanaman menggunakan metode kultur jaringan adalah metode yang digunakan dalam perbanyakan secara vegetatif. Kultur jaringan secara *in vitro* adalah cara perbanyakan yang melibatkan teknik isolasi pada organ tanaman seperti daun, sel, mata tunas, protoplas dengan ditumbuhkannya didalam media buatan yang mengandung ZPT (Zat Pengatur Tumbuh) atau nutrisi yang dibutuhkan dalam setiap pertumbuhan tanaman (Ahloowalia *et al.*, 2004). Teknik kultur jaringan berkaitan dengan perlakuan yang diwajibkan menjaga asepsis di wadah tertutup tetapi cahaya dapat masuk, tujuannya agar tanaman tetap mampu perbanyakan dan mengembangkan tanaman tersebut untuk menjadi tanaman yang utuh (Karyanti *et al.*, 2014; Singh *et al.*, 2011). Teori dari kultur jaringan didapatkan dari teori Schwann dan Scheleiden

mengenai sel (Yusnita, 2015). Setiap individu dari sel dapat bergenerasi menjadi tanaman yang lengkap karena dasarnya setiap sel tanaman memiliki genetik dan fisiologinya. Maka dari itu, semua individu tanaman akan berhasil tumbuh dan kembang menjadi tanaman yang baru sesuai dengan induknya (Azizil, 2017).

6.2.1 Tahapan Kultur Jaringan

Pekerjaan kultur jaringan pada dasarnya terbagi menjadi tiga tahapan sampai dengan penanaman kultur dan tiga tahapan setelahnya sebelum ke lapang yang meliputi :

1. Tahap persiapan

Pada tahap persiapan ini ditujukan untuk menghasilkan alat dan bahan yang aseptik dengan cara sterilisasi.

2. Tahap pembuatan media

Pada tahap ini bertujuan membuat media buatan sebagai dasar pertumbuhan dari setiap tanaman yang akan dikultur, adapun media buatan harus mengandung unsur hara mikro, makro, vitamin dan ZPT.

3. Tahap inokulasi eksplan

Tahap ini dimulainya penanaman eksplan didalam media buatan yang telah memenuhi persyaratan untuk tumbuh dan kembang eksplan yang akan ditanam. proses penanaman ini sangat memerlukan ruangan atau laboratorium yang aseptis untuk menghindari kendala yang namanya kontaminasi (Kurnianingsih *et al.*, 2020).

Setelah melakukan penanaman pada eksplan terdapat empat fase sampai tanaman siap ditanam dilapang diantaranya adalah :

1. Memperbanyak propagul

2. Pengakaran
3. Aklimatisasi
4. Memindahkan tanaman ke luar atau lapang
 - Isolasi eksplan ini dapat diawali dengan memilah eksplan yang berasal dari benih yang utama atau dari induknya. Keperluan yang harus dipilih yaitu harus yang sehat, bebas penyakit dan mempunyai pertumbuhan dan perkembangan yang terbaik. Tujuannya yaitu menghindari terjadinya sebuah serangan hama penyakit atau terjadinya kontaminasi.
 - Sterilisasi Eksplan
 - Menanamkan eksplan yang telah dilakukan sterilisasi, lalu memotong menjadi bagian paling kecil. Kemudian ditanam pada tempat medium yang telah disiapkan.
 - Perbanyak (Proliferasi) Propagul merupakan bentuk baru dari hasil morfogenesis di mana propagul ini dibentuk dari jaringan eksplan yang telah ditanam.
 - Pengakaran tahap pengakaran merupakan suatu tahapan yang di mana dari tunas –tunas yang telah berkembang dan dipindahkan ke media induksi untuk melakukan pembentukan plantlet.
 - Aklimatisasi dan Pemindahan Tanaman ke Lapang
Tanaman hasil kultur jaringan ini memerlukan proses adaptasi bertahap untuk lingkungan yang baru dan dapat disebut sebagai aklimatisasi. Aklimatisasi memiliki dua tahapan jika sudah melalui dua tahapan ini maka dapat dipindahkan ke lapang (Dwiyani, 2015).

6.2.2 Macam-macam Kultur Jaringan

Perbanyak tanaman biasa disebut juga perbanyak mikro, alasannya karena eksplan yang ditanamkan atau ditumbuhkan berukuran kecil yang berkisar bisa kurang dari 1 mm dari kultur meristem.

1. Kultur bagian keseluruhan tanaman lengkap
2. Kultur bagian embrio
3. Kultur bagian organ
4. Kultur bagian kalus.
5. Kultur bagian suspensi sel dan kultur sel tunggal.
6. Kultur bagian protoplas (Dwiyani, 2015).

Dasar dari prinsip untuk pemuliaan tanaman adalah dimulainya mencari atau memilih benih/bibit yang berkualitas baik. Karena saat panen, bibit adalah penentu kuantitas dan kualitas produksi tanaman. Prasyarat yang dapat dilihat untuk menghasilkan bibit yang baik atau unggul adalah dilihat dari mutu fisik, fisiologis dan genetik dari induknya. Sehingga dalam pemilihan bibit yang akan digunakan tidak hanya memperhatikan fisik yang seragam, sehat dan lain sebagainya. Melainkan perlu dilihat dan dipilih bibit yang memiliki sifat genetik yang baik seperti tahan terhadap hama dan penyakit, produksi yang tinggi dan terutama bibit tersebut memiliki sifat unik yang ketika dijual memiliki nilai jual yang tinggi, jika bibit telah memiliki prasyarat tersebut, maka dapat dipastikan tanaman yang akan di kulturkan akan menghasilkan tanaman yang unggul.

6.2.2 Pemanfaatan Teknik Kultur Jaringan

Kultur jaringan dimanfaatkan untuk beberapa tujuan, diantaranya:

1. Transformasi Genetik/Rekayasa genetika

Teknik kultur jaringan sekarang tidak hanya dimanfaatkan sebagai perbanyakan tanaman saja, melainkan digunakan pada transformasi genetik/rekayasa genetika untuk

menghasilkan transfer gen atau menghasilkan tanaman dengan jenis karakter yang baru.

2. Memperbanyak GM (*Genetically Modified*) Plants atau yang dikenal sebagai tanaman transgenik. Penyisipan gen-gen baru pada tanaman untuk menghasilkan tanaman transgenik yang jumlah anaknya seragam dan identik secara genetik dengan induknya.
3. Perbanyak tanaman hibrid yang memiliki sifat-sifat unggul.
Perbanyak hibrid ini digunakan untuk mempertahankan sifat atau karakter unggul tanaman yang telah disilangkan dengan spesies lainnya.
4. Memperbanyak tanaman yang tidak memiliki biji
5. Mempermudah pengiriman tanaman dalam container steril
Kegunaan dari container steril ini dapat mencegah kontaminasi yang terjadi atau bebas patogen
6. Memperbanyak tanaman yang bijinya sulit berkecambah
Tanaman seperti contohnya anggrek ditanam pada kultur jaringan gunanya untuk mempermudah dalam perbanyak dan terjaganya cadangan makanan atau nutrisi untuk pertumbuhannya yang didapat dari media buatan yang telah lengkap dengan berbagai unsur hara yang dibutuhkan. Selain itu dengan menggunakan perbanyak seperti ini dapat menjaga benih atau biji dari kontaminasi atau hama.
7. Menghasilkan tanaman bebas virus
8. Fusi Protoplas
Manfaat dari fusi protoplas ini dapat menyilangkan tanaman dengan teknik kultur jaringan. Hasil dari tanaman melalui fusi protoplas ini akan menghasilkan karakter yang diturunkan dari 2 tanaman yang berbeda.

9. Embryo Rescue

Teknik ini dapat digunakan pada saat munculnya masalah seperti tidak berkembangnya embrio sesudah proses terjadinya fertilisasi.

10. Menghasilkan tanaman double haploid melalui kultur mikrospora (Dwiyani, 2015).

Keunggulan dari perbanyakan tanaman secara *in vitro* adalah terpenuhinya bibit bisa kapan saja, jumlah produksi bibit dapat dilakukan dalam jumlah yang besar atau banyak, hasil yang diinginkan sifatnya seragam, bebas dari hama dan penyakit, waktu yang diperlukan relatif cepat, serta biaya yang dibutuhkan relatif murah (Putri *et al.*, 2021). Selain itu, hasil perbanyakan dapat disesuaikan dengan keinginan. perbanyakan secara *in vitro* dapat digunakan sebagai alat dalam pembelajaran dibidang genetika, fisiologis, biokimia, sitologi dan bioteknologi tumbuhan (Yusnita, 2015).

Adapun laboratorium yang digunakan dalam proses kultur jaringan tanaman yaitu setidaknya memiliki 4 ruang yaitu : ruang dapur, ruang preparasi, ruang tanam dan ruang kultur (inkubasi). Sedangkan alat yang digunakan dalam kultur jaringan tumbuhan yaitu sebagai berikut : timbangan digital, magnetic stirrer, autoklaf, oven, laminar air flow (LAF), rak kultur, Glasswares dan alat kecil lainnya (Dwiyani, 2015). Pada proses perbanyakan kultur jaringan sangat dibutuhkan penjagaan yang cukup serius terhadap kondisi sterilisasi baik alat, bahan dan ruangan penyimpanannya. Meskipun satu spora jamur atau satu sel bakteri maka dapat dipastikan pekerjaan dalam kultur jaringan dapat dikatakan gagal karena eksplan tersebut sudah kontaminasi jamur atau pun bakteri, sehingga tidak akan bisa menghasilkan tanaman yang baru atau biasa disebut plantlet.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahloowalia, B.S., Prakash, J., Savangikar, V.A., Savangikar, C. (2004). Plant Tissue Culture. Low Cost Options For Tissue Culture Technology in Developing Countries, August 2002, 3–10.
- Azizi, A.A.A., Ika, R. and Darda, E. (2017) 'Multiplikasi Tunas In Vitro Berdasarkan Jenis Eksplan pada Enam Genotipe Tebu (*Saccharum officinarum* L.)', *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*, 23(2), pp. 90–97.
- Carsono N. 2008. Peran Pemuliaan Tanaman dalam Meningkatkan Produksi Pertanian di Indonesia. Disampaikan dalam Seminar on Agricultural Sciences Mencermati Perjalanan Revitalisasi Pertanian, Perikanan dan Kehutanan dalam Kajian Terbatas Bidang Produksi Tanaman, Pangan. Tokyo. Januari 2008.
- Dwiyani, R. (2015) 'Kultur Jaringan Tanaman', *Journal of Chemical Information and Modeling*.
- Karyanti *et al.* (2018) 'The Effect of Culture Container and Carbon Source Concentration on In Vitro Shoot Propagation of Atlantic Potato', *Jurnal Bioteknol Biosains Indones*, 5(October), pp. 177–187.
- Kurnianingsih, R. *et al.* (2020) 'Pelatihan Teknik Dasar Kultur Jaringan Tumbuhan', *JMM (Jurnal Masyarakat Mandiri)*, 4(5), pp. 888–896. Available at: <http://journal.ummat.ac.id/index.php/jmm/article/view/3049>.

- Putri, A.B.S. *et al.* (2021) 'Teknik kultur jaringan untuk perbanyakan dan konservasi tanaman kentang (*Solanum tuberosum* L.) secara in vitro', *Jurnal Mahasiswa Biologi*, 1(2), pp. 69–76.
- Selvia, I.N. (2021). 'Pemuliaan Tanaman', Program Studi Biologi, UIN Sumatera Utara Medan. Medan. Available at: <http://repository.uinsu.ac.id/15468/>
- Singh, G., S. Shetty. 2011. 'Impact of tissue culture on agriculture in India. Invited Review Biotechnol. *Bioinf. Bioeng.* 1(3): 279-288.
- Sudarka, W., S.M. Sarwadana., I.G. Wijana., dan N.M. Pradnyawati. (2009). 'Pemuliaan Tanaman', Program Studi Biologi. Universitas Udayana, Bali.
- Syukur, M., S. Sujiprihati, dan R. Yuniarti. 2010. 'Teknik Pemuliaan Tanaman', Institut Pertanian Bogor (IPB), Bogor.
- Taji, A., Prakash, K., dan Prakash, L. (2005). *In vitro Plant Breeding (Pemuliaan Tanaman Secara In Vitro)*. Fakultas Jambi. Universitas Jambi. ISBN 979-25-3044-4.
- Yusnita. 2015. Kultur Jaringan Tanaman Sebagai Teknik Penting Bioteknologi untuk Menunjang Pembangunan Pertanian. *Penerbit Aura Publishing*, pp. 1–86.

BAB 7

BIOTEKNOLOGI AKUATIK

Oleh Agus Putra AS

7.1 Pengertian Bioteknologi

Bioteknologi berasal dari 2 kata yaitu *bio* (hidup) dan *teknologi* (*tehnik/metode*). Sehingga bioteknologi diartikan sebagai pemanfaatan makhluk hidup menggunakan tehnik atau modifikasi tertentu untuk menghasilkan produk yang bermanfaat. Bioteknologi merupakan perpaduan dari ilmu pengetahuan alam dan ilmu rekayasa, dimana perpaduan ini bertujuan untuk meningkatkan pemanfaatan organisme hidup untuk menghasilkan barang dan jasa yang bernilai ekonomis tinggi.

Saat ini, bioteknologi telah diterapkan dalam berbagai sektor seperti: sektor pangan, pertanian, peternakan, kesehatan, kelautan, serta sektor industri lainnya. Selain itu, bioteknologi juga telah dikenal luas dalam dunia perikanan. Aplikasinya bertujuan untuk meningkatkan pertumbuhan ikan, meningkatkan nilai gizi (Laelasari dan Purwadaria, 2004), menjaga kesehatan ikan, menghemat biaya pakan, memperbaiki kualitas air kolam dan melindungi lingkungan, domestikasi ikan, serta konservasi benih ikan di alam (Azim dan Little, 2008)

7.2 Bioteknologi Akuatik

Bioteknologi akuatik adalah penggunaan bioteknologi yang lebih menitik beratkan pada pengembangan produk di bidang perikanan. Penerapan bioteknologi ini mencakup

rekayasa media budidaya, bentuk kolam, teknologi pembenihan, aplikasi hormon, pengelolaan kualitas air, rekayasa genetik, domestikasi, teknologi pembuatan pakan, teknologi pemberian pakan, tehnik pembesara hingga pasca panen (Miller dan Semmens, 2002)

Penerapan bioteknologi telah berhasil menciptakan spesies ikan dengan karakter khas yang dihasilkan melalui rekayasa genetik. Melalui rekayasa ini dapat diciptakan ikan yang memiliki daya tumbuh cepat, warna yang menarik, daging tebal, serta relatif tahan terhadap serangan penyakit (Austin dan Austin, 1999). Pada tahap pascapanen, bioteknologi mampu mempertahankan kesegaran ikan, dan mengubah ikan melalui proses transformasi biologi hingga dihasilkan produk yang bermanfaat.

Seiring dengan meningkatnya kebutuhan masyarakat akan produk perikanan, dan semakin berkurangnya hasil tangkapan laut telah mendorong para ahli untuk meningkatkan produksi melalui kegiatan budidaya; dan salah satu upaya yang dapat dilakukan adalah dengan penggunaan bioteknologi. Melalui bioteknologi memungkinkan para ilmuwan untuk mengidentifikasi dan menggabungkan sifat-sifat ikan dan hewan air lainnya untuk meningkatkan produktivitas dan meningkatkan kualitasnya (Battacharya dkk, 2022).

Bioteknologi telah memberikan kontribusi penting terhadap pengembangan bidang akuakultur. Penggunaan bioteknologi untuk meningkatkan produksi akuatik memiliki potensi besar tidak hanya untuk memenuhi permintaan tetapi juga untuk meningkatkan produksi akuakultur. Modifikasi genetik dan bioteknologi juga memiliki potensi besar untuk meningkatkan kualitas dan kuantitas ikan yang dipelihara dalam akuakultur.

Agar pengembangan dan penerapan bioteknologi dapat berhasil, maka perlu dilakukan penelitian dan pengumpulan informasi yang luas tentang aspek biologi, variasi, pemuliaan, agronomi, fisiologi, patologi, biokimia, dan genetika dari organisme yang dimanipulasi. Manfaat yang ditawarkan oleh teknologi tidak dapat dipenuhi tanpa komitmen berkelanjutan dalam penelitian dasar.

Sektor perikanan dan akuakultur merupakan sektor produksi pangan yang penting di Indonesia, karena mampu menyediakan keamanan nutrisi untuk stok pangan, berkontribusi pada ekspor perikanan dan melibatkan banyak pekerja di sektor ini. Akuakultur sudah dikenal sejak tahun 2.000 SM di Negeri Cina dan Kekaisaran Romawi . Namun, aktivitas akuakultur baru menunjukkan dampak yang luas dalam beberapa dekade terakhir, ketika produksi dari sektor ini mampu menopang kebutuhan protein hewani bagi manusia sebagai pengganti mahalnya harga protein yang bersumber dari ruminansia dan unggas. Produksi akuakultur pun meningkat secara dramatis sejak awal 1980-an, dan terus meningkat untuk memenuhi permintaan produk perikanan. Data FAO, memperlihatkan bahwa akuakultur mampu menyumbang 50% dari konsumsi ikan global. Biomassa ikan yang mampu diproduksi per luas permukaan diprediksi jauh lebih besar daripada produksi hewan terestrial. Hal ini menunjukkan bahwa akuakultur bisa menjadi kunci utama untuk menunjang ketahanan pangan dunia.

Manusia pada dasarnya memiliki naluri sebagai pemburu dan pengumpul ikan (nelayan). Akan tetapi akibat penangkapan ikan yang berketerusan, kondisi mangrove yang semakin terdegradasi, serta kualitas air yang memburuk di beberapa kawasan, menyebabkan jumlah populasi ikan semakin menurun. Hal ini mengakibatkan hasil tangkapan

nelayan semakin menurun, sehingga ramai nelayan yang akhirnya beralih status menjadi pembudidaya.

Meskipun saat ini sektor budidaya telah berkembang dengan baik, namun untuk memenuhi permintaan ikan yang tinggi di masa depan, maka teknologinya harus terus ditingkatkan sehingga padat tebar ikan dapat lebih ditingkatkan, pertumbuhannya bisa lebih cepat untuk mempersingkat masa panen, kualitas pakan yang sempurna, serta penyediaan benih yang tahan terhadap serangan pathogen (Craig dan Helfrich, 2002; Austin dan Austin, 1999). Selain itu, penelitian tentang genetika ikan juga perlu diteliti lebih mendalam.

7.3 Bioteknologi Akuakultur

Aplikasi bioteknologi dapat menjadi salah satu kunci dalam menunjang produksi akuakultur. Sebagai contoh, saat ini beberapa spesies ikan telah mampu direkayasa genetiknya. Rekayasa genetika dapat berkontribusi besar pada efisiensi pakan, meningkatkan produksi dan keberlanjutannya. Selain itu, beberapa faktor penghambat seperti pertumbuhan ikan yang lambat, konversi pakan tidak efisien, kematian akibat penyakit dan yang terkait penggunaan bahan kimia, kadar oksigen yang rendah, panen yang tidak efisien, reproduksi yang buruk, penggunaan ruang lahan yang tidak efisien dan kegagalan pasca panen, semua dapat dikurangi dengan memanfaatkan ikan hasil rekayasa genetika.

Penelitian tentang genetika berpengaruh sangat besar dalam pengembangan budidaya perikanan, dan dampak dari penerapannya menjadi semakin penting agar kegiatan akuakultur dapat berkembang lebih jauh. Genetika akuakultur sebenarnya tanpa sengaja telah dipraktikkan sejak dahulu di Cina dan Kekaisaran Romawi. Tanpa disadari, para pembudidaya telah mampu mendomestikasi ikan mas yang

hidup liar di alam menjadi ikan mas yang dapat dibudidayakan dalam kolam terkontrol. Selanjutnya ikan mas diperlakukan sedemikian rupa dengan pemberian pakan dan pemijahan buatan sehingga siklus hidupnya berubah dan bermutasi. Hal ini terlihat dari variasi fenotif, warna, serta bentuk tubuh dan sirip.

Bioteknologi sering dikaitkan dengan teknologi DNA rekombinan, tetapi dalam kenyataannya rekombinan DNA adalah subdisiplin dari bioteknologi. Program genetika ikan pertama kali muncul pada tahun 1900-an setelah prinsip-prinsip dasar genetika dan genetika kuantitatif diperkenalkan. Namun, tidak ada upaya substansial dalam penelitian genetika ikan dan penerapan program peningkatan genetik sampai tahun 1960-an karena budidaya ikan masih dilakukan dalam skala kecil, kurangnya pengetahuan tentang genetika ikan dan kurangnya apresiasi terhadap prinsip-prinsip genetika. Setelah tahun 1960-an, penelitian genetika ikan dan penerapan perbaikan prinsip-prinsip genetika ikan mendapatkan momentumnya.

Bioteknologi baru, seperti seks reversal, pemuliaan ikan dan poliploid mulai berdampak besar pada produksi akuakultur pada akhir 1980-an dan awal 1990-an dengan tidak hanya meningkatkan tingkat pertumbuhan tetapi juga memungkinkan perbaikan besar kualitas daging pada spesies uji. Penelitian perintis tentang seks reversal dan teknologi pemuliaan oleh Shelton dan Guerrero menyebabkan produksi nila monosex pada 1980-an dan 1990-an, dan Graham Mair mengambil teknologi ini selangkah lebih maju pada 1990-an, yang mengarah ke perkembangan populasi YY ikan nila di Sungai Nil dan memproduksi secara genetik populasi ikan nila jantan (GMT) banyak negara.

Pemuliaan selektif ikan nila di Filipina dimulai pada 1990-an dan sekarang telah berlangsung selama 21 generasi. Sejak awal 1980-an, penelitian dalam bioteknologi genetik akuakultur dan perikanan telah berkembang secara baik, melengkapi pekerjaan dalam genetika dan pemuliaan selektif, dan kemajuan yang dibuat dalam genomik dan bioteknologi sejak saat itu hampir tak terbayangkan. Goro Yoshisaki telah menyelesaikan xenogenesis pada ikan, yang dapat mengarah pada berbagai manipulasi genetik yang menarik dan baru. Saat ini, upaya telah mapan di bidang pemuliaan ikan, bioteknologi dan genetika molekuler organisme akuatik. Ikan budidaya ditingkatkan semakin ditingkatkan performannya, termasuk tingkat pertumbuhan, efisiensi konversi pakan, ketahanan terhadap penyakit, toleransi terhadap kualitas air rendah, toleransi suhu, bentuk tubuh, kualitas daging, kualitas ikan, fertilitas dan reproduksi serta daya panen.

Pengembangan dan pemanfaatan ikan hasil rekayasa genetik tersebar luas di seluruh dunia pada abad ke-21. Berbagai teknik genetik sedang diimplementasikan secara komersial, termasuk domestikasi, seleksi, kawin silang intraspesifik, hibridisasi interspesifik, pemuliaan seks dan poliploidi, untuk meningkatkan budidaya ikan dan hewan air lainnya.

Prinsip genetika dan bioteknologi juga digunakan oleh pengelola perikanan dan peneliti untuk meningkatkan perikanan alami, melindungi populasi asli, dan melestarikan sumber daya alam secara genetis. Organisme akuatik yang dimodifikasi secara genetik telah berdampak pada ketahanan pangan global baik di negara maju maupun negara berkembang. Kombinasi dari berbagai program perbaikan genetik, bioteknologi logis dan rekayasa genetika diprediksi akan mampu menghasilkan genotipe terbaik untuk manajemen akuakultur dan perikanan.

Selama bertahun-tahun para ahli telah mencoba melakukan penelitian tentang domestikasi ikan liar melalui rekayasa genetik, namun hasilnya belum memuaskan. Meskipun beberapa spesies telah berhasil dibudidayakan, dan ada bukti yang menunjukkan bahwa ikan yang sudah berhasil di domestikasi mampu di produksi hingga sepuluh kali lipat dibandingkan saat spesies tersebut hidup di alam liar.

Sebagian besar literatur ilmiah tentang genetika molekuler dan bioteknologi menggambarkan prosedur eksperimental yang terperinci mengenai aspek molekuler, tetapi sering mengabaikan detail tentang budidaya ikan. Jika percobaan atau program perbaikan genetik tidak dilakukan dengan baik, maka efek lingkungan dapat menutupi efek genetik yang sebenarnya. Keahlian dalam budidaya dan pengendalian lingkungan sama pentingnya. Di sisi lain, jika ikan memiliki genotipe yang terbaik, tetapi lingkungannya buruk, maka potensi genetik ikan tidak akan tercapai dan kinerja produksinya akan buruk (Waluyo, 2005)

Jelas bahwa tujuan modifikasi genetik adalah untuk memanfaatkan komponen variasi genetik untuk memperkenalkan genetik buatan untuk meningkatkan kinerja atau fenotip. Untuk memanfaatkan komponen variasi genetik secara efektif, buatlah perbandingan genetik yang valid, pelajari ekspresi gen, lakukan analisis lokus sifat kuantitatif (QTL), gunakan *marker-assisted selection* (MAS) atau mengembangkan ikan transgenik. Kondisi lingkungan harus dikendalikan untuk memungkinkan penentuan yang akurat dari ikan transgenik. Lingkungan perairan secara alami memiliki banyak variasi lingkungan, sehingga lebih sulit dikontrol dibandingkan lingkungan terestrial. Misalnya, produk limbah di lingkungan perairan sulit untuk dihilangkan dan kadar oksigen dapat berfluktuasi secara dramatis. Sedangkan di

lingkungan terestrial limbah dapat dengan mudah dihilangkan dan kadar oksigen tetap.

Untuk alasan ini, penelitian genetika akuakultur sebenarnya secara teknis lebih sulit daripada riset akuakultur umum (pakan, reproduksi, hama penyakit, dll). Publikasi yang berhubungan dengan perairan bioteknologi sering menghilangkan rincian tentang budidaya ikan, yang sebenarnya adalah cukup penting untuk evaluasi kritis data karena kondisi lingkungan dan variabilitas lingkungan memiliki efek besar pada ekspresi fenotipik. Banyak faktor yang dapat mempengaruhi genetic ataupun fenotif ikan seperti: usia, padat tebar, suhu, kualitas air, induk ikan, efek pembesaran, dan jenis wadah budidaya.

7.4 Pembenihan Secara Selektif

Pembenihan selektif adalah teknik penetasan ikan tradisional yang pertama kali dikembangkan untuk ikan mas. Namun, hingga saat ini, pembenihan selektif hanya diterapkan pada ikan yang dimaksudkan untuk konsumsi, misalnya: pada ikan tilapia dan lele. Program pembenihan selektif ini secara konsisten mampu meningkatkan hasil panen. Pada budidaya nila dan lele tingkat pertumbuhannya mencapai 5-20% (Avnimelech, 2007)

7.5 Manipulasi Bentuk Kromosom

Memanipulasi bentuk kromosom adalah teknik yang dapat digunakan untuk membuat organisme "triploid"; yakni organisme yang memiliki tiga bentuk kromosom padahal secara normal organisme hanya memiliki dua bentuk kromosom. Triploid biasanya tidak dapat bereproduksi, sehingga diyakini bahwa semua energinya digunakan untuk pertumbuhan organisme. Lebih lanjut, meskipun tidak ada

bukti untuk mendukung ide tersebut, keunggulan triploid lebih terlihat pada fungsi sterilnya, meski tidak mencapai 100%. Sebagai contoh: tiram triploid tidak dapat menghasilkan gonad, sehingga dapat dipasarkan sepanjang tahun. Hal ini karena produksi gamet (gamet, telur atau sel telur pada betina dan sperma pada jantan) pada tiram dewasa memberikan rasa yang tidak enak.

7.6 Monosex Cultivation

Dalam akuakultur, monokultur biasanya lebih menguntungkan daripada kultur campuran (biseksual). Sebagai contoh: nila jantan tumbuh lebih cepat dari betina, salmon dan trout betina tumbuh lebih cepat dari jantan. Produksi ikan secara monoseksual menawarkan banyak keuntungan dan dapat dilakukan dengan memanipulasi perkembangan gamet dan embrio. Manipulasi dilakukan dengan mendenaturasi DNA sel kelamin, dilanjutkan dengan manipulasi bentuk kromosom atau sex reassignment dengan hormon.

Penggunaan hormon yang benar secara ketat dapat mengubah fenotip seks ikan (Carolsfeld dkk, 2000). Sebagai contoh: nila jantan secara genetik secara fisik diubah menjadi betina melalui pemberian hormon estrogen. Ikan jantan ini dikawinkan dengan ikan betina liar untuk menghasilkan semua ikan nila jantan yang dapat tumbuh lebih cepat dan menghindari perkawinan yang tidak diinginkan yang biasa terjadi pada pembiakan ikan nila multisex. Dalam budidaya ikan nila multi kelamin, ikan-ikan kecil sering kawin silang dan menyebabkan *overcrowding*. Beberapa keturunan laki-laki dari proses ini memiliki dua kromosom laki-laki yang dapat digunakan sebagai induk untuk keturunan berikutnya. Keuntungan besar dari teknik ini adalah seluruh populasi jantan dapat diproduksi untuk generasi berikutnya tanpa menggunakan hormon.

7.7 Hibridasi

Hibridisasi adalah bioteknologi genetik yang lebih mudah dilakukan dengan menggunakan teknik inkubasi buatan, seperti hormon yang merangsang perkembangan kelenjar hipofisis atau sel benih lainnya dan mendorong reproduksi (pelepasan telur ikan). Memahami faktor lingkungan yang mempengaruhi reproduksi, seperti panjang sinar matahari, suhu atau arus air, telah memainkan peran penting dalam meningkatkan program pemuliaan. Saat ini pembudidaya ikan telah mengetahui mekanisme reproduksi alami ikan di perairan umum. Hibridisasi juga dapat digunakan untuk menghasilkan keturunan sesama jenis (Ng dan Chen, 2002)

7.8 Peningkatan Teknologi

Kemajuan teknologi budidaya ikan sangat membantu petani dalam budidaya ikan. Selain itu, pembudidaya dapat mengatasi keterbatasan alam dan waktu pemijahan dengan menggunakan teknologi. Sebagai contoh: pada saat musim dingin, pembudidaya dapat menggunakan water heater, demikian pula saat kualitas air buruk, pembudidaya dapat menggunakan aerator ataupun protein skimmer. Dengan aplikasi teknologi ini, pemeliharaan ikan akan semakin mudah dan pengontrolan masa panen pun dapat dilakukan dengan baik untuk memastikan ketersediaan ikan di pasar.

7.9 Teknologi Transgenik

Rekayasa genetika adalah istilah yang tidak jelas dan artinya hampir identik dengan transgenetik (transfer gen), seperti ikan transgenik atau organisme hasil rekayasa genetika (GMO). Teknologi ini berkembang pesat dan mengubah kemungkinan gen kerabat jauh. Transfer gen ikan biasanya mengandung gen yang menghasilkan hormon pertumbuhan

dan ini telah terbukti meningkatkan pertumbuhan ikan mas, lele, dan nila (Alimuddin dkk, 2003)

Teknologi transgenik saat ini masih dalam tahap penelitian dan pengembangan; ikan atau tanaman transgenik belum dapat dimakan. Keterbatasan bioteknologi dalam akuakultur adalah cakupannya yang luas dan kegiatan yang sering digunakan adalah penerapan prinsip-prinsip ilmiah dan teknis dalam pengolahan bahan unsur biologi untuk menghasilkan barang dan jasa. Dalam budidaya ikan hias khususnya di hatchery, prinsip biologi merupakan sarana untuk menghasilkan ikan dan benih yang berkualitas (Buwono dkk, 2015).

Rendahnya produksi perikanan Indonesia salah satunya disebabkan oleh kemampuan pengelolaannya. Sekitar 20-25% hasil perikanan tidak dapat dimanfaatkan karena tidak diproses atau diurai. Itu berarti satu juta ton ikan terbuang sia-sia. Pengusaha pengolahan produk ikan menghadapi beberapa kendala untuk mengurangi bagian ikan yang terbuang. Keterbatasan tersebut mulai dari sifat bahan baku, teknologi pengolahan, sumber daya manusia dan tingkat konsumsi ikan.

7.10 Bioteknologi Pengolahan Hasil Perikanan

Bioteknologi Pengolahan Hasil Perikanan (BPHP) merupakan cabang dari bioteknologi pangan yang telah lama digunakan oleh masyarakat Indonesia untuk mengolah hasil perikanan. Produk yang dihasilkan masyarakat melalui bioteknologi meliputi: peda, kecap ikan, bekasem, bekasang, terasi dan silase. Meski tidak memahami prinsip ilmiah di baliknya, pengolah ikan telah menggunakan bioteknologi untuk membuat makanan berbasis ikan selama berabad-abad.

Secara umum BPHP merupakan salah satu teknik pengolahan hasil perikanan dengan menggunakan jasa makhluk hidup yaitu mikroba. Salah satu sifat mikroorganisme

yang mendasari penggunaan BPHP adalah kemampuannya untuk mengurai senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana, menghasilkan makanan dalam bentuk padat, semi padat, dan cair (Pelczar dan Chan, 2005. Mikroba memiliki kemampuan untuk memecah senyawa kompleks (protein, lemak dan karbohidrat) menjadi senyawa yang lebih sederhana (asam amino, asam lemak dan glukosa). Restrukturisasi ini membuat produk ikan menjadi makanan yang aman untuk dikonsumsi manusia. Jika tidak segera dihentikan, mikroba akan memecah senyawa sederhana tersebut menjadi amonia, hidrogen sulfida, keton, dan alkohol. Perubahan ini membuat makanan tidak layak untuk dikonsumsi.

DAFTAR PUSTAKA

- Alimuddin., G. Yoshizaki., O. Carman dan K. Sumantadinata. 2003. Aplikasi Transfer Gen Dalam Akuakultur. Jurnal Perikanan Kelautan Vol. VII No. 2/Desember 2016 (111-120) 119 Jurnal Akuakultur Indonesia 2(1): 41- 50.
- Austin, B. & Austin, D.A. 1999. Bacterial Fish Pathogens, Disease of Farmed and Wild Fish, 3rd (revised) ed. Springer-Praxis, Godalman, p. 263–296.
- Avnimelech, Y. 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds. Aquaculture, 264: 140–147.
- Azim, M.E. & Little, D.C. 2008. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture, 283: 29–35.
- Battacharya S., Dasgupta,S, Datta,M ,and Basu, D, 2002 Biotechnology input in fish breeding .Indian journal of biotechnology,1:29-38.
- Buwono, I.D., Iskandar, Agung, M.U.K. dan Subhan, U. 2015. Aplikasi Elektroforasi Sperma untuk Produksi Ikan Lele Mutiara (*Clarias sp.*) Transgenik. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjadjaran. Jatinangor.
- Carolsfeld J, Powell, J.k, Park,M Fisher. W, H Craig A.G, Chang, J.P. River, J,E and Sherwood N.M, 2000/ Primary structure and function of three gonadotropin releasing hormone. Endocrinology, 141: 505-512.
- Craig, S. & Helfrich, L.A. 2002. Understanding fish nutrition, feed, and feeding. Department of Fisheries and Wildlife Science. Virginia Tech., 8 pp.
- Laelasari dan Purwadaria, 2004. Pengkajian nilai gizi hasil fermentasi mutan *Aspergillus niger* pada substrat bungkil kelapa dan bungkil inti sawit. Biodiversitas, 5(2): 48– 51.

- Miller, D. & Semmens, K. 2002. Waste management in Aquaculture. Aquaculture Information Series. West Virginial University, 10 pp.
- Ng, W.K. & Chen, M.I. 2002. Replacement of soybean meal with palm kernel meal in practical diets for hibrids Asian-African catfish. *Aquaculture*, 12: 67–76.
- Pelczar, M.J. & Chan, E.C.S. 2005. Dasar-dasar mikrobiologi Jilid 1. Terjemahan dari *Elements of microbiology*, oleh Hadioetomo, R.S., Imas, T., Tjitrosomo, S.S., & Angka, S.L. UI-Press, Jakarta: viii + 443 hlm.
- Waluyo, L. 2005. Mikrobiologi Lingkungan. Universitas Muhammadiyah Malang Press. Malang, 381 hlm.

BAB 8

BIOTEKNOLOGI HEWAN

Oleh Rosyid Ridlo Al-Hakim

8.1 Pendahuluan

Perkembangan ilmu bioteknologi telah sampai pada pemanfaatan dalam berbagai bidang kehidupan. Kemajuan teknik (rekayasa) hayati ini ditunjang oleh perkembangan ilmu biologi molekuler dan rekayasa genetika (Tajuddin et al., 2015). Bioteknologi hewan lebih mengarah pada bioteknologi reproduksi, yang mana banyak diterapkan pada semua kategori hewan, dari hewan ternak, *breeding*, hingga hewan liar (Al Hakim & Saputro, 2021).

Bab ini akan mencoba menjelaskan peranan dan aplikasi bioteknologi untuk hewan, termasuk hewan ternak dan *breeding*, hewan akuatik, serta hewan liar. Beberapa aplikasinya antara lain kloning, transgenik, inseminasi buatan (IB), fertilisasi in-vitro (FIV), transfer embrio (TE), spermatozoa seksing, kriopreservasi, bioteknologi veteriner, dan pengayaan pakan. Sebagai penutup bab ini, akan dijelaskan pula mengenai keuntungan dan kerugian dari aplikasi bioteknologi bagi hewan. Terkait persoalan etik dalam riset bioteknologi, akan dibahas pada bab tersendiri yaitu pada Bab 11.

8.2 Kloning

Aplikasi bioteknologi satu ini mengandalkan rekayasa genetik (*genetic engineering*) yang menghasilkan agregat, sekelompok sel, jaringan, dan/atau individu identik (*cloning*:

klon, bermakna kembar) secara aseksual. Teknik kloning ini sama sekali tidak berkaitan dengan kejadian reproduksi seksual, hal ini dikarenakan individu klon yang lahir dari proses bioteknologi kloning akan menurunkan (hereditas) sifat dari tetuanya sama persis (identik). Secara mudahnya, individu klon berasal dari sel somatik tetuanya yang secara genetik sangat identik (Tajuddin et al., 2015).

Banyak referensi mengategorikan teknik kloning sebagai bioteknologi modern (Darmayani et al., 2021; Sutarno, 2016). Beberapa hal yang terpenting antara lain luaran teknik kloning ini diperuntukkan untuk tujuan apakah, dan termasuk prosedur-prosedur melakukan teknik kloning serta pertimbangan etik yang perlu menjadi dasar dari penggunaan teknik kloning (Putri & Atifah, 2022). Secara reproduksi, teknik kloning ini merupakan bentuk perbanyakan individu secara aseksual (Tajuddin et al., 2015). Teknik kloning menerapkan rekayasa genetika (Al Hakim & Saputro, 2021) yang diterapkan pada hewan-hewan melalui teknik transplantasi atau transfer nukleus (inti sel) (TN) dari sel somatik hewan induk atau tetuanya (Al Hakim & Saputro, 2021; Sutarno, 2016).

Beberapa hasil riset terkait teknik kloning untuk bioteknologi reproduksi berbagai spesies hewan ternak dan *breeding*, liar, dan hewan terancam punah dapat dilihat pada artikel ulasan oleh Al Hakim dan Saputro (2021). Belajar dari riset Domba Dolly pada tahun 1996, pertama kali di dunia keberhasilan teknik kloning metode transfer nukleus dari kultur sel tepi dapat melahirkan kloning domba (Campbell et al., 1996). Setelahnya, setahun berikutnya riset kloning dengan teknik serupa yang diterapkan pada monyet rhesus berhasil melahirkan monyet rhesus klon (Meng et al., 1997). Metode transfer nukleus (TN) secara langsung terbukti berkontribusi dalam teknik kloning dalam bioteknologi reproduksi hewan (Simerly et al., 2014).

Kasus hewan terancam punah, bidang konservasi telah melirik pada teknik kloning untuk menyelamatkan hewan terancam punah (Holt et al., 2004). Tren ini disebut sebagai “kloning konservasi” (Hajian et al., 2011). Selain itu, pada hewan ternak, kloning konservasi dapat menjadi terobosan bagi pemuliaan genetik hewan ternak yang berkualitas (Ciptadi, 2007).

8.3 Transgenik

Teknik transgenik atau transgenetika (*transgenic/transgenetic*, *trans-gene*: bermakna gen yang telah melalui *editing* untuk kemudian ditransfer) dapat melahirkan hewan manipulasi yang terdiri atas lebih dari satu jenis sumber genetik spesies hewan yang berbeda, atau dalam tingkatan taksa familia yang serupa. Teknik ini serupa dengan proses kloning hewan, yakni pada bagian metode transfer nukleus (TN), hanya saja pada teknik transgenik, TN yang ditransfer sudah memuat transgen-nya (Tajuddin et al., 2015). Melalui pembentukan sel tepi transgenik yang layak, merupakan salah satu langkah penting dalam generasi transgenik hewan kloning (Lu et al., 2018).

Hewan transgenik pertama kali dikembangkan untuk menghasilkan mencit transgenik pada 1981. Metodenya dengan cara gen yang akan dimasukkan dalam kromosom hewan terlebih dahulu melalui proses isolasi dan kloning. Gen tersebut telah melalui rekayasa genetik pada daerah regulator sehingga dapat terekspresikan pada hewan inang target, gen inilah disebut sebagai transgen. Transgen ini kemudian disuntikkan melalui metode transfer nukleus (TN) ke sel oosit terfertilisasi atau embrio yang sedang berkembang (Tajuddin et al., 2015).

Embrio yang berkembang ini disebut dengan embrio transgenik, kemudian ditransfer dalam oviduk hewan betina sehingga akan tumbuh dan berkembang untuk kemudian dapat dilahirkan sebagai hewan transgenik (Tajuddin et al., 2015).

Salah satu contoh hewan ternak transgenik antara lain banteng transgenik (Lu et al., 2018), yang mana hewan transgenik ini dilahirkan dari metode transfer nukleus (TN) dari sel fibroblast fetal. Selain itu, teknik transgenik ini juga diterapkan pada hewan akuatik, yang mana bertujuan untuk mempercepat waktu pertumbuhan dan perkembangan hewan, resisten terhadap penyakit dan fluktuasi suhu rendah, mempercepat rata-rata konversi makanan, meningkatkan kualitas daging, dan meningkatkan ciri warna pada kulit hewan (Aji, 2012).

8.4 Inseminasi Buatan (IB)

Hewan transgenik yang dihasilkan dapat melalui metode inseminasi buatan (IB), karena memerlukan embrio atau sel oosit terfertilisasi. Hewan transgenik seperti mencit akan diberikan teknik super-ovulasi melalui injeksi hormon tertentu. Selanjutnya, mencit super-ovulasi ini dikawinkan secara seksual dengan mencit jantan untuk kemudian dilakukan pengangkatan sel ovum dan embrionya dari lokasi oviduk mencit betina super-ovulasi (Tajuddin et al., 2015).

Hewan ternak seperti babi (Brassley, 2007) dan sapi, jika diberikan teknik inseminasi buatan (IB) berasal dari embrio dalam kandungan individu betina yang telah berkembang akibat dari teknik injeksi hormon tertentu untuk menjadikan individu betina menjadi super-ovulasi. Inseminasi buatan (IB) kemudian dilakukan selama tiga tahapan waktu, yaitu 12 jam pasca fase estrus untuk IB pertama, lalu 12-18 jam setelah IB pertama, dan 12 jam setelah IB kedua. Tahap akhir berupa

pengambilan sel sperma dari individu jantan untuk ditransfer ke organ serviks atau uterus individu betina melalui daerah vagina, kemudian setelah satu pekan embrio dilakukan pengangkatan melalui vagina individu betina (Tajuddin et al., 2015).

8.5 Fertilisasi In-Vitro (FIV)

Hewan ternak selain diberikan teknik IB untuk mendapatkan keturunan individu yang diinginkan peternak, dapat pula melalui teknik fertilisasi in-vitro (FIV). Teknik FIV pada hewan ternak seperti sapi dilakukan dengan cara pengambilan sel oosit sapi betina melalui penyembelihan atau cara lain untuk kemudian dimatangkan secara in-vitro di laboratorium. Sel oosit yang telah matang kemudian dicampur dengan sel sperma sapi jantan untuk dapat terjadi proses fertilisasi (Tajuddin et al., 2015).

Teknik FIV ini dapat dilakukan untuk hewan selain ternak, seperti hewan akuatik, *breeding*, dan hewan terancam punah yang sedang dalam proses konservasi. Untuk dapat menghasilkan keturunan yang dilakukan proses fertilisasinya secara skala laboratorium (in-vitro), perlu serangkaian prosedur yang steril dan aman, serta mengutamakan kesehatan dan kesejahteraan hewan (kesrawan), disisi lain keselamatan personilnya.

8.6 Transfer Embrio (TE)

Transfer embrio (TE) telah banyak diterapkan untuk memanipulasi embrio dalam rangka menghasilkan keturunan kembar. TE dimanfaatkan untuk menyelesaikan permasalahan pemuliaan hewan, antara lain mempercepat waktu interval generasi dan pengujian gen-gen tertentu yang diinginkan dengan dalam waktu singkat (Hajrah et al., 2022). Embrio yang telah dimanipulasi umumnya telah mengalami transformasi

genetik, baik melalui serangkaian prosedur dalam teknik transgenik maupun beberapa teknik transformasi embrio lainnya, seperti mikroinjeksi pronukleus (MP), transfer gen melalui sel induk embrional, vektor retrovirus, dan transfer nukleus (TN). Embrio hasil transformasi ini telah ditanam gen asing yang kemudian ditumbuh-kembangkan dalam induk individu angkat yang telah disiapkan untuk dapat menerima embrio transformasi ini (Tajuddin et al., 2015).

TE pada mencit terjadi melalui proses perkawinan seksual antara mencit betina normal dengan mencit jantan vasektomi. TE pada sapi terjadi melalui proses penanaman embrio dengan cara TE ke uterus sapi betina setelah fase ovulasi terjadi. Keturunan sapi yang diharapkan umumnya akan mengandung transgen, dan jika keturunannya mengandung sel-sel germinal transgenik, maka keturunan anaknya bersifat homozigot untuk transgen-nya (Tajuddin et al., 2015).

Sementara itu, pada kawin injeksi memfokuskan pada sel sperma individu jantan, maka TE tidak hanya potensi yang berasal dari individu jantan saja yang dioptimalkan. Potensi individu betina pun yang berkualitas unggul tentu juga dimanfaatkan dengan optimal, karena pada teknik TE, individu betina unggul tidak perlu mengalami kebuntingan, tetapi hanya cukup menghasilkan embrio yang telah ditanam, untuk dapat bisa ditransfer pada induk angkat betina lainnya dengan kualitas biasa untuk mengalami kebuntingan. Embrio dapat ditransfer ke individu betina resipien secara langsung atau dibekukan (kriopreservasi) untuk disimpan dan dilakukan TE pada waktu lain di masa mendatang (Sutarno, 2016).

8.7 Spermatozoa Seksing

Teknik spermatozoa seksing dalam bioteknologi hewan merupakan metode seleksi spesies dengan jenis kelamin tertentu (Hajrah et al., 2022). Teknik pemisahan spermatozoa X dan Y dilakukan melalui observasi perbedaan densitas atau motilitas sel sperma. Manfaat teknik spermatozoa seksing ini untuk peternak antara lain untuk menghasilkan anakan individu betina yang lebih banyak sehingga dapat dimanfaatkan produksi susu, daging, kulit, dan rambut, serta disisi lain untuk menghasilkan anakan individu jantan yang dapat dioptimalkan keturunannya (Susilawati et al., 2014).

Metode yang digunakan dalam spermatozoa seksing khususnya untuk penyortiran kromosom spermatozoa adalah metode *flow cytometry* dengan tingkat akurasi 90% (Seidel, 2003). Teknik ini berdasarkan prinsip penyortiran sperma dalam 3 bagian, yaitu sperma-X, sperma-Y, dan sperma tidak dapat dipisahkan, serta sperma mati. Prosedur spermatozoa seksing yang telah diterapkan per 2013, telah diklaim meningkatkan tingkat kesuburan antara 4 dan 6 poin persentase (10%) (Seidel, 2014). Metode *flow cytometry*, pada kromosom X sperma dan kromosom Y sperma diwarnai dengan fluoresense, hal ini dipisahkan dari satu sama lain melalui analisis perbedaan kandungan genetik DNA-nya untuk kemudian dibekukan (Naniwa et al., 2019).

8.8 Kriopreservasi

Teknik kriopreservasi adalah salah satu teknik pembekuan atau penyimpanan sampel hayati dalam nitrogen cair. Teknik kriopreservasi ini dapat memungkinkan sampel hayati dapat hidup bertahan lama karena meninggalkan proses-proses biokimia yang terjadi dalam sampel jika di kehidupan alaminya, sehingga mencegah timbulnya mutasi genetik pada sampel hayati (Sudarmonowati et al., 2021).

Proses kriopreservasi dan metode pengenceran semen hewan ternak akan sangat memengaruhi kualitas sel sperma. Berbagai upaya riset untuk menentukan formulasi pengencer cairan semen yang tepat terus dilakukan (Hajrah et al., 2022). Selain itu, salah satu caranya dengan pengenceran penambahan sukrosa sebagai zat krioprotektan.

8.9 Bioteknologi Veteriner

Aplikasi bioteknologi dalam veteriner (kedokteran hewan) banyak mengandalkan rekayasa genetik (*genetic engineering*). Rekayasa genetik (DNA rekombinan) merupakan serangkaian proses eksperimental untuk mengisolasi, mengidentifikasi, dan memperbanyak suatu fragmen materi genetik DNA dalam galur murninya. Pemanfaatan rekayasa genetika dalam veteriner dapat memberikan solusi untuk memahami proses-proses metabolisme dan hewan-hewan dengan sifat unggul (Sutarno, 2016).

Rekayasa genetika sendiri sebenarnya merupakan dasar dari bioteknologi hewan secara umum yang memuat teknik-teknik manipulasi, kloning, DNA rekombinan, modifikasi, dan genetika modern. Prosedur-prosedurnya terdiri atas identifikasi, replikasi, modifikasi dan transfer materi genetik baik dari sel, jaringan, atau organ. Umumnya, teknik untuk memanipulasi DNA dengan fokus untuk ekspresi gen yang ditarget. Skala luasnya, teknik rekayasa genetik pada veteriner banyak melibatkan penanda (marker) seperti *Marker-Assisted Selection* (MAS), untuk meningkatkan efisiensi suatu organisme rekayasa berdasarkan fenotipnya (Sutarno, 2016). Selain itu, aplikasi dari rekayasa genetik dalam veteriner yang banyak dilakukan ialah manipulasi genom hewan untuk mengurangi tingkat infeksi penyakit menular yang bersifat zoonosis.

8.10 Pengayaan Pakan

Aplikasi bioteknologi untuk pengayaan pakan umumnya diperuntukkan bagi hewan ternak dan *breeding*. Dalam rangka meningkatkan produktivitas ternak, jenis pakan yang dipilih tentunya harus disesuaikan tingkat nutrisi pakannya. Riset-riset yang terkait dengan pengayaan pakan khususnya pada peningkatan nutrisi pakan bagi hewan ternak antara lain pengembangan rami sebagai pakan hijauan ternak (Suryanah & Susilawati, 2022), rekayasa ransum multi-enzim (Balqis et al., 2022; Sari et al., 2022), rekayasa ransum berprobiotik (Daud et al., 2022; Mulyantini & Lole, 2022), dan rekayasa ransum komplit berasal dari limbah organik (Marsudi et al., 2022).

8.11 Keuntungan dan Kerugian Bioteknologi Hewan

Aplikasi bioteknologi hewan yang sangat beragam ini tentunya dapat memunculkan keuntungan dan kerugian. Berikut ini dijelaskan beberapa keuntungan dan kerugian yang ditimbulkan dari penerapan bioteknologi bagi hewan.

8.11.1 Keuntungan Bioteknologi Hewan

Teknik kloning terbukti menjadi terobosan riset xenotransplantasi (Min et al., 2010). Melalui teknik kloning, organ tubuh manusia tidak lagi memerlukan donor manusia hidup, sehingga dapat menjadi alternatif bagi permasalahan transplantasi organ pada manusia (Sutarno, 2016). Teknik kloning dapat memproduksi organ manusia yang mirip secara genetik melalui riset in-vitro maupun in-vivo.

Teknik transgenik apabila diterapkan untuk permasalahan kesehatan manusia, tentunya dapat bermanfaat dan mengurangi risiko fatal yang ada (Janssen et al., 2023). Produksi hewan transgenik dapat menghasilkan banyak aplikasi potensial dalam era *genome editing*, seperti membangun model genetik penyakit manusia, memproduksi

protein farmasi melalui bioreaktor kelenjar susu hewan, dan meningkatkan kinerja pertumbuhan dan ketahanan penyakit hewan ternak (Laible et al., 2015).

Teknik IB pada hewan ternak telah dilaporkan lebih banyak memuat dampak positif, diantaranya terjadi peningkatan produktivitas pada sapi betina hasil IB (Hajrah et al., 2022; Pasino et al., 2020). Selain itu, teknik IB ditujukan untuk memilih bibit unggul demi menghasilkan keturunan individu ternak yang diinginkan sesuai dengan kualitas tetuanya (Wati et al., 2022; Widodo et al., 2022).

Teknik bioteknologi reproduksi hewan lainnya secara umum mempunyai keuntungan untuk mendapatkan keturunan berkualitas unggul, mampu menghasilkan produk hewan terbaik, dan menghilangkan gen-gen yang berpotensi buruk bagi produk hewan maupun bagi kelangsungan hidup hewan itu sendiri. Bidang konservasi memungkinkan penerapan teknik-teknik bioteknologi reproduksi hewan yang beragam untuk memastikan kelangsungan hidup dan melestarikan keturunannya yang mungkin sangat sulit terjadi reproduksi seksual, terlebih jika statusnya di alam sangat terbatas dan terancam punah.

8.11.2 Kerugian Bioteknologi Hewan

Terobosan riset domba Dolly melalui teknik kloning, memunculkan perdebatan hebat di masyarakat. Kemunculan tren isu "*breedwealth*" menjadikan ide-ide bioteknologi reproduksi hewan lainnya untuk dapat memunculkan hewan manipulasi melalui pendekatan transfer nukleus (TE), fatalnya apabila dilakukan pada manusia (Franklin, 1997). Karenanya, persoalan etik menjadi perihal utama yang memberatkan (Putri & Atifah, 2022).

Sementara itu, teknik transgenik dapat mempunyai efek buruk terhadap kesehatan manusia dan lingkungan, sehingga manajemen teknik transgenik seperti regulasi, sterilisasi hewan akuatik transgenik yang dibudidaya, dan pemberian label untuk produk makanan manusia hasil dari teknik transgenik penting diperhatikan (Aji, 2012). Selain itu, teknik-teknik bioteknologi hewan lainnya dapat pula menghasilkan kerugian seperti permasalahan etik dan dampak buruk kesehatan hewan juga manusia. Namun, semua produk hewan yang dapat dikonsumsi manusia, melalui teknik-teknik bioteknologi dengan pendekatan rekayasa genetika diatur dalam Peraturan Pemerintah Republik Indonesia No. 21 Tahun 2005 tentang Keamanan Hayati Produk Rekayasa Genetik (Dewi, 2012).

DAFTAR PUSTAKA

- Aji, L. P. (2012). Transgenetic in Aquaculture. *Jurnal Penelitian Sains*, 15(3). <https://doi.org/10.56064/jps.v15i3.108>
- Al Hakim, R. R., & Saputro, T. A. (2021). Development of somatic cell nuclear transfer biotechnology for cloning of animals: a mini-review. *Journal on Biology and Instruction*, 1(1), 20–27. <https://doi.org/10.12928/joubins.v1i1.3864>
- Balqis, N., Sigit, M., & Akbar, M. (2022). Pengaruh Penambahan Tepung Daun Pepaya (*Carica Papaya* L.) dan Multi Enzim dalam Ransum terhadap Performa Produksi Ayam Broiler. *Prosiding SENACENTER (Seminar Nasional Cendekia Peternakan)*, 1(1). <https://doi.org/10.32503/SENACENTER.V1i1.13>
- Brassley, P. (2007). Cutting across nature? The history of artificial insemination in pigs in the United Kingdom. *Studies in History and Philosophy of Science Part C: Studies in History and Philosophy of Biological and Biomedical Sciences*, 38(2), 442–461. <https://doi.org/10.1016/J.SHPSC.2007.03.008>
- Campbell, K. H. S., McWhir, J., Ritchie, W. A., & Wilmut, I. (1996). Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. *Nature*, 380(6569), 64–66. <https://doi.org/10.1038/380064a0>
- Ciptadi, G. (2007). Pemanfaatan teknologi kloning hewan untuk konservasi sumber genetik ternak lokal melalui realisasi bank sel somatis. *Jurnal Ternak Tropika*, 6(2), 60–65.

- Darmayani, S., Hidana, R., Sa'diyah, A., Isrianto, P. L., Hidayati, H., Jumiarni, D., Hafsari, A. R., Latumahina, F. S., Setyowati, E., Estikomah, S. A., Sri, K. A., Syam, S., Sufiyanto, M. I., Yusal, M. S., Watuguly, T. W., & Gultom, V. D. N. (2021). *BIOTEKNOLOGI TEORI DAN APLIKASI*. CV Widina Media Utama.
- Daud, M., Latief, H., & Yulinda, Y. (2022). Penggunaan Limbah Ikan Leubiem (*Chanthidermis Maculatus*) dan Probiotik dalam Ransum Terhadap Produksi dan Persentase Karkas Itik Peking. *Prosiding SENACENTER (Seminar Nasional Cendekia Peternakan)*, 1(1), 78–83.
<https://doi.org/10.32503/SENACENTER.V1i1.15>
- Dewi, R. R. S. P. S. (2012). AMANKAH MENGONSUMSI IKAN TRANSGENIK? *Media Akuakultur*, 7(1), 1–4.
<https://doi.org/10.15578/MA.7.1.2012.1-4>
- Franklin, S. (1997). Dolly: a New Form of Transgenic Breedwealth. *Environmental Values*, 6(4), 427–437.
<https://doi.org/10.3197/096327197776678997>
- Hajian, M., Hosseini, S. M., Forouzanfar, M., Abedi, P., Ostadhosseini, S., Hosseini, L., Moulavi, F., Gourabi, H., Shahverdi, A. H., Taghi Dizaj, A. V., Kalantari, S. A., Fotouhi, Z., Iranpour, R., Mahyar, H., Amiri-Yekta, A., & Nasr-Esfahani, M. H. (2011). 'Conservation cloning' of vulnerable Esfahan mouflon (*Ovis orientalis isphahanica*): In vitro and in vivo studies. *European Journal of Wildlife Research*, 57(4), 959–969.
<https://doi.org/10.1007/s10344-011-0510-5>

- Hajrah, H., Hafsan, H., Zulkarnain, Z., & Makmur, K. (2022). Pemanfaatan Bioteknologi dalam Bidang Peternakan Untuk Peningkatan Kualitas Hewan Ternak Di Sulawesi Selatan. *Teknosains: Media Informasi Sains Dan Teknologi*, 16(2), 261–266.
<https://doi.org/10.24252/TEKNOSAINS.V16I2.28754>
- Holt, W. V., Pickard, A. R., & Prather, R. S. (2004). Wildlife conservation and reproductive cloning. *Reproduction*, 127(3), 317–324. <https://doi.org/10.1530/rep.1.00074>
- Janssen, P., Isa, T., Lanciego, J., Leech, K., Logothetis, N., Poo, M.-M., & Mitchell, A. S. (2023). Visualizing advances in the future of primate neuroscience research. *Current Research in Neurobiology*, 4, 100064.
<https://doi.org/10.1016/J.CRNEUR.2022.100064>
- Laible, G., Wei, J., & Wagner, S. (2015). Improving livestock for agriculture – technological progress from random transgenesis to precision genome editing heralds a new era. *Biotechnology Journal*, 10(1), 109–120.
<https://doi.org/10.1002/BIOT.201400193>
- Lu, F., Luo, C., Li, N., Liu, Q., Wei, Y., Deng, H., Wang, X., Li, X., Jiang, J., Deng, Y., & Shi, D. (2018). Efficient Generation of Transgenic Buffalos (*Bubalus bubalis*) by Nuclear Transfer of Fetal Fibroblasts Expressing Enhanced Green Fluorescent Protein. *Scientific Reports*, 8(1), 1–10.
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-25120-5>

- Marsudi, M., Ali, N., Fahrodi, D. U., Suhartina, S., & Khaliq, T. D. (2022). Pembuatan Ransum Komplit Berbasis Limbah Tanaman Pangan: Peningkatan Produktivitas dan Kesehatan Kambing di Desa Tandasura Kabupaten Polman. *Prosiding SENACENTER (Seminar Nasional Cendekia Peternakan)*, 1(1).
<https://doi.org/10.32503/SENACENTER.V1I1.30>
- Meng, L., Ely, J. J., Stouffer, R. L., & Wolf, D. P. (1997). Rhesus Monkeys Produced by Nuclear Transfer. *Biology of Reproduction*, 57(2), 454–459.
<https://doi.org/10.1095/BIOLREPROD57.2.454>
- Min, T. S., Han, H. J., & Park, S. H. (2010). Porcine Xenotransplantation to Primates. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 23(11), 1535–1542.
<https://doi.org/10.5713/AJAS.2010.10299>
- Mulyantini, N. G. A., & Lole, U. R. (2022). Suplementasi Probiotik pada Ransum Lokal yang Berbentuk Tepung dan Pellet Terhadap Performa Ayam Broiler. *Prosiding SENACENTER (Seminar Nasional Cendekia Peternakan)*, 1(1).
<https://doi.org/10.32503/SENACENTER.V1I1.10>
- Naniwa, Y., Sakamoto, Y., Toda, S., & Uchiyama, K. (2019). Bovine sperm sex-selection technology in Japan. *Reproductive Medicine and Biology*, 18(1), 17–26.
<https://doi.org/10.1002/RMB2.12235>
- Pasino, S., Waru, A. T., & Mirnawati, M. (2020). Peningkatan Produktivits Sapi Betina Melalui Inseminasi Buatan dengan Metode Rektovaginal. *Jurnal Peternakan Lokal*, 2(2), 39–45.
<https://doi.org/10.46918/PETERNAKAN.V2I2.970>

- Putri, S. T., & Atifah, Y. (2022). Etika Bioteknologi: Kloning terhadap Manusia. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*, 2(1), 475–491.
<https://doi.org/10.24036/PROSEMNASBIO/VOL2/413>
- Sari, S. E., Sigit, M., & Akbar, M. (2022). Pengaruh Penambahan Tepung Daun Pepaya (*Carica Papaya* L.) Dan Multi Enzim Dalam Ransum Terhadap Performa Karkas Dan Lemak Abdominal Ayam Broiler. *Prosiding SENACENTER (Seminar Nasional Cendekia Peternakan)*, 1(1), 71–77.
<https://doi.org/10.32503/SENACENTER.V1I1.14>
- Seidel, G. E. (2003). Sexing mammalian sperm—intertwining of commerce, technology, and biology. *Animal Reproduction Science*, 79(3–4), 145–156.
[https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(03\)00162-3](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(03)00162-3)
- Seidel, G. E. (2014). Update on sexed semen technology in cattle. *Animal*, 8(s1), 160–164.
<https://doi.org/10.1017/S1751731114000202>
- Simerly, C., Tachibana, M., Mitalipov, S., & Schatten, G. (2014). Cloning Primates. In *Principles of Cloning: Second Edition* (pp. 299–310). Academic Press.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386541-0.00023-0>
- Sudarmonowati, E., Rahman, N., & Hartati, N. S. (2021). Kriopreservasi Mata Tunas Ubi Kayu Lokal Indonesia : Faktor Penentu Keberhasilan. *Biotropika: Journal of Tropical Biology*, 9(1), 56–68.
<https://doi.org/10.21776/UB.BIOTROPIKA.2021.009.01.07>

- Suryanah, S., & Susilawati, I. (2022). Produksi Rami (*Boehmeria nivea*) sebagai Hijauan Pakan pada Umur Pemetongan Berbeda. *Prosiding SENACENTER (Seminar Nasional Cendekia Peternakan)*, 1(1).
<https://doi.org/10.32503/SENACENTER.V1i1.8>
- Susilawati, T., Rahayu, S., Udrayana, S., Sudarwati, H., & Nugroho, E. (2014). Effect of different centrifugation duration on Simmental bull sperm quality and membrane status after sexing, cooling and freezing processes. *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*, 28–35.
- Sutarno, S. (2016). REKAYASA GENETIK DAN PERKEMBANGAN BIOTEKNOLOGI DI BIDANG PETERNAKAN. *Proceeding Biology Education Conference*, 13(1), 23–27.
- Tajuddin, T., Moeis, M. R., Belu, W. O. H., Rupaedah, B., & Suyanto, S. (2015). *Bioteknologi*. Universitas Terbuka.
- Wati, E. F. F., Rokana, E., & Lisnanti, E. F. (2022). Hubungan antara BCS dan Umur terhadap Tingkat Keberhasilan Inseminasi Buatan pada Sapi Perah di Desa Babadan Kecamatan Ngancar. *Prosiding SENACENTER (Seminar Nasional Cendekia Peternakan)*, 1(1).
<https://doi.org/10.32503/SENACENTER.V1i1.28>
- Widodo, H. S., Hidayah, C. N., Subagyo, Y., & Syamsi, A. N. (2022). Preferensi Peternak dalam Pemilihan Pejantan Sapi Perah Sumber Bibit Inseminasi Buatan Dan Relasinya dengan Alel A2 Gen CSN2. *Prosiding SENACENTER (Seminar Nasional Cendekia Peternakan)*, 1(1), 146–150.
<https://doi.org/10.1080/10408390591001>

BAB 9

DNA FINGERPRINTING

Oleh Rina Hidayati Pratiwi

9.1 Pendahuluan

Bab 9 ini membahas tentang apa itu DNA secara umum, DNA fingerprinting, fungsi DNA fingerprinting hingga aplikasinya dalam riset untuk pemenuhan kebutuhan hidup sehari-hari.

Model struktur DNA hasil analisis Watson dan Crick mampu menjelaskan bagaimana DNA membawa informasi genetik sebagai cetak biru (*blueprint*) yang dapat dicopy dan diperbanyak saat sel membelah sehingga sel-sel baru juga mengandung informasi genetik yang sama. Inilah mengapa sifat dan ciri fisik seseorang berasal dari pewarisan orang tua dan nantinya akan diturunkan ke anak cucunya. Profil pita DNA yang dihasilkan pada penelitian DNA fingerprinting oleh masing-masing individu menunjukkan pola yang bervariasi sehingga dapat diketahui similaritas dan variabilitas genetik yang diturunkan dari tiap generasi dalam satu keluarga. Adapun fungsi DNA adalah:

1. Untuk mengidentifikasi gen
2. Untuk menentukan garis keturunan antara anak dengan ayahnya dan untuk menyampaikan informasi dari generasi ke generasi berikutnya
3. Untuk mengatur perkembangan dan proses metabolisme individu

4. Sebagai zarah tersendiri dalam kromosom

Tes DNA semakin banyak digunakan untuk menganalisis bahan biologis sejak DNA memiliki beberapa keunggulan, antara lain DNA bersifat spesifik (setiap makhluk hidup memiliki urutan DNA yang unik), relatif stabil, dapat diperbanyak secara *in vitro*, dan hampir semua sel tubuh organisme tingkat tinggi DNA hampir tersebar.

9.2 DNA Fingerprinting

DNA Fingerprinting adalah salah satu alat identifikasi yang bermanfaat untuk mengenali makhluk hidup, melihat keragaman individu, keragaman genetik/ keanekaragaman suatu plasma nutfah, yang juga dapat membedakan makhluk hidup yang berkerabat dekat. Untuk sejarahnya sendiri pertama kali di kembangkan oleh ilmuwan genetika Inggris Alec Jeffreys pada tahun 1984. Jeffreys menyadari bahwa setiap individu memiliki pola unik dari mini satelit (satu-satunya pengecualian adalah beberapa individu yang berasal dari satu zigot, seperti pada kembar identik).

Setiap makhluk hidup memiliki rangkaian unik yang khusus disebut DNA. Rangkaian yang tersusun dalam DNA tidak dapat dengan mudah berubah sehingga dalam penelitian genetik memiliki tingkat kevalidan yang tinggi. Ada 2 aspek DNA yang digunakan dalam DNA fingerprinting, yaitu di dalam satu individu terdapat DNA yang seragam dan variasi genetik terdapat diantara individu. Prosedur DNA fingerprinting memiliki kesamaan dengan mencocokkan sidik jari seseorang dengan orang lain. Hanya saja perbedaanya adalah proses ini dilakukan tidak menggunakan sidik jari, tetapi menggunakan DNA individu karena secara individu DNA seseorang itu unik.

Digunakan DNA karena DNA memiliki materi hereditas yang berfungsi untuk menentukan suatu urutan keturunan dalam suatu keluarga secara turun-menurun dengan pola yang acak (karena berasal dari fusi inti ovum dan sperma) sehingga dapat digunakan untuk identifikasi pelaku telah berganti wajah atau dalam kegiatan forensik.

Analisis DNA fingerprinting adalah salah satu metode aplikasi marka molekuler untuk deteksi filogenetik dalam memahami keanekaragaman suatu plasma nutfah melalui rekonstruksi hubungan kekerabatan (*phylogenetic relationship*) (Hershkovitz dan Leipe, 1988).

DNA fingerprinting bergantung pada sebagian kecil dari genom. Setiap DNA tersusun dari ekson yang merupakan daerah yang mengkode protein dan intron yang berupa daerah non-coding, biasanya disebut junk DNA. Dalam DNA kromosom terdapat sekuens berukuran 20-100 bp yang berulang. Potongan pengulangan ini dikenal sebagai VNTRs (*Variable Number Tandem Repeats*) yang dapat diisolasi dari DNA seseorang. Setiap individu memiliki VNTRs yang diturunkan oleh ayah dan ibu sehingga tidak ada individu yang memiliki VNTRs sama persis. Perbedaan VNTRs dari setiap individu terletak dalam pada berapa kali *sequence* ini diulang dalam daerah VNTRs. Perbedaan jumlah pengulangan ini akan menyebabkan setiap individu memiliki Panjang VNTRs yang berbeda sehingga memungkinkan untuk mengetahui identitas seseorang melalui profil DNAny.

9.3 Metode untuk melakukan DNA fingerprinting

Metode DNA fingerprinting dapat diterapkan untuk semua makhluk hidup, baik prokariotik maupun eukariotik (Madigan et al., 2009) dalam (Farida 2009).

Berikut ini adalah macam-macam metode untuk melakukan DNA fingerprinting, yaitu:

1. Elektroforesis
2. Analisa menggunakan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) atau dot blot (slot blot)
3. Analisa STR (*Short Tandem Repeats*)
4. AmpFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*)
5. Analisa kromosom Y
6. Analisa DNA mitokondria
7. Analisa RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*)

Analisis DNA fingerprinting dapat dilakukan dengan beberapa cara, salah satunya melibatkan penggunaan metode PCR. DNA fingerprinting menggunakan metode PCR lebih mudah dilakukan karena tidak memerlukan enzim restriksi, tidak memerlukan hibridisasi ke pelacak tertentu, tidak memerlukan transfer fragmen DNA dari gel ke membran dan dapat dilakukan untuk sejumlah kecil sampel DNA (Yuwono, 2009) dalam (Farida 2009).

Pada prinsipnya cara kerja dalam melakukan DNA fingerprinting tergantung jenis organisme yang akan diteliti. Oleh sebab itu perlu adanya optimasi prosedur mencakup, jenis primer yang akan digunakan, seberapa banyak campuran reaksi PCR yang akan dilakukan, cara preparasi DNA, ataupun bahan-bahan lain yang digunakan. Peneliti perlu melakukan optimasi lagi saat penelitian agar memperoleh hasil yang baik

walaupun prosedur yang sudah ada dipakai sebagai acuan dalam melakukan penelitian (Farida 2009).

Teknik rep-PCR merupakan salah satu teknik untuk menghasilkan sidik jari genom bakteri yang dapat digunakan untuk membedakan keragaman mikrobial berdasarkan jumlah dan ukuran sekuen repetitif bakteri. Teknik ini sering digunakan agar tidak meneliti isolat bakteri yang ternyata sama berdasarkan sidik jari genetiknya. Metode rep-PCR sering digunakan sebagai salah satu metode penapisan (*screening*) awal isolat-isolat bakteri yang tidak beraturan dengan pola amplifikasi yang berbeda. Penapisan bakteri biasanya dilakukan sebelum dilakukan identifikasi lebih lanjut seperti sekuensing gen 16S rRNA. Prosedur ini cukup sensitif, mudah digunakan, dan dapat diaplikasikan terhadap jumlah strain yang banyak.

Pada prinsipnya cara kerja dalam melakukan DNA fingerprinting tergantung jenis organisme yang akan diteliti. Untuk itu perlu dilakukan optimasi prosedur yang dipakai, seperti cara preparasi DNA, jumlah campuran reaksi PCR yang akan dilakukan, jenis primer yang akan digunakan, bahan-bahan lain yang digunakan, metode yang dipilih, dan lain sebagainya.

Prosedur DNA Fingerprinting dengan rep-PCR, diantaranya:

1. Preparasi DNA Template

Metode preparasi DNA cetakan untuk rep-PCR disesuaikan dengan sifat mikroba yang akan dianalisis, misalnya pemilihan buffer yang digunakan untuk melisis dinding sel bakteri serta cara kerja yang juga bervariasi untuk masing-masing jenis bakteri. DNA cetakan untuk rep-PCR ini dapat diperoleh dari hasil isolasi DNA kromosom

maupun menggunakan sel bakteri utuh tanpa proses isolasi DNA terlebih dahulu.

2. Reaksi amplifikasi DNA dengan rep-PCR

Metode reaksi amplifikasi DNA yang digunakan adalah denaturasi awal 95°C selama 7 menit dan proses selanjutnya sebanyak 30 siklus yang terdiri dari denaturasi (pemisahan DNA rantai ganda menjadi rantai tunggal), penempelan primer/annealing dan polimerasi (pemanjangan rantai DNA). Setelah akhir siklus, polimerasi dilanjutkan pada suhu 68°C selama 10 menit.

3. Analisis hasil PCR

Visualisasi hasil PCR dapat dilakukan dengan menggunakan polyacrilamid gel electrophoresis (PAGE) 8-12% dengan pewarnaan perak nitrat (*silver staining*). Selain itu dapat juga menggunakan elektroforesis gel agarose 1,5-2% dengan pewarna *ethidium bromide* untuk visualisasi DNA dibawah sinar ultraviolet.

4. Analisis Cluster Hasil Visualisasi DNA Fingerprinting

Hasil sidik jari DNA dianalisis cluster, dengan bantuan program komputer, misalnya program NTSYS menggunakan product moment dan metode UPGMA (*Unweighted Pair Groups with Arithmetical Averages*). Hasilnya berupa dendrogram dengan nilai similaritas tertentu antar isolat. Analisis sidik jari DNA ini digunakan untuk mengetahui keragaman isolat-isolat bakteri yang diperoleh.

9.4 Tahapan proses DNA Fingerprinting

Tahapan proses DNA Fingerprinting, diantaranya:

1. Proses fingerprinting DNA dimulai dengan mengisolasi DNA dari bagian tubuh seperti darah, air mani, cairan vagina, akar rambut, gigi, tulang, dan bagian tubuh lain.
2. Polymerase chain reaction (PCR) adalah langkah selanjutnya dalam proses. Dalam banyak situasi, hanya ada sejumlah kecil DNA yang tersedia untuk sidik jari DNA. Karenanya, dalam tabung reaksi, replikasi DNA terjadi untuk membuat lebih banyak DNA. DNA dan sel akan mengalami replikasi DNA untuk membuat lebih banyak DNA yang akan diuji.
3. Setelah DNA diisolasi dan lebih banyak salinan DNA telah dibuat, DNA akan diuji. Ilmuwan akan memperlakukan DNA dengan enzim restriksi (enzim yang memotong DNA dekat urutan nukleotida pengenalan spesifik yang dikenal sebagai situs pembatasan).
4. Pemotongan DNA pada tempat tertentu atau urutan pasangan basa spesifik dengan menggunakan substansi yang disebut enzim restriksi, sehingga dihasilkan beberapa fragmen DNA dengan panjang yang bervariasi. Enzim restriksi ini merupakan endonuclease yang akan mengenali urutan 4 – 8 pasangan basa spesifik pada DNA (situs restriksi) dan memberi sinyal untuk berhenti bergeser serta dilanjutkan dengan pemutusan ikatan fosfodiester dari 2 nukleotida tersebut.

5. Elektroforesis gel adalah langkah selanjutnya dalam proses sidik jari DNA ini. Selama elektroforesis gel, arus listrik diterapkan pada campuran gel, yang meliputi sampel DNA.
6. DNA (*single stranded*) adalah *cross-linked* terhadap nilon menggunakan panas atau sinar UV.
7. Probe muncul di film fotografi karena untaian DNA berpendar dan mengeluarkan cahaya. Pada akhirnya itu meninggalkan bintik-bintik hitam pada film yang juga dikenal sebagai pita DNA seseorang. Apa yang membentuk sidik jari adalah pola pita yang unik. Pola band berbeda karena kita semua berbeda dan unik (selain kembar identik). Setelah filter terpapar pada film x-ray, urutan DNA radioaktif ditampilkan dan dapat dilihat dengan mata telanjang. Ini menciptakan pola pita atau apa yang kita kenal sebagai sidik jari DNA. Teknik ini disebut southern blotting.

Kemudian dilakukan analisis kuantitatif fragmen DNA dengan mengukur jarak tiap fragmen dan dibandingkan dengan HindIII lambda DNA markers. Setelah diketahui jarak tiap fragmen, maka kita dapat memperkirakan ukuran fragmen DNA tersebut dalam jumlah pasang basa yang akan diketahui pada Semilog Graph Paper.

9.5 Aplikasi DNA Fingerprinting

Aplikasi DNA Fingerprinting genetik, diantaranya:

1. Identifikasi taksa dan filogeni

Mengacu pada perkembangan atau evolusi kelompok organisme tertentu. Filogeni menunjukkan hubungan antara kelompok organisme perbedaan dan persamaan di antara mereka. Taksonomi mengarah pada studi filogeni melalui kerangka kerja membagi organisme ke dalam hierarki kategori taksonomi seperti keluarga, genus dan spesies.

2. Analisis keragaman

Keragaman tanaman dapat dibedakan menjadi 2 katagori yaitu keragaman yang disebabkan oleh lingkungan (keragaman lingkungan) dan keragaman yang disebabkan oleh pewarisan genetik (keragaman genetik). Keragaman lingkungan dapat diketahui apabila tanaman mempunyai sifat genetik sama (misalnya galur murni) ditanam pada lingkungan yang berbeda.

3. Pengujian hibriditas

Karakteristik benih tidak dapat diandalkan karena sebagian besar dikendalikan oleh induk induk. Penanda biokimia penggunaannya terbatas karena dapat dipengaruhi oleh tahap perkembangan dan lingkungan, dan hanya dapat diuji dengan bahan jaringan yang cukup besar. Oleh karena itu, sidik jari genetik merupakan pendekatan yang ideal untuk pengujian hibriditas.

4. Gene mapping

Dengan meningkatnya kepadatan penanda genetik dalam genom tanaman dan meningkatnya kekuatan metode statistik terkait, sekarang mungkin untuk menentukan wilayah genom tertentu yang bertanggung jawab atas ekspresi sifat fisiologis dan agronomi penting, banyak di antaranya adalah sifat kuantitatif. Penanda DNA telah digunakan secara efisien dalam menandai banyak sifat individu yang sangat penting untuk program pemuliaan seperti hasil, ketahanan terhadap penyakit, toleransi stres, kualitas benih, dan lain-lain.

5. Variasi somoklonal

Variasi somaklonal mengacu pada variasi yang terlihat pada tanaman yang diproduksi melalui kultur jaringan tanaman. Ini membutuhkan banyak peristiwa genetik dan atau epigenetik yang memengaruhi pola ekspresi, atau mengakibatkan perubahan mutasi gen

6. Plant patenting

Sidik jari DNA menempati tempat yang unik di bidang perlindungan varietas tanaman. Secara konvensional, perbedaan morfologi, karakteristik budaya, dan silsilah menjadi dasar awal untuk membedakan varietas yang diusulkan dari yang sudah ada. Sidik jari DNA memajukan batasan penelitian biologi tanaman yang mana mengantarkan ke era baru untuk penelitian genomik dan bioteknologi. Teknik fingerprinting

DNA ini memakan banyak waktu tetapi telah dikembangkan dengan bantuan teknologi PCR.

Jadi, pengaplikasian DNA fingerprinting sebagai berikut, yang pertama untuk sains forensic, lalu determinasi garis keturunan, lalu identifikasi seseorang, diagnosis penyakit keturunan, pengembangan pengobatan untuk gangguan penyakit turunan, dan terakhir breeding program.

Manfaat lain dari DNA fingerprinting adalah untuk mengidentifikasi bagian tubuh manusia, mempelajari hubungan antar ras, mencari keluarga anak-anak yang terpisah akibat perang, identifikasi organisme penyebab penyakit, identifikasi orangtua kandung, deteksi perubahan DNA pada tumor, menentukan keberhasilan transplantasi sumsum tulang serta identifikasi pelaku kejahatan.

Keuntungan DNA Fingerprinting yaitu dapat mengetahui kekerabatan, karakterisasi dan penanda suatu spesies baik hewan, tumbuhan, maupun manusia. DNA Fingerprinting setiap individu berbeda-beda dapat digunakan sebagai bukti forensik pada kasus kecelakaan atau kejahatan. DNA inti merupakan DNA yang sering digunakan untuk analisis DNA Printing. DNA Fingerprinting didasarkan pada DNA yang dianalisis dari intron gen. Intron adalah daerah dalam rantai DNA yang bukan bagian dari gen pengkode. Berbeda dengan analisis DNA dalam penentuan mutasi yang menyebabkan penyakit, dimana sebagian besar mutase melibatkan daerah dalam DNA yang memberi kode untuk pembentukan protein, yang disebut ekson.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad I., A.U. Malik, S.A. Malik, N. Tabassam, M. Rahman, Y. Zafar. 2006. Application of DNA fingerprinting technology to estimate genetic divergence among mango cultivars genotype. *Acta Horticulturae* 773: 440- 440
- De Bruijn, F. J., 1992, Use repetitive (repetitive extragenic polindromic and enterobacterial repetitive intergenic consensus) sequences and the polymerase chain reaction to fingerprint the genome of rhizobium meliloti isolates and other soil bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 58:2180-2187.
- Farida, Y. 2009. Metode Sidik Jari DNA Dengan REP-PCR. Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA (2), p. B-273-B-279.
- Genersch, Elke, C. Otten, 2003, The Use of Repetitive Element PCR Fingerprinting (rep-PCR) for Genetic Subtyping of German Field Isolates of *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae*. *Apidologie* (2003) 195 – 206.
- Herskovitz M.A., D.D. Leipe, 1988. Phylogenetic analysis. In Baxevanis AD and BF Oullette (Eds.) *Bioinformatics a Practical Guide to the Analysis of Genes and Protein*. Jhon Wiley and Sons, New York.
- Rademaker, J.L. and de Bruijn, F.J., 2000, Characterization and classification of microbes by rep- PCR genomic fingerprinting and computer-assisted pattern analysis. Michigan State University. USA.
- Singh, Bhat, 2008. Molecular characterization and analysis of geographical differentiation of Indian mango germplasms. International Symposium on Biotechnology of Fruit Species: BIOTECHFRUIT 2008.

BAB 10

BIOTEKNOLOGI MEDIS

Oleh Muh Taufiqurrahman

10.1 Pendahuluan

Bioteknologi modern telah sangat membantu kemajuan dalam industri farmasi dan medis, khususnya dalam diagnosis dan pengobatan penyakit. Teknologi DNA rekombinan memungkinkan berguna dalam mengobati kondisi termasuk rheumatoid arthritis, kanker, dan penyakit keturunan lainnya. Semua jenis penyakit melibatkan perubahan ekspresi gen seluler. Jadi, dengan membandingkan variasi ekspresi gen antara sel sehat dan sel sakit, perubahan ini dapat berfungsi sebagai dasar untuk teknologi *microarray*. Penggunaan terapi gen, yang sering digunakan dalam pengobatan kanker, adalah cara lain penerapan bioteknologi kontemporer di bidang medis. Untuk mengobati suatu penyakit, terapi gen melibatkan modifikasi gen yang ekspresinya tidak tepat menyebabkan penyakit itu terwujud. Metode lain adalah dengan memperbaiki gen yang salah melalui mutasi terbalik terpilih, yang akan mengembalikan fungsi normal gen, atau menghapus gen abnormal melalui rekombinasi homolog. Mengontrol regulasi ekspresi gen yang menyimpang adalah metode lain untuk melakukan terapi gen. Kemajuan kedokteran forensik dibantu oleh kemajuan penelitian bioteknologi maka ditemukanlah pendekatan Sistem Bertillon, yang memungkinkan polisi untuk mengidentifikasi korban dan/atau tersangka berdasarkan

proporsi tubuh yang dimulai oleh kedokteran forensik pada tahun 1879. Landasan dari pendekatan Bertillon adalah penemuan bagian tubuh yang ukurannya tidak bervariasi secara signifikan seiring bertambahnya usia seseorang.

Pembuatan hormon insulin secara *in vitro* menggunakan teknologi DNA rekombinan adalah penggunaan bioteknologi kontemporer yang dikembangkan secara luas di bidang medis dan farmasi. Vektor plasmid menerima gen pengkode insulin dari sel Langerhans di pankreas. Plasmid rekombinan, yang memiliki gen target diperkenalkan, kemudian diubah menjadi sel kompeten, seperti sel *E. coli*, yang memungkinkan sel kompeten ini diduplikasi atau dikloning dan selanjutnya mengekspresikan gen pengkode insulin. Teknologi DNA rekombinan dilaporkan dapat memproduksi hormon insulin yang lebih efektif dan lebih murah daripada insulin yang diproduksi secara tradisional.

10.2 Antibiotik.

Pembuatan senyawa antibiotik yang dapat menekan bakteri patogen merupakan salah satu produk bioteknologi yang digunakan dalam industri kesehatan. Sir Alexander Fleming menemukan antibiotik pertama pada tahun 1929. Penisilin adalah nama antibiotik yang dibuat dari jamur *Penicillium notatum*, pertama yang digunakan untuk mengobati infeksi menular yang disebabkan oleh bakteri *S. aureus* selama Perang Dunia II. Strain *P. chrysogenum* yang berbeda dengan kapasitas produksi yang unggul ditemukan beberapa tahun kemudian. Bakteri atau jamur tertentu dari kelompok Actinomycetes, yang biasanya ditemukan di tanah, dapat memproduksi menjadi antibiotik tertentu. Sehingga pada tahun

1940-an, antibiotik pertama kali diproduksi dalam jumlah besar.

James Watson dan Francis Crick, mengklaim telah menemukan struktur heliks DNA manusia, molekul yang mentransmisikan informasi genetik dari satu generasi ke generasi lainnya, berkontribusi pada bidang bioteknologi dengan menemukan struktur heliks ganda dari asam nukleat deoksiribosa (DNA) molekul pada tahun 1953. Mereka dan Wilkins mendapatkan Hadiah Nobel sembilan tahun kemudian, pada tahun 1962, untuk memecahkan salah satu teka-teki biologi yang paling signifikan. Dengan bantuan rekayasa genetika, gen yang diinginkan dapat dipotong dan disisipkan ke dalam genom organisme hidup lainnya (mikroorganisme dan virus), dan proses penyisipan dan manipulasi gen ini dikenal sebagai teknologi DNA rekombinan. Penemuan ini memunculkan bidang pemetaan genetik, manipulasi, dan jenis rekayasa genetika. Teknologi DNA rekombinan telah banyak digunakan dalam beberapa tahun terakhir untuk memproduksi molekul terapeutik (insulin dan hormon pertumbuhan) untuk pengobatan penyakit manusia. Dengan tersedianya alat-alat bioteknologi, sekarang dimungkinkan untuk menghasilkan terapi untuk berbagai penyakit. Dengan meningkatnya jumlah pasien di seluruh dunia, terdapat potensi besar untuk menemukan dan memproduksi obat-obatan untuk berbagai penyakit manusia. Penisilin dianggap sebagai obat yang bekerja paling baik melawan bakteri (bakteri Gram-positif) pada saat perkembangannya dan sama sekali tidak berguna melawan bakteri Gram-negatif. Lebih dari 200 bentuk antibiotik yang berbeda telah dibuat sejauh ini, dengan penemuan penisilin yang berfungsi sebagai katalis.

10.3 Rekombinan Insulin

Produksi hormon manusia merupakan komponen penting dalam pengembangan produk bioteknologi kesehatan. Pada sebelum era perkembangan bioteknologi, hewan seperti babi dan sapi digunakan untuk memproduksi insulin. Namun, pendekatan ini memiliki kelemahan yaitu terjadinya alergi dan produksi insulin lebih sedikit. Namun, dengan menggunakan strategi bioteknologi, dimungkinkan untuk mendapatkan insulin dengan cara memproduksinya dari mikroorganisme (*Escherichia coli*). Sir Frederick Grant Banting dan Charles Herbert Best yang berasal dari Kanada membuat penemuan hormon pertama pada akhir 1920-an.

Peneliti medis Kanada Banting lahir di Alisto, Ontario pada tanggal 14 November 1891. Dia membantu Korps Medis Angkatan Darat Kanada selama Perang Dunia I setelah menyelesaikan studi medisnya di Universitas Toronto. Banting kembali ke Kanada setelah perang dan mulai mengajar di Universitas Toronto. Asistennya, Charles Herbert Best, juga dikenal sebagai Best, memberinya bantuan dalam proses pengembangan dan penelitian. Best lahir pada 27 Februari 1899, dari orang tua Kanada di Pembroke Barat, Maine, di Amerika Serikat. Dia adalah asisten Banting ketika dia berusia 22 tahun dan memberikan kontribusi signifikan pada penemuan hormon insulin, membuatnya masuk dalam daftar penerima Hadiah Nobel medis. Dengan mengikat benang ke saluran pankreas dari sepuluh anjing, Banting dan Best pada bulan Oktober 1920 menemukan insulin. Beberapa minggu kemudian, ketika mereka melihat saluran pankreas, mereka menemukan bahwa sel-sel pencernaan pankreas telah mati dan diserap oleh sistem kekebalan, hanya menyisakan ratusan islet. Mereka menemukan insulin setelah memisahkan/Isolasi

protein dari islet. Teknologi DNA rekombinan adalah kemajuan lain dalam pengobatan yang secara mendasar telah mengubah cara pengobatan penyakit, khususnya diabetes melitus tipe 1, di mana sel penghasil insulin mengalami degenerasi dan tidak mampu menghasilkan insulin yang cukup untuk mengontrol kadar gula darah. Insulin mengontrol bagaimana tubuh menggunakan glukosa ketika orang sehat. Diabetes mellitus adalah istilah klinis untuk penyakit ketika terjadi penurunan kadar insulin, yang mengakibatkan peningkatan kadar gula darah. Menyuntikkan insulin ke dalam tubuh pasien, yang mengatur tingkat pengisap darah, adalah salah satu pengobatan terbaik untuk diabetes mellitus. Insulin dibuat secara kimia atau melalui teknologi DNA rekombinan. Pasien dengan diabetes melitus tipe 1 diobati dengan insulin sintetik ini, tetapi pasien dengan diabetes melitus tipe 2 resisten terhadap insulin.

Meskipun jarang, beberapa pasien dengan diabetes tipe 2 mungkin memerlukan terapi insulin jika obat lain tidak mampu mengelola kadar glukosa darah secara memadai. Teknologi DNA rekombinan telah memungkinkan untuk mensintesis insulin di luar tubuh manusia, dan insulin biosintetik ini sekarang diproduksi untuk berbagai aplikasi klinis. Baru-baru ini, tanaman safflower telah digunakan oleh para ilmuwan untuk berhasil mentransfer gen insulin manusia ke tanaman, memungkinkan tanaman memproduksi insulin manusia. Selain menggunakan teknologi DNA rekombinan, dimungkinkan untuk mensintesis analog insulin secara kimiawi, yang merupakan metode lain untuk memproduksi insulin manusia di luar tubuh. Pemberian insulin merupakan salah satu tantangan utama dalam pengobatan diabetes karena tidak dapat diberikan secara oral karena tidak dapat diserap dengan baik

dan kehilangan aksi biologisnya. Pengembangan sistem pengiriman insulin oral atau sublingual yang aman telah menjadi fokus dalam beberapa tahun terakhir.

10.4 Vaksin

Vaksin adalah produk bioteknologi yang masih diciptakan untuk manusia dan hewan yang bertujuan untuk memberikan kekebalan terhadap suatu penyakit, vaksin adalah senyawa antigenik yang biasanya mengandung virus atau bakteri yang telah dimatikan atau dilemahkan. Untuk menghentikan penyebaran berbagai penyakit, pemberian vaksin (imunisasi) dimulai di Indonesia pada tahun 1956 dan mengalami pengembangan dan perluasan pada tahun 1977. Vaksin dapat membantu mengembangkan kekebalan yang aktif dan ditargetkan terhadap beberapa penyakit. Edward Jenner menemukan vaksin virus cacar, yang merupakan vaksin pertama, pada tahun 1796. Imunisasi generasi pertama sering berubah menjadi bentuk mematikan, menyebabkan konsekuensi yang tidak diinginkan. Karena itu, biasanya tidak disarankan untuk memberikan jenis vaksin yang dilemahkan ini kepada pasien yang memiliki gangguan sistem kekebalan. Sebaliknya, vaksinasi generasi kedua adalah vaksinasi yang mengandung kuman yang telah dibunuh dengan bahan kimia tertentu, biasanya dengan formalin atau fenol, tetapi sering gagal atau tidak menimbulkan respons imun. Vaksin rekombinan, sering disebut sebagai vaksinasi sub-unit, adalah vaksin generasi ketiga yang dibuat untuk mengatasi banyak kekurangan yang terkait dengan penggunaan vaksin generasi pertama dan kedua. Memanfaatkan metode rekayasa genetika, vaksin sub-unit dibuat dari fragmen antigenik mikroba. Ini disebut vaksinasi rekombinan karena alasan ini. Misalnya,

vaksin hepatitis B menggabungkan protein selubung yang diproduksi sel ragi yang direkayasa secara genetik dari virus hepatitis B. Karena fragmen antigenik dalam vaksin rekombinan tidak dapat bereplikasi dalam tubuh penerima dan karena seringkali tidak menimbulkan efek samping negatif, vaksin rekombinan lebih aman daripada imunisasi yang mengandung seluruh sel virus. Bahkan vaksinasi generasi ketiga ini, bagaimanapun hanya dapat menimbulkan respon imun humoral dan tidak dapat menimbulkan respon imun seluler.

Keefektifan dan imunogenisitas DNA plasmid, sering dikenal sebagai vaksin DNA untuk melindungi tubuh dari serangan berbagai mikroba, telah menjadi subyek banyak penelitian. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa imunisasi dengan DNA dapat menghasilkan produksi protein atau antigen asing yang dapat memicu respon imun, mencegah berbagai penyakit menular pada hewan percobaan, seperti Human immunodeficiency virus (HIV) (virus malaria Ebola, Mycobacterium tuberculosis). , virus influenza), atau untuk memperkuat sistem kekebalan terhadap sel tumor.

10.5 Antibodi Monoklonal

Antibodi adalah mekanisme pertahanan yang digunakan tubuh untuk membatasi atau menghilangkan zat asing yang tertelan ke dalam tubuh. Pengikatan epitope (bagian antigen) oleh antibodi merupakan langkah pertama dalam mekanisme kerja antibodi di dalam tubuh. Sambungan ini pada akhirnya akan mengendap sebagai kompleks antigen-antibodi yang besar. Makrofag mampu mengenali kompleks antigen-antibodi ini dan memecahnya. Dalam disiplin klinis dan biomedis, antibodi sering digunakan sebagai metode deteksi.

Mikroorganisme atau protein dapat dideteksi selama proses ini. Misalnya menggunakan teknik western blot untuk menentukan ukuran protein atau ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) untuk menghitung jumlah mikroorganisme. Secara umum, pengikatan epitope yang akan dideteksi oleh antibodi merupakan langkah awal dalam proses deteksi menggunakan antibodi. Ini mengharuskan antibodi dapat secara spesifik mendeteksi epitop. Deteksi positif palsu dapat dihasilkan dari antibodi yang dapat membedakan antara epitop dari dua antigen yang berbeda. Antibodi poliklonal sejauh ini telah sering digunakan dalam deteksi. Berbagai jenis molekul antibodi dapat ditemukan dalam larutan antibodi ini. Antibodi poliklonal dapat mendeteksi lebih dari satu bentuk epitop karena satu molekul antibodi biasanya hanya mengidentifikasi satu jenis epitop. Karena itu, penggunaan antibodi poliklonal sebagai metode deteksi menghasilkan penurunan spesifisitas. Memanfaatkan antibodi monoklonal, jenis antibodi yang bertanggung jawab untuk menghasilkan antibodi poliklonal, masalah nonspesifisitas pada antibodi poliklonal teratasi. Larutan ini hanya mendeteksi satu jenis antigen karena antibodi monoklonal hanya mengandung satu jenis molekul antibodi.

Antibodi monoklonal adalah alat yang sangat membantu dalam penelitian biomedis dan diagnostik. Ini sangat spesifik dalam arti bahwa setiap antibodi berikatan dengan titik tertentu pada antigen. Kedua, beberapa antibodi dapat menjadi kebal terhadap suatu penyakit setelah diaktifkan olehnya; antibodi campak dan cacar adalah dua contoh terkenal. Pembuatan vaksin untuk berbagai penyakit adalah penggunaan antibodi monoklonal yang signifikan. Sebagaimana diketahui, kuman atau virus yang telah dihancurkan atau dibuat tidak

aktif digunakan untuk membuat vaksinasi. Ketika vaksin ini diberikan kepada seseorang, tubuh memproduksi antibodi untuk melawan antigen pemicu penyakit. Teknologi hibridoma—digunakan untuk menghasilkan antibodi monoklonal—melibatkan pencampuran sel tikus dan manusia. Sel tumor terhubung dengan sel mamalia yang membuat antibodi melawan antigen spesifik selama pengembangan antibodi monoklonal. Tumor yang dihasilkan bercampur dengan hibridoma, yaitu sel mamalia yang sering menghasilkan antibodi. Antibodi ini disebut sebagai antibodi monoklonal karena berasal dari satu jenis sel, berbeda dengan antibodi poliklonal, yang dibuat menggunakan teknik yang lebih tradisional dan mengandung banyak jenis sel.

Ketika digunakan sebagai teknik deteksi, antibodi monoklonal cukup terspesialisasi. Untuk menyiapkan antibodi monoklonal ini, ada sejumlah tantangan teknologi. Untuk produksi hibridoma yang menghasilkan antibodi monoklonal, laboratorium kultur sel mamalia memerlukan mesin yang canggih dan kemampuan yang sangat maju. Namun, memilih sel hibridoma menimbulkan tantangan terbesar dalam produksi antibodi monoklonal. Sel B dari bagian limpa hewan yang telah divaksinasi dengan sel kanker digabungkan untuk membuat sel hibridoma. Namun, hewan yang diinokulasi dengan satu jenis antigen mampu mengembangkan 6×10^6 sel B yang berbeda. Satu jenis antibodi dibuat oleh satu jenis sel B. 6×10^6 sel hibridoma yang berbeda akan diproduksi setelah fusi sel-B. Satu jenis hibridoma harus dipilih dari berbagai hibridoma yang berbeda untuk menghasilkan antibodi monoklonal. Tugas ini membutuhkan banyak waktu dan usaha. Kesulitan dalam memproduksi antibodi monoklonal telah menyebabkan upaya lain untuk mengembangkan bentuk

antibodi baru yang lebih khusus melalui cara yang tidak terlalu menantang. Ketika seluruh struktur antibodi, terutama IgG, diselidiki dan proses PCR dikembangkan, ada harapan untuk menghasilkan antibodi seperti ini. Antibodi rekombinan adalah nama umum untuk antibodi yang baru diproduksi.

10.6 Rekayasa Genetika

Sekelompok metode eksperimental yang dikenal sebagai rekayasa genetika memungkinkan para ilmuwan memisahkan, mengenali, dan melipatgandakan sepotong DNA dalam bentuknya yang paling murni. Hal ini dapat dilakukan dengan mengkloning atau mentransfer gen pada hewan dan tumbuhan yang mengkode fitur yang signifikan secara ekonomi, dan menggunakan klon DNA sebagai penanda untuk meningkatkan kemanjuran seleksi dalam program pemuliaan.

Bioteknologi, yang menggunakan teknik untuk mengidentifikasi, mereplikasi, mengubah, dan mentransfer materi genetik dari sel, jaringan, dan organ, didasarkan pada rekayasa genetika. Ini termasuk manipulasi gen, kloning gen, DNA rekombinan, teknologi modifikasi genetik, dan genetika modern. Sebagian besar metode yang digunakan melibatkan pengubahan DNA secara langsung dengan fokus pada bagaimana gen tertentu diekspresikan. Marker atau penanda yang kadang disebut sebagai Marker-Assisted Selection (MAS) digunakan dalam rekayasa genetika dalam skala yang lebih besar untuk meningkatkan efisiensi suatu organisme berdasarkan informasi fenotipiknya. Modifikasi genom hewan merupakan salah satu kegunaan untuk rekayasa genetika. Mamalia sering digunakan dalam studi penelitian. Karena itu, kita perlu menerapkan metode genetik molekuler dan

teknologi DNA rekombinan untuk mengubah mamalia secara genetik. Rekayasa genetika memiliki keunggulan karena dapat dengan cepat dan akurat mentransfer materi genetik dari berbagai sumber. Berbagai spesies dan barang yang berguna bagi kehidupan manusia telah berhasil diciptakan melalui teknik rekayasa genetika. Teknologi DNA rekombinan, yaitu penciptaan kombinasi baru bahan genetik dengan memasukkan molekul DNA ke dalam vektor sehingga dapat diintegrasikan dan direproduksi dalam sel organisme lain yang berfungsi sebagai sel inang, merupakan salah satu teknologi unik yang digunakan dalam rekayasa genetika. Berbagai spesies dan barang yang berguna bagi kehidupan manusia telah berhasil diciptakan melalui teknik rekayasa genetika.

Rekayasa genetika memiliki keunggulan karena dapat dengan cepat dan akurat mentransfer materi genetik dari berbagai sumber. Melalui teknik rekayasa pada sel inang dari organisme yang berbeda. Penggunaan vektor, kloning, PCR (*Polymerase Chain Reaction*), serta prosedur seleksi, skrining, dan analisis rekombinan sering digunakan dalam pendekatan rekayasa genetika. Rekombinasi genetik melibatkan langkah-langkah berikut:

1. Pengenalan gen yang diantisipasi;
2. pengenalan kode DNA gen yang diantisipasi;
3. kontrol ekspresi gen yang diubah secara artifisial; dan
4. Melacak transfer gen ke keturunan.

Genetically Modified Animals (GMA) adalah makhluk dengan materi genetik yang telah diubah untuk digunakan dalam ilmu pengetahuan dan kedokteran hewan. Contoh GMA termasuk hewan uji, seperti tikus, yang dapat digunakan untuk mempelajari bagaimana fungsi hewan.

Itu juga digunakan untuk memahami penyakit pada manusia dan hewan dan untuk menciptakan terapi bagi mereka. Dimungkinkan untuk mengobati penyakit dengan mengubah materi genetik. Dalam banyak penelitian, gen manusia telah dimasukkan ke dalam gen hewan seperti domba atau sapi untuk membuat protein yang dapat mengobati penyakit tertentu. Selain itu, hewan ini akan menghasilkan susu yang mengandung protein turunan gen manusia yang akan digunakan untuk mengobati manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- Adrianto, H., Ulinniam, U., Purwanti, E. W., Yusal, M. S., Widyastuti, D. A., Sutrisno, E., ... & Chrisnawati, L. (2021). *Bioteknologi*.
- Nugroho, E. D., & Rahayu, D. A. (2018). *Pengantar Bioteknologi:(Teori dan Aplikasi)*. Deepublish.
- Sihotang, S., Prasetyo, D., Noer, Z., Setiyabudi, L., Sari, D. N., Munaeni, W., ... & Rohmah, M. K. (2022). *Pengantar Bioteknologi*. Tohar Media.
- Syafriana, V. (2019). Efektivitas Anti Nyamuk Elektrik Komersial dengan Anti Nyamuk Elektrik dari Ekstrak Etanol Jahe Merah (*Zingiber officinale* Roscoe) Terhadap *Aedes aegypti*. *Sainstech Farma*, 12(2), 93-100.
- Taufiqurrahman, M., Faizatun, F., & Setyahadi, S. (2021). Pengembangan Krim Ekstrak Dedak Padi (Rice Bran) dan Susu Kuda Sumbawa sebagai Antihiperpigmentasi. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 20(3), 127-134.
- Tjandrawinata, R. R. (2016). Industri 4.0: Revolusi industri abad ini dan pengaruhnya pada bidang kesehatan dan bioteknologi. *Jurnal Medicinus*, 29(1), 31-39.
- Wardani, A. K., Wijayanti, S. D., & Widyastuti, E. (2017). *Pengantar Bioteknologi*. Universitas Brawijaya Press.
- Wahyuni, T. P. (2022). *Aplikasi Bioteknologi*. Global Eksekutif Teknologi.

BAB 11

PENGATURAN ETIK DALAM BIOTEKNOLOGI

Oleh Analekta Tiara Perdana

11.1 Pendahuluan

Kata bioteknologi memiliki beberapa kepentingan dan signifikansi. Hal ini menemui probabilitas serta kemungkinan potensi besar untuk dimanfaatkan bagi kepentingan umat manusia. Bioteknologi telah merambah ke semua aspek kehidupan, seperti makanan, kesehatan dan kehidupan hewan. Bioteknologi juga memungkinkan perbaikan lingkungan untuk kehidupan yang lebih baik (Verma *et al.*, 2011).

Seperti semua revolusi, revolusi bioteknologi telah membuat perubahan pada cara hidup dan cara pikir manusia. Beberapa dekade belakangan, bioteknologi telah berkembang dari laboratorium penelitian ke pasar dan sebelum dikonsumsi oleh masyarakat serta pemerintah. Seperti semua teknologi, bioteknologi memiliki kelebihan dan kekurangan. Beberapa kemajuan terkait bioteknologi terkadang memunculkan perbedaan pendapat, kontes nilai dan ketidakpastian etik atau kontroversi (Biotechnology and Force, 1998).

Bioteknologi menggunakan berbagai macam teknik dengan pengaplikasian organisme biologis, sistem atau proses untuk kepentingan umat manusia. Hal ini membantu ilmu medis melalui pengembangan alat diagnosis baru untuk

mendeteksi penyakit. Secara industri, bioteknologi memperbaiki produksi pertanian melalui pengembangan varietas resisten terhadap cekaman biotik maupun abiotik. Produksi tumbuhan bebas penyakit dengan perbaikan nilai nutrisi merupakan bukti peran bioteknologi dalam bidang pertanian. Teknik bioteknologi ini tidak lepas dari kritik yang bersumber dari ahli agama, sains serta ekonomi (Ahmad *et al.*, 2015).

11.2 Isu Etika dalam Bioteknologi

Beberapa pertanyaan terkait isu etika dalam bioteknologi meliputi: (1) konflik peran/kepentingan: bagaimana pemerintah secara efektif mengatur promosi dan regulasi bioteknologi?, (2) batasan penelitian: apakah beberapa penelitian atau pengembangan produk bioteknologi mungkin melanggar aturan yang berlaku?, (3) peraturan terkait jaringan: norma apa yang paling baik dapat mengatur penggunaan jaringan manusia, *cell lines*, material biologis manusia untuk penelitian atau penanaman agens biologi?, (4) pelabelan: apakah sebaiknya produk makanan hasil rekayasa genetika diberi label untuk meningkatkan kepedulian masyarakat?, (5) transgenik: apakah salah jika menciptakan hewan atau tumbuhan transgenik yang tidak sesuai dengan yang tersedia di alam?, (6) tugas hewan: jika pembuatan hewan hasil rekayasa genetika dianggap memajukan kesehatan manusia, lalu apakah tugas dari hewan ini?, (7) paten kehidupan: apakah etis untuk mematenkan mikroorganisme, hewan atau manusia?, (8) bank DNA: jika peradilan akan dibantu oleh pengujian DNA kriminal dari bank data DNA apakah ini dapat kita aplikasikan ke bidang lain? (9) kepribadian, privasi dan harga diri manusia: apakah

reduksionisme bioteknologi ketika diaplikasikan ke manusia akan merekonstruksi pemahaman serta nilai kita terhadap umat manusia? (10) keadilan antargenerasi: bagaimana standard pengujian atau proses terbaik apa yang dapat memastikan produksi tumbuhan atau organisme hasil rekayasa genetika akan selalu konsisten dengan pengembangan berkelanjutan atau kebutuhan generasi mendatang? (11) tugas alam: di luar tugas generasi saat ini, manusia akan memiliki generasi mendatang terkait pengembangan bioteknologi, tugas etis apa yang relevan terhadap hewan dan ekosistem tersebut? dan (12) proses: proses dan mekanisme apa yang sebaiknya masyarakat gunakan untuk mengaplikasikan etika bioteknologi? (Biotechnology and Force, 1998)

11.2.1 Isu Sosio-ekonomi

Bioteknologi lebih dari sekedar masalah ilmiah. Komunitas ilmiah meyakinkan kita bahwa bioteknologi tidak berbahaya, dan menjanjikan keuntungan luar biasa bagi umat manusia, bahkan mungkin menjadi kunci kelangsungan hidup kita di dunia yang terus berubah. Di sisi lain terdapat beragam argumen tentang hak manusia untuk mencampuri alam atau proses Tuhan dan bahaya terhadap lingkungan, rantai makanan, dan akhirnya kesehatan kita sendiri. Isu-isu tersebut sebagian besar terkait dengan latar belakang budaya, tingkat persepsi dan kesadaran publik. Oleh karena itu, keputusan tentang penggunaan teknologi baru harus menghormati realitas sosial-ekonomi (Susanti, 2019).

Pemahaman masyarakat tentang bioteknologi sebagai ilmu pengetahuan dan teknologi menjadi penting karena produk bioteknologi serta manfaat dan resiko yang ditimbulkannya pada akhirnya akan mempengaruhi setiap

orang. Bioteknologi sangat menjanjikan sebagai alat untuk melestarikan dan meningkatkan kualitas lingkungan. Pemuliaan tanaman selama bertahun-tahun menunjukkan bahwa genetika adalah cara yang paling hemat biaya dan ramah lingkungan untuk mengatasi masalah yang mengurangi hasil. Namun tanpa pemahaman, penerimaan, dan dukungan publik, peran yang dapat dimainkan oleh bioteknologi dalam memecahkan masalah lingkungan dan produksi pangan dapat terhambat. Bioteknologi ditawarkan sebagai solusi untuk masalah manusia, dan seringkali, untuk masalah yang disebabkan oleh manusia. Namun bioteknologi dapat menciptakan banyak masalah sekaligus memecahkannya. Beberapa ahli lingkungan dan kritikus lain telah menunjukkan bahwa mungkin lebih baik kita belajar untuk hidup selaras dengan alam, daripada mencoba menyesuaikan alam dengan kebutuhan khusus kita. Bioteknologi berjanji untuk memainkan peran yang semakin kuat dalam menjinakkan dan memanipulasi lebih lanjut dunia alami dan tidak alami kita. Sebagian karena keharusan teknologi, perusakan lingkungan kita adalah hasil dari dorongan yang mendorong intervensi bioteknologi untuk memperbaikinya. Ahli biologi dan bioteknologi harus mengambil pandangan yang lebih luas tentang praktik mereka daripada tujuan instan yang ingin mereka tuju. Manfaat potensial bioteknologi bagi umat manusia telah menghasilkan investasi bernilai miliaran dolar per tahun yang melibatkan perusahaan baru dan banyak perusahaan yang sudah ada (Ahmad *et al.*, 2015).

11.2.2 Isu Budaya

Sebelum bioteknologi realitas praktisnya adalah ilmu imajinasi. Bioteknologi diam-diam berbeda dalam kenyataan dari fantasi novel sastra dan sains budaya populer. Etika bioteknologi memerlukan refleksi atas konsekuensi langsung dari penggunaannya, dan pada kondisi sosial dan budaya yang mendasarinya. Gerakan egenetika yang melibatkan ilmuwan dan politisi yang serius dan dihormati di Eropa dan Amerika pada awal abad ini menjadi saksi bagaimana penerapan sains bisa salah secara moral. Oleh karena itu, tidak mengherankan bahwa karena ilmu biologi dan bioteknologi telah menikmati kesuksesan luar biasa selama 30 tahun terakhir, kesadaran dan ketidaknyamanan publik, khususnya dengan rekayasa genetika, telah meningkat. Semua teknologi mengubah hubungan kita dengan lingkungan kita, dengan pekerjaan kita, dan dengan diri kita sendiri, tetapi bioteknologi menyerang lebih dekat ke rumah, memungkinkan kita untuk memodifikasi kehidupan itu sendiri. Pertimbangan ini menimbulkan pertanyaan tentang tanggung jawab ilmuwan dalam penerapan pengetahuan dan teknik yang telah mereka hasilkan. Secara historis, bioteknologi telah berkembang dari pencarian sederhana akan pengetahuan biologi. Saat ahli biologi berusaha menembus inti molekuler dari proses kehidupan, mereka menemukan alat untuk membantu mereka dalam proses itu. Seperti dalam kasus *polymerase chain reaction* (PCR) --- metode untuk membuat banyak salinan sekuens DNA spesifik untuk analisis --- dan banyak bioteknologi lainnya, ahli biologi telah menggunakan proses kehidupan itu sendiri dalam mempelajari kehidupan mereka, meminjam mesin molekuler. kehidupan untuk menganalisis proses kehidupan. Tetapi seperti semua upaya ilmiah, alat yang digunakan sains untuk menyelidiki dunia

sering kali menghasilkan alat yang dengannya kita dapat mengubah dunia. Sementara sains sering dikejar untuk kepentingannya sendiri dan kesenangan sederhana untuk memahami dunia, kombinasi alat pengetahuan dengan tujuan praktis tidak dapat diabaikan ketika mempertimbangkan nilai moral perusahaan (Susanti, 2019).

11.2.3 Isu Lingkungan

Bioteknologi telah terbukti lebih baik untuk peningkatan kesehatan lingkungan kita. Pestisida biologis digunakan lebih efisien yang juga mengurangi pestisida kimia. Tanaman rekayasa genetika juga telah mengurangi kebutuhan pupuk sehingga meminimalkan pencemaran pestisida ke sungai dan sumber air pesisir.

Salah satu modifikasi pertama melalui rekayasa genetika pada mikroorganisme dilakukan pada bakteri yang memiliki kemampuan mencerna minyak yang tumpah di lautan. Bioremediasi dan, secara umum, perbaikan lingkungan telah menjadi tujuan utama dari banyak penelitian bioteknologi. Dalam konteks kelautan, banyak dari karya ilmiah yang dilakukan ditujukan untuk memperbaiki efek pada spesies makanan dan ekosistem laut dari pembangunan yang berlebihan, polusi, dan hilangnya habitat berkembang biak. Sementara metode bioteknologi menjanjikan berbagai manfaat sosial dan lingkungan yang penting, respon publik, terutama pelepasan spesies hasil rekayasa genetika ke lingkungan, telah dicampur. Meskipun tidak selalu didasarkan pada pemahaman yang baik tentang sains dan teknologi yang terlibat, masyarakat waspada terhadap makanan yang diubah secara genetik dan khawatir tentang ketidakmampuan untuk mengendalikan agen biologis begitu dilepaskan ke lingkungan. Manfaat dari

intervensi bioteknologi tertentu di lingkungan biasanya bertambah langsung ke sponsor, seringkali merupakan kepentingan komersial. Namun, kerugian yang mungkin timbul dari intervensi semacam itu biasanya tidak terbatas pada kepentingan tersebut atau individu yang bertanggung jawab untuk memperkenalkannya, melainkan dapat menyebar ke seluruh lingkungan dan memengaruhi masyarakat umum. Gen yang melindungi tanaman pangan dari hama tertentu menguntungkan petani dan perusahaan benih secara langsung, tetapi jika gen tersebut menyeberang ke spesies berbahaya, hal itu mungkin menimbulkan masalah bagi masyarakat umum (Ahmad *et al.*, 2015).

11.2.4 Isu Hukum

Masalah hukum muncul dalam penggunaan teknik bioteknologi. Terutama teknik modern seperti teknologi sel induk, terapi gen, dan proyek genom manusia telah menimbulkan banyak masalah di masyarakat dan perlu diselesaikan untuk kepuasan orang yang menerima perawatan atau mendapatkan manfaat dari teknik ini. Namun karena kurangnya motivasi, di negara-negara berkembang seperti Pakistan, pemerintah belum menetapkan undang-undang, lembaga, atau infrastruktur yang diperlukan untuk melindungi orang-orang yang rentan dan untuk mengatasi masalah bioetika. Akibatnya, orang tidak tertarik dengan masalah bioetika karena tidak ada tindakan yang diambil untuk menciptakan kesadaran di lapangan di negara tersebut. Terlebih lagi telah diasumsikan oleh orang-orang bahwa bioetika adalah bidang disiplin Barat atau bidang studi yang membahas masalah-masalah Teknologi Tinggi dan membahas secara langsung masalah-masalah yang timbul dari atau terkait

dengan penggunaan Teknologi Tinggi, masalah dan praktik terkait kesehatan. di Barat dan pengobatan modern yang tidak dibutuhkan oleh negara-negara berkembang. Di negara-negara barat telah dirumuskan undang-undang yang mengatur produk bioteknologi. Di AS, tindakan hama tanaman digunakan untuk mengatur tanaman hasil rekayasa genetika di bawah pengawasan Departemen Pertanian AS (USDA). Badan Perlindungan Lingkungan (EPA) mengatur pelepasan mikroba hasil rekayasa genetika ke lingkungan berdasarkan Bagian 5 Undang-Undang Pengendalian Zat Beracun, Produk Mikroba dari Bioteknologi. Di bawah undang-undang ini, EPA harus beroperasi di bawah pendekatan risiko-manfaat dan diharuskan memenuhi beban pembuktian yang substansial bahkan sebelum dapat meminta data tentang organisme tertentu atau sebelum dapat mengatur atau melarang produksi dan pelepasan mikroorganisme. Tambal sulam otoritas pengatur Federal yang mencakup bioteknologi ini membingungkan dan tidak efisien. Kepentingan umum akan lebih baik dilayani oleh satu kantor atau badan yang bertanggung jawab untuk mengevaluasi berbagai intervensi bioteknologi dan dampaknya terhadap lingkungan. Hambatan yang mungkin untuk pengembangan bioteknologi di Amerika Serikat adalah iklim hukum saat ini. Konsep masyarakat bebas risiko dan keamanan buaian hingga kuburan telah menciptakan "gangguan" dalam sistem hukum yang memungkinkan satu individu menghentikan proyek ilmiah penting (Susanti, 2019).

11.2.3 Isu Agama

Para ilmuwan dan teknolog mampu memainkan permainan nyata dengan Tuhan/alam, memanipulasi blok bangunan makhluk hidup sesuka hati. Ini adalah permainan yang berbahaya, meskipun manfaat yang diharapkan diantisipasi, di mana mereka didorong, dibantu dan dikurangi, didukung dan didanai oleh industri dan perusahaan yang kuat, untuk motif keuntungan. Teknik molekuler yang baru dikembangkan untuk identifikasi gen, rekayasa genetika, dan prosedur reproduksi buatan mewakili lompatan kuantum dalam kemampuan kita untuk memanipulasi kehidupan itu sendiri, sebuah domain yang telah lama dipegang oleh budaya dan agama sebagai wilayah agen ilahi. Ulama telah mengkritik penggunaan teknik biologis untuk mengungkap privasi dan martabat manusia. Beberapa agama menganggap serius masalah teknologi sel punca. Menurut mereka penelitian tentang sel induk embrionik seperti membunuh manusia. Demikian pula kritik ulama terhadap proyek genom manusia sangat keras. Sering diperdebatkan oleh orang-orang beragama bahwa intervensi bioteknologi tidak alami, atau bahwa mereka bertentangan dengan tatanan ilahi atau alam. Tetapi manusia juga alami, produk alami dari evolusi. Perkembangan teknologi kita tidak kalah alaminya dengan pembangunan sarang tawon lumpur. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa rekayasa genetika adalah fenomena alam, mirip dengan "rekayasa genetika" yang terjadi di alam setiap kali gen melintasi kromosom, gen bermutasi, atau plasmid bakteri bermigrasi dari satu spesies ke spesies lain. Ada perbedaan penting antara "proses evolusi alami" dan "rekayasa genetika alami". Proses evolusi alami tidak membuat pilihan, mereka tidak disengaja dengan maksud mencapai suatu akhir. Apa yang membedakan

proses evolusi alami adalah bahwa mereka tidak diarahkan pada tujuan, sedangkan tindakan manusia selalu diarahkan pada tujuan. Berargumen bahwa rekayasa genetika hanyalah perpanjangan dari proses evolusi alami tidak secara moral membenarkan praktik tersebut. Dengan alur penalaran ini, setiap intervensi bioteknologi dapat dibenarkan hanya sebagai proses alami. Tapi jelas tidak setiap intervensi itu baik. Itu hanya dapat ditentukan untuk menjadi baik berdasarkan pertimbangan moral yang memperhitungkan risiko dan manfaatnya dan kesesuaian intervensi di tempat pertama (Ahmad *et al.*, 2015).

11.3 Bioetika

Istilah bioetika biasanya digunakan untuk mempelajari masalah etika kontroversial yang muncul dari situasi dan kemungkinan baru yang dibawa oleh kemajuan dalam biologi dan kedokteran. Ini juga merupakan penegasan moral yang berkaitan dengan kebijakan, praktik, dan penelitian medis. Bioteknologi memainkan peran penting untuk peningkatan kehidupan manusia. Namun karena penggunaan sumber daya alam yang luas dan tidak masuk akal, kerusakan lingkungan sosial dan alam juga telah terjadi (Turner, 2003).

Evaluasi etis intervensi bioteknologi pertama-tama bertumpu pada pemahaman yang baik tentang ilmu di balik intervensi ini, dan kedua pada keseimbangan risiko dan manfaat yang ditimbulkan oleh intervensi tersebut. Selain itu, kekuatan teknik molekuler baru untuk memanipulasi kehidupan, menyisipkan gen dari satu spesies ke dalam gen spesies lain, dan sebaliknya mengarahkan organisme hidup baik di penangkaran maupun di alam liar untuk tujuan manusia tertentu, menimbulkan pertanyaan tentang peran yang tepat

dari manusia dalam lingkungannya dan dalam perubahan organisme hidup (Ahmad *et al.*, 2015).

Bioetika bukanlah urusan lokal yang bisa diselesaikan oleh masyarakat lokal, meskipun merupakan isu global yang efeknya akan universal. Sebuah sistem etika yang eksklusif atau diskriminatif dengan cara lain adalah *ipso facto*, rusak secara moral. Secara umum, tidak ada yang salah dengan teknologi seperti itu. Dalam dirinya sendiri, itu netral secara etis, tidak benar atau salah. Ini adalah nilai non-moral yang penting, terkait dengan keterampilan dan prestasi manusia. Tapi, penggunaan teknologi apa pun, adalah masalah moral. Misalnya, mengembangkan, katakanlah, kontrasepsi menular adalah urusan teknologi, itu adalah urusan lokal dan dapat diloakkan, bahkan urusan pribadi/individual, tetapi 'populasi yang meledak' adalah sebuah masalah etis. Pendekatan bioetika saat ini sebagian besar mengabaikan lingkungan sosial multikultural di mana sebagian besar masalah etika kontemporer terungkap. Dalam pengaturan multikultural, pasien dan keluarga mereka membawa banyak model budaya moralitas, kesehatan, penyakit, penyembuhan, dan kekerabatan yang berbeda ke pertemuan klinis. Keyakinan agama dan norma budaya memainkan peran penting dalam membingkai isu-isu moral. Saat ini, bioetika arus utama gagal memperhatikan dunia moral pasien dan anggota keluarga mereka (Turner, 2003).

11.4 Pengaturan Etik dalam Bioteknologi

Elemen penting dalam evaluasi etis bioteknologi adalah analisis kemungkinan bahaya dan kemungkinan terjadinya, menimbang risiko ini terhadap kemungkinan manfaat. Karena bioteknologi mencakup berbagai metode dan teknik biologis

dalam berbagai keadaan, analisis risiko dan manfaat akan sangat kontekstual, tergantung pada kekhasan masing-masing aplikasi tertentu. Misalnya, penggunaan bakteri hasil rekayasa genetika untuk memproduksi insulin di laboratorium komersial sangat berbeda dengan pelepasan bakteri hasil rekayasa genetika ke lingkungan alam. Kondisi dapat dikontrol di laboratorium dan, dengan langkah-langkah keamanan yang tepat, bakteri yang dimodifikasi dapat dicegah agar tidak keluar. Tetapi pelepasan spesies hasil rekayasa genetika ke lingkungan menimbulkan risiko tambahan tergantung pada kelangsungan hidup organisme, sifat modifikasi genetiknya, dan tujuan pengenalnya. Pembahasan ini akan dibatasi pada prinsip-prinsip yang mungkin berlaku untuk evaluasi etis bioteknologi secara umum, mengakui bahwa evaluasi etis dari setiap intervensi tertentu akan bergantung pada keadaan spesifiknya (Ahmad *et al.*, 2015).

Penilaian yang memadai tentang risiko pelepasan spesies hasil rekayasa genetika ke lingkungan memerlukan pengetahuan menyeluruh tentang ekologi lingkungan dan bagaimana spesies hasil modifikasi akan berinteraksi dengan spesies lain. Proposal untuk pengenalan spesies hasil rekayasa genetika ke lingkungan telah dikritik dengan alasan bahwa pengetahuan ekologi tidak mencukupi dan, secara umum, ilmu ekologi prediktif kekurangan dana dan kurang dipahami. Bahkan pada spesies individu, sulit untuk memprediksi efek kesehatan dari memasukkan DNA asing ke dalam suatu organisme atau memodifikasi ekspresi gen yang sudah dikandungnya. Sejumlah efek pleiotropik yang merusak telah terbukti terjadi pada spesies yang dimodifikasi secara genetik. Nyatanya, satu-satunya cara untuk menentukan efek ini adalah melalui percobaan pada organisme individu, sebuah fakta yang

tidak hilang dari pendukung kesejahteraan hewan. Keamanan utama organisme transgenik hanya dapat dievaluasi melalui studi yang cermat terhadap pelepasannya ke lingkungan, dengan konsekuensi risiko bahwa kita akan menemukan rangkaian efek berbahaya pada lingkungan hanya setelah terlambat untuk menghentikan penyebaran organisme. Ekologi lingkungan sangat kompleks dan relasional. Spesies individu dapat memainkan berbagai peran dalam suatu lingkungan dan efek dari perubahan pada suatu spesies dapat sangat tidak dapat diprediksi. Masalahnya bukan hanya pengetahuan yang tidak memadai melainkan kompleksitas sistem ekologi. Sistem yang kompleks, secara umum, mungkin sangat nonlinier, yang berarti bahwa mungkin ada sedikit atau tidak ada korelasi antara perubahan inkremental dalam suatu sistem dan bagaimana perilakunya. Dalam model matematika dari sistem yang kompleks, efek perubahan dalam suatu sistem pada prinsipnya tidak dapat diprediksi. Satu-satunya cara untuk menemukan efek ini adalah dengan mengamati bagaimana sistem berperilaku setelah pengenalan perubahan tertentu (Turner, 2003).

Karena penilaian risiko yang memadai bergantung pada prediksi dan kuantifikasi risiko, efek dari introduksi spesies baru atau yang dimodifikasi ke dalam suatu ekosistem mungkin tidak dapat diukur atau dikelola secara memadai, membuat setiap introduksi tersebut benar-benar eksperimental. Pelajaran dari program spesies yang terancam punah sangat berharga dalam konteks ini. Ahli biologi telah belajar bahwa untuk menyelamatkan suatu spesies, perlu untuk menyelamatkan habitatnya. Kami mungkin mendalilkan akibat wajar bioteknologi dari prinsip ini: Mengubah suatu spesies dapat mengubah habitatnya, bahkan jika Anda tidak tahu persis

caranya. Kompleksitas sistem ekologi membuat sangat sulit untuk mengidentifikasi penyebab spesifik perubahan lingkungan, dan karena seseorang mungkin tidak dapat mengantisipasi perubahan spesifik, pengamatan ilmiah mungkin gagal mendeteksinya. Tanpa pengembangan ilmu ekologi umum yang jauh lebih kaya, dan studi ekologi khusus dari lingkungan di mana bioteknologi diperkenalkan, penilaian risiko yang memadai mungkin tidak mungkin dilakukan. Oleh karena itu, dengan tidak adanya studi ekologis yang memadai sebelum intervensi bioteknologi terjadi, dan dengan tidak adanya komitmen untuk studi jangka panjang setelah diperkenalkan, evaluasi etis risiko dan manfaat tidak lengkap. Melanjutkan berdasarkan studi yang tidak memadai mungkin tidak etis. Satu risiko yang sangat meresahkan dari masuknya spesies hasil rekayasa genetika ke dalam lingkungan adalah kemungkinan bahwa gen yang dimodifikasi akan menyeberang ke spesies lain. Masalah ini merupakan ciri khas tanaman dan mikroba, terutama bakteri. Mungkin juga virus yang dimodifikasi secara genetik dapat menargetkan spesies yang tidak terduga, menyebarkan gen yang merusak atau menguntungkan dengan cara yang tidak terduga. Risiko terkait adalah waktu generasi yang singkat dan potensi evolusi mikroba yang cepat. Jika mikroba yang diubah secara genetik tetap ada di lingkungan, ada kemungkinan mikroba tersebut berevolusi dengan cara yang tidak terduga, menghasilkan efek yang tidak terduga. Mengontrol penyebaran spesies rekayasa genetika di lingkungan juga sulit, terutama dalam konteks laut di mana individu organisme dapat dengan cepat menyebar ke wilayah yang luas oleh arus laut. Selain ketidakpastian yang terkait dengan pengenalan spesies baru atau yang dimodifikasi ke lingkungan, efek berbahaya dapat terjadi menjadi tidak

dapat diperbaiki. Begitu modifikasi genetik melompat ke spesies lain, hanya sedikit yang dapat dilakukan ahli biologi untuk menahan penyebaran gen secara efektif. Begitu terganggu dengan cara ini, keseimbangan ekologis dapat diubah secara permanen, sehingga merusak ekosistem dan manfaat yang terkait dengannya bagi manusia. Salah satu metode yang menjanjikan untuk melindungi lingkungan laut terhadap konsekuensi merugikan dari introduksi spesies ikan hasil rekayasa genetika adalah dengan membatasi kemampuan reproduksi ikan. Dengan cara ini, dampak ekologis yang merugikan dapat dibalik dengan menghentikan pelepasan spesies yang dimodifikasi (Ahmad *et al.*, 2015).

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, H.M. *et al.* (2015) 'Ethical Issues of Biotechnology, Possible Risks and Their Management Ethical Issues of Biotechnology, Possible Risks and Their Management', *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 5(11), pp. 49–55.
- Biotechnology, C. and Force, S.T. (1998) 'Ethics and Biotechnology: The Role of the Government of Canada', *Biotechnology* [Preprint].
- Susanti, D. (2019) 'Perlindungan Hukum Terhadap Produk Bioteknologi Di Bidang Kesehatan', *Arena Hukum*, pp. 541–555. Available at: <https://doi.org/10.21776/ub.arenahukum.2019.01203.8>.
- Turner, L. (2003) 'Bioethics in a multicultural world: Medicine and morality in pluralistic settings', *Health Care Analysis*, 11(2), pp. 99–117. Available at: <https://doi.org/10.1023/A:1025620211852>.
- Verma, A.S. *et al.* (2011) 'Biotechnology in the realm of history', *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 3(3), pp. 321–323. Available at: <https://doi.org/10.4103/0975-7406.84430>.

BAB 12

CULTURE MEAT, ANCAMAN ATAU SOLUSI PANGAN HEWANI MASA DEPAN

Oleh Junaedi

12.1 Pendahuluan

Tantangan pertama bagi umat manusia saat ini adalah bagaimana memenuhi kebutuhan pangan hewani sekitar 10 miliar orang pada tahun 2050 (UNPD, 2019). Sebagai salah satu sumber makanan terpenting dan nutrisi bagi sebagian besar orang, daging merupakan bahan pangan yang tingkat konsumsinya mengalami peningkatan setiap tahunnya (Alexandratos dan Bruinsma, 2012). Cara tradisional produksi daging yaitu membiakkan, memelihara dan menyembelih hewan ternak. Proses pemeliharaan ternak hidup menjadi daging siap saji memerlukan waktu relatif lama, menghabiskan air dan penggunaan tanah yang besar, menggunakan sejumlah besar energi bahan bakar, dan menyebabkan pencemaran lingkungan yang parah. (Gerber et al., 2013; FAO, 2006; ; Hoekstra dan Mekonnen, 2012; Herrero et al., 2011). Selain itu, penyebaran penyakit pada ternak hewan konvensional menyebabkan masalah tersendiri (Normile, 2008; Dixon et al., 2020; Taylor et al., 2019). Oleh karena itu, diperlukan pengembangan strategi produksi daging yang efisien, ramah lingkungan dan berkelanjutan.

Culture meat (daging kultur) sering juga di istilahkan dengan nama; daging budidaya, daging in vitro, daging sintetis, atau daging yang ditanam di laboratorium, hal tersebut mengacu pada daging yang diproduksi dalam bio reaktor dengan teknologi rekayasa jaringan (Stephens et al., 2018; Tiberius, Bhat dan Fayaz, 2011; Borning, dan Seeler, 2019; Post, 2012). *Culture meat* dihasilkan dari sel punca yang memiliki potensi pembaruan diri dan diferensiasi ganda yang diisolasi dari biopsi hewan, kemudian diperluas dan dikembangkan secara *ex vivo* untuk menghasilkan serat otot, lemak, atau jenis sel lain yang membentuk jaringan otot. Selanjutnya, sel-sel ini dikumpulkan dan dirakit untuk membentuk produk akhir daging yang dapat dimakan setelah diolah melalui pencetakan, pewarnaan dan pemberian bumbu (Datar dan Betti, 2010; Kadim et al., 2015). Teknologi *culture meat* akan sangat mempersingkat siklus produksi daging, mengurangi konsumsi lahan, air, dan energi, dan mengekang emisi gas rumah kaca (Tuomisto dan de Mattos, 2011). Daging kultur berbeda dengan daging konvensional, daging kultur diharapkan kedepannya bisa mengatasi kekurangan daging konvensional dalam hal; etika kesejahteraan hewan (*animal behavior*), kekurangan sumber daya, dan masalah kesehatan masyarakat (Stephens et al., 2018; Bhat, Kumar, & Bhat, 2017).

Daging kultur sangat praktis dibuat dengan menggunakan teknik jaringan otot rangka, sel punca dan kultur sel. Metode kultur jaringan untuk produksi daging kultur dimaksudkan untuk meminimalisir masalah ternak konvensional seperti kerusakan hewan dan pencemaran lingkungan. Prototipe daging kultur yang terkenal dikembangkan pada tahun 2013 oleh farmakolog Dr. Mark Post dan menghasilkan daging menyerupai daging konvensional, sehingga meningkatkan ekspektasi masyarakat akan daging kultur sebagai pengganti daging konvensional (O'Riordan, Fotopoulou, & Stephens,

2017; Post, 2014). Culture meat telah dianggap sebagai solusi yang menjanjikan untuk mengurangi kekhawatiran terkait dengan krisis peternakan masa depan (Jiang et al., 2020; Cann, 2018; Lee et al., 2020).

Culture meat dalam hal ilmu pengetahuan dan teknologi saat ini berupaya mencapai visi masa depan. Pada awal abad ke-21 penelitian tentang daging culture dimulai dan berkembang. Keberhasilan teknologi budidaya daging secara culture memicu perhatian besar orang-orang dari semua lapisan masyarakat, termasuk ilmuwan, pengusaha dan investor. Sejak itu, banyak perusahaan telah didirikan untuk mengembangkan produk daging culture dan mendapatkan akses permodalan industri culture meat. Proses produksi yang belum matang, culture meat saat ini masih dalam masa pertumbuhan, dan para peneliti bekerja pada peningkatan teknologi untuk mempercepat proses uji coba industri dan komersialisasi culture meat. Faktor biaya tinggi dan teknologi yang tidak efisien sehingga penerapan dan komersialisasinya masih terbatas (Post, 2012; Stephens et al., 2018). Daging kultur yang dibuat perlu meniru kualitas daging konvensional, seperti kenampakan fisik, bau, tekstur, gizi dan rasa.

12.2 Culture Meat

12.2.1 Manfaat Daging kultur

1. Menghilangkan Penyiksaan pada Pemotongan Hewan

Menurut FAO (Organisasi Pangan dan Pertanian), permintaan daging akan meningkat hingga 70% pada tahun 2050, yang akan menjadi tantangan besar bagi peternakan (Gerber et al., 2013). Sebagai alternatif, sistem produksi daging kultur berjanji untuk memasok daging/protein *in vitro* untuk memenuhi permintaan global, yang akan mengurangi pembantaian jutaan hewan untuk kebutuhan pangan (Bhat & Bhat, 2011a; Webster,

2002). Secara teori, setiap sel induk yang terlibat dalam produksi daging kultur dapat berkembang biak berkali-kali. Jumlah hewan yang diperlukan untuk sampel jaringan lebih sedikit daripada produksi daging konvensional, sehingga menjanjikan untuk meringankan penderitaan hewan hidup.

2. Kesehatan dan Keselamatan

Peternakan system konvensional untuk produksi daging membawa risiko penyakit hewan, epidemi, dan penyalahgunaan antibiotik (Bhat & Bhat, 2011a; Webster, 2002). Sebaliknya, daging yang dikultur akan menggunakan konsentrasi pengawet yang aman seperti, natrium benzoat untuk melindungi daging dari pertumbuhan mikroba (Seman, Quickert, Borger, & Meyer, 2008). Selain itu, terdapat sistem pemantauan online untuk menganalisis kualitas daging kultur dan menyediakan teknologi jaminan keamanan pangan dengan meminimalisir kontaminasi bakteri yang rendah selama proses produksi. Kualitas daging kultur dapat dioptimalkan melalui sistem budidaya terkontrol dan pasca pengolahan seperti proporsi komposisi, kandungan gizi, rasa, dan aroma (Bhat & Bhat, 2011a).

3. Lingkungan dan Keberlanjutan

Peternakan secara konvensional, hanya 5%–25% hewan yang diproses sebagai daging yang dapat dimakan sehingga menghasilkan tingkat konversi yang rendah untuk produksi daging (Alexander, 2011; Bhat & Bhat, 2011a). Peternakan konvensional membawa serangkaian masalah pada penggunaan lahan, emisi gas rumah kaca, dan konsumsi air dan energi (FAO, 2006; Bellarby et al., 2013; Gerber et al., 2013). Daging kultur telah diindikasikan penggunaan lahan 99% lebih rendah, emisi gas rumah kaca sekitar 78%–96% lebih rendah, dan

penggunaan air 82%–96% lebih rendah daripada peternakan konvensional (Mattick et al., 2015; Tuomisto dan Teixeira de Mattos, 2011). Daging kultur berpotensi menjadi sarana produksi daging yang berkelanjutan dan ramah lingkungan, karena dapat diperoleh secara efisien tanpa perlu mengembangkan jaringan pendukung dan struktur fungsional lainnya seperti kerangka dan sistem pencernaan. Meskipun tahap awal pengembangan daging kultur menghadapi tantangan teknis dan penerimaan konsumen (Bhat, Kumar, & Fayaz, 2015; Tuomisto, 2019)

12.2.2 Daging Kultur VS Daging Konvensional

Daging kultur adalah daging budidaya dibuat dengan menumbuhkan sel-sel hewan di lingkungan buatan, dengan tujuan menghasilkan daging yang menyerupai tekstur, rasa dan nilai gizi daging konvensional. Diprediksi penggunaan teknologi baru ini dapat mengurangi dampak lingkungan dari konsumsi daging sekitar 90%. Tujuan utama pengembangan daging culture adalah untuk memasok permintaan daging secara global yang mengalami peningkatan, sekaligus mengurangi dampak produksi daging konvensional terhadap kerusakan lingkungan. Teknik culture meat melibatkan produksi daging melalui teknologi rekayasa jaringan dan metode kultur sel tanpa melibatkan pemeliharaan dan penyembelihan hewan.

Produksi daging secara konvensional berdampak pada emisi gas rumah kaca. Untuk menghasilkan daging sapi satu kilogram akan menghasilkan 300 kilogram CO₂, memerlukan 15 ribu liter air dan membutuhkan 40m² lahan untuk hijauan pakan ternak. Pemeliharaan ternak ruminansia (kambing dan sapi) yang bertanggung jawab atas 37% pelepasan metana. Penggembalaan lahan yang berlebihan dan penggundulan hutan juga menambah peningkatan gas rumah kaca akibat

peternakan konvensional. Asupan daging juga menambah beberapa komplikasi terkait kesehatan, seperti gangguan kolesterol, penyakit kardiovaskular, infeksi endoparasit, dan infeksi bawaan makanan yang disebabkan oleh mikroorganisme. Tanah dan sumber daya yang berkelanjutan yang ketersediaannya tidak memadai juga menjadi tantangan besar masa depan produksi daging secara konvensional. Penjualan ternak potong tanpa protokol yang tepat, seperti mutilasi traumatis, amputasi, dan pengebirian pada budidaya ternak konvensional yang melanggar kesejahteraan hewan. Sejumlah besar bukti ilmiah menunjukkan bahwa sebagian besar penyakit zoonosis yang mematikan disebabkan oleh konsumsi daging mentah, yang merupakan hasil dari interaksi manusia-satwa liar.

Comparison with Conventional Meat Production



Gambar 12.1. Produksi daging sapi satu kilogram akan menghasilkan 300 kilogram CO₂, memerlukan 15 ribu liter air dan membutuhkan 40m² lahan untuk hijauan pakan ternak (<https://www.amsbio.com/cultured-meat/>)

Berbagai problematika dari hewan konvensional membuat para ilmuwan, perusahaan dan berbagai asosiasi telah berupaya untuk mengatasi permasalahan daging konvensional dengan pengembangan daging culture. Daging culture meat merupakan daging ramah lingkungan, sehat, kaya nutrisi, etis, bersih, bebas kekejaman, bebas patogen, dan dapat

mengurangi emisi metana dari peternakan hewan konvensional. Produksi daging culture meat menghasilkan daging tanpa residu antibiotik dan meminimalisir penyakit bawaan dari produk hewan konvensional yang secara drastis mengurangi risiko penyakit zoonosis. (Balasubramanian et al., 2021)

12.2.3 Sejarah Culture Meat

1. Ide daging kultur sebagai alternatif dari daging konvensional awalnya dicetuskan oleh Frederick Edwin Smith dan Winston Churchill pada tahun 1930-an.
2. Tahun 1930, Frederick Edwin Smith, seorang politisi, meramalkan bahwa tidak perlu menunggu lama untuk makan fillet kerbau
3. Ene Barjavel, seorang penulis fiksi ilmiah Prancis, menyebutkan daging in vitro di restoran dalam novelnya pada tahun 1943
4. Pada tahun 1953, Willem Van Eelen dari Belanda mempromosikan budaya daging berdasarkan rekayasa jaringan.
5. NASA, bekerja sama dengan Benjaminson dan tim penelitiannya dari Jerman, mengkultur jaringan otot dari *Carassius auratus* (sejenis ikan air tawar/ikan mas) dalam cawan petri dan memasoknya sebagai makanan untuk astronot setelah persetujuan etis dari anggota panel pada tahun 1997. Investigasi laboratorium daging kultur pertama kali dirancang oleh NASA, dengan tujuan menumbuhkan myoblast dalam kultur suspensi sebagai sistem pasokan berkelanjutan untuk penerbangan luar angkasa dan stasiun luar angkasa jangka panjang (Benjaminson et al., 2002; Wolfson, 2002). Sejak tahun 2002, NASA mendanai penelitian untuk memproduksi kalkun culture, sehingga berhasil membuat potongan

daging kalkun hasil culture pertama yang dapat dimakan (Edelman et al., 2005) dan fillet ikan (Benjaminson et al., 2002).

6. Pada tahun 2003, Mark Post, seorang ilmuwan, mengkulturkan daging di laboratoriumnya di Universitas Maastricht, Belanda.
7. Pada tahun 2013, profesor Mark Post meluncurkan burger ham daging sapi hasil culture pertama di dunia setelah bertahun-tahun penelitian, yang terdiri dari lebih dari 10.000 serat otot (Post, 2014).
8. Beberapa proyek daging culture seperti Memphis Meat, Shojin Meat Project, Super Meat, dan Finless Foods telah dimulai masing-masing pada tahun 2014, 2015, 2016, dan 2017.
9. Perusahaan rintisan yang berbasis di AS, Eat, memulai debutnya daging ayam culture di restoran Singapura pada Desember 2020, dan itu adalah negara pertama yang menyetujui penjualan daging culture
10. Total dua puluh enam studi empiris berdasarkan penerimaan konsumen terhadap daging culture

12.2.4 Perkembangan Industri Culture Meat

Konsep daging culture awalnya berkisar pada komunitas akademis yang melibatkan aktivis sosial, pecinta hewan, aktivis hak-hak hewan (Hopkins, 2015), lembaga penelitian, universitas, dan laboratorium yang terutama terlibat dalam domain culture daging (Post, 2014). Sejak hamburger daging sapi hasil culture pertama diproduksi pada tahun 2013, puluhan perusahaan telah masuk ke industri daging culture dari berbagai jenis komoditi seperti ayam, sapi, dan hewan laut. Pada akhir tahun 2020, sekitar 60 perusahaan tahap awal telah didirikan di seluruh dunia, dengan fokus pada produk akhir culture meat, bahan mentah atau peralatan

pembuatan daging culture (Choudhury et al., 2020; GFI, 2020). Distribusi geografis perusahaan-perusahaan ini berada di 19 negara di lima benua, 37% di Amerika Utara, 25% di Asia, dan 21% di Eropa dapat dilihat pada peta berikut.



Gambar 12.2. Distribusi geografis perusahaan daging Culture. Lima puluh delapan perusahaan di bidang daging/ikan culture (GFI, 2021).

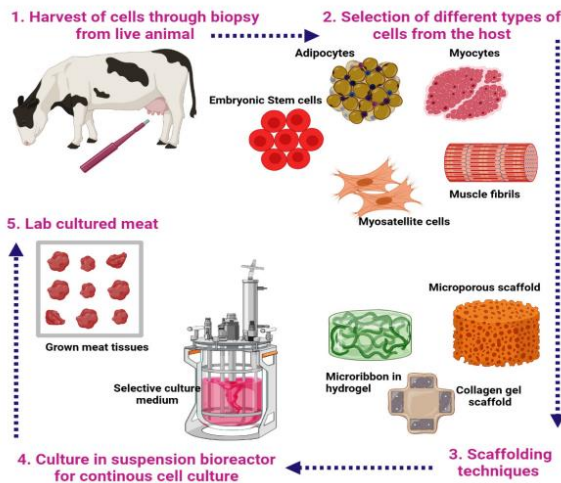
Pilihan produk potensial oleh perusahaan menunjukkan perbedaan regional yang jelas, sangat dipengaruhi oleh kebiasaan dan kebiasaan makanan lokal. Secara khusus, perut ikan culture akan diluncurkan oleh perusahaan Hong Kong karena di Cina selatan perut ikan sering dikonsumsi dalam sup dengan khasiat yang dipercaya dapat mempercantik kulit dan anti-penuaan (Siu, 2019). Tiga perusahaan di Eropa dan Jepang berniat memproduksi foie gras culture (Southey, 2020; Webber, 2019). Demikian pula, kanguru culture akan ditawarkan oleh perusahaan Australia (Upshall, 2021). Sejauh ini setidaknya ada tiga perusahaan yang mengumumkan untuk memproduksi dan menjual produk daging culture dari tahun 2021, dan lebih banyak produk akan datang ke pasar dalam

lima tahun ke depan (Fusaro, 2021; Lucas, 2020; Webber, 2019).

12.2.5 Proses Produksi Culture Meat

Prosedur tahapan pembuatan culture meat menurut Post et al. (2020) dan Guan et al. (2021) yaitu;

1. Menggunakan sel primer dari sumber hewani
2. Garis sel (misalnya sel induk otot rangka)
3. Pengembangbiakan dalam bioreaktor
4. Sel-sel kemudian dapat dibedakan dalam bioreaktor
5. Menghasilkan daging yang tidak terstruktur misalnya daging sapi cincang.
6. Sel dapat dikultur bersama dengan jenis sel lain (misalnya sel induk adiposa)
7. Pembentukan produk daging terstruktur, misalnya daging panggang.
8. Bio-printing sel otot dan lemak.



Gambar 12.3. Tahapan Produksi Daging Culture Meat
(Balasubramanian et al., 2021)

Proses produksi culture meat secara singkat dapat dibagi menjadi empat langkah utama:

1. Perolehan sel benih,
2. Perluasan sel benih dalam skala besar,
3. Diferensiasi sel benih yang diinduksi menjadi miofiber, adiposit, atau jenis sel matang lainnya dalam jaringan otot.
4. Perakitan dan pemrosesan makanan dari semua sel yang dikultur menjadi produk daging

1. Perolehan Sel benih

Sel benih adalah sel hewan yang dapat berkembang biak dengan kuat dan secara efisien menghasilkan mioblas, adiposit, dan jenis sel lain yang menyusun jaringan otot, biasanya mengacu pada sel punca. Sel punca embrionik, sel punca pluripoten terinduksi, sel punca otot, dan sel punca mesenchymal adalah jenis sel bibit yang potensial (Genovese et al., 2017; Díaz-Flores et al., 2006; Kadim et al., 2015; Williams et al., 2012). Selain itu, beberapa sel dewasa seperti fibroblas juga dapat dioperasikan untuk membentuk mioblas dan lipoblas dengan cara transdiferensiasi atau dediferensiasi (Oki et al., 2008; Boularaoui et al., 2018). Secara umum, sel-sel ini dapat diperoleh secara efisien dari biopsi jaringan hewan hidup setelah isolasi melalui pencernaan enzimatik, gangguan mekanis, dan pemurnian melalui pemilahan aliran dengan penanda permukaan tertentu (Ding et al., 2017). Berbagai sumber sel dapat digunakan untuk memproduksi daging culture, tetapi masing-masing tipe sel membutuhkan strategi ekspansi dan diferensiasi *ex vivo* yang spesifik sesuai dengan karakteristik pertumbuhan dan perkembangannya (Stephens et al., 2018; Fish et al., 2020; Zhang et al., 2020).

2. Perluasan Sel Benih dalam Skala Besar

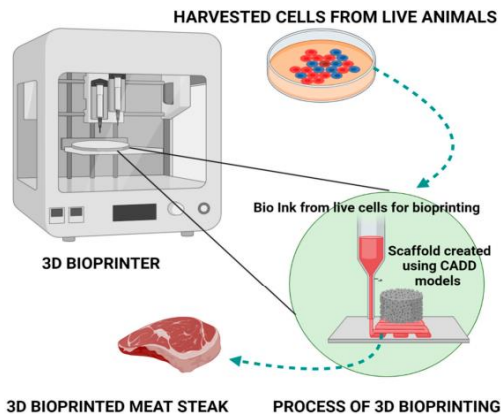
Setelah sel benih dikumpulkan, sel benih perlu berkembang biak untuk mencapai jumlah sel yang besar. Skala kultur laboratorium dengan labu atau piring masih jauh dari memenuhi permintaan pasar, sehingga perlu dikembangkan sistem bioreaktor skala besar (Post et al., 2020). Selain itu, prosesnya harus menggunakan media bebas serum yang ekonomis, dan memantau berbagai parameter seperti pH, O₂ dan CO₂ terlarut, konsentrasi nutrisi dan limbah metabolik penting diperhatikan juga (Allan et al., 2019). Pada saat yang sama, untuk memanfaatkan sumber daya secara efisien dan menjaga biaya produksi yang rendah, penting untuk melakukan daur ulang media dengan pembuangan limbah beracun secara otomatis dan pengisian nutrisi berdasarkan umpan balik pemantauan.

3. Diferensiasi Sel Benih yang Diinduksi

Ketika jumlah sel yang diinginkan tercapai, sel kemudian diinduksi untuk berdiferensiasi menjadi myotubes, adiposit, atau jenis sel matang lainnya dalam jaringan otot. Tingkat kematangan sel akhir yang dihasilkan merupakan indeks evaluasi kunci dalam langkah ini karena struktur fitur dan kandungan nutrisi termasuk protein, asam lemak, dan vitamin sangat dipengaruhi oleh kematangan sel (Liu, 2019). Sel punca otot memiliki potensi diferensiasi miogenik yang kuat, diameter, panjang, dan kandungan protein serat mi yang terbentuk secara *ex vivo* sangat bervariasi berdasarkan kondisi kultur dan jauh lebih rendah daripada serat otot asli (Lamarche et al., 2021; Braga et al., 2017; Park et al., 2016).

4. Perakitan dan Pemrosesan dari Semua Sel yang Dikultur menjadi Produk Daging

Langkah terakhir dari produksi culture meat yaitu sel matang yang diperoleh dikumpulkan dan diproses termasuk pencetakan, pewarnaan, dan bumbu, yang pada akhirnya membentuk produk akhir daging yang dikulturkan (Zhao et al., 2019). Perakitan myofiber, adiposit, dan sel jaringan ikat sangat penting untuk membentuk sepotong daging yang terstruktur seperti marmer (Stephens et al., 2018). Selain itu, sel dikultur bersama dalam lingkungan biomimetik yang disediakan oleh perancah atau hidrogel (Tuomisto, 2019). Kemajuan dalam teknologi bio-printing 3D menjanjikan untuk membuat jaringan otot dengan ukuran yang relatif besar dan konstruksi komposit yang kompleks melalui pengaturan hidrogel yang sarat sel (Kang et al., 2016), sehingga produk akhir dapat dicapai setelah pemberian suplementasi protein heme dan bahan bumbu.



Gambar 12.4. Bioprinting 3D dalam teknik daging kultur in vitro (Balasubramanian et al., 2021)

12.2.6 Tantangan Teknis untuk Memproduksi Daging Budidaya

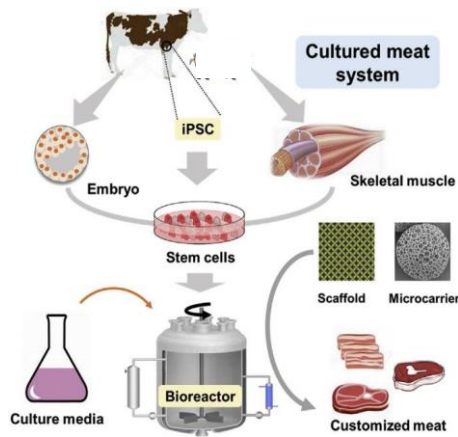
Meskipun menciptakan biomassa seluler dapat dicapai dengan menggunakan teknologi yang ada terlepas dari skala dan biaya, produk tersebut tidak dapat dianggap setara dengan sepotong daging jika tidak memberikan tekstur, rasa, dan kandungan nutrisi yang serupa. Oleh karena itu, saat ini industri daging culture masih dalam masa pertumbuhan, menunjukkan bahwa setiap prosedur produksi perlu dioptimalkan dan banyak tantangan teknologi yang perlu diatasi sebelum produk daging culture siap disajikan di meja konsumen.

1. Media untuk Kultur Sel

Sebagai produk berbasis kultur sel, pengembangan media kultur yang optimal merupakan salah satu prioritas utama untuk daging yang dikultur (Mizukami dan Swiech, 2018). Secara khusus, media kultur tidak hanya harus mempromosikan proliferasi dan diferensiasi sel yang efisien, tetapi masalah seperti biaya dan keamanan pangan juga harus diperhitungkan. Tantangan pertama adalah menghilangkan serum janin (FBS) dan komponen turunan hewan lainnya dari media kultur. FBS merupakan suplemen pemacu pertumbuhan yang penting dan universal dalam media sel hewan, tetapi harganya masih mahal, komposisi yang rumit, perbedaan batch yang besar, dan membawa risiko kontaminasi virus (Gstrauntaler et al., 2013; Fang et al., 2017; Wessman dan Levings, 1999). Selain itu, beberapa komponen seperti albumin, transferin dan matrigel juga langsung diekstraksi dari hewan. Agar sesuai dengan tujuan culture meat yaitu menghindari pemeliharaan dan penyembelihan hewan, maka semua komponen hewan harus ditiadakan dalam proses produksinya. Selanjutnya, pengembangan media bebas

serum dan bebas komponen hewani sangat penting untuk memastikan keamanan maksimum, keberlanjutan, pengendalian dan akurasi proses kultur sel.

Tantangan utama dalam kultur jaringan untuk daging yang adalah mendapatkan sel starter homogen dalam jumlah yang cukup banyak untuk melakukan proliferasi dan diferensiasi yang efektif. Selama beberapa dekade terakhir, beberapa jenis sel punca telah diidentifikasi, dan teknologi terkait telah berkembang pesat. Saat ini, ada beberapa sumber sel yang digunakan untuk rekayasa jaringan. Salah satu sumbernya adalah jaringan asli atau garis sel mutasi kemudian diinduksi melalui rekayasa genetika atau metode kimia, menghasilkan proliferasi sel yang tidak terbatas (Ramboer et al., 2014). Sel-sel yang terus berkembang biak ini dapat mengurangi ketergantungan pada sampel jaringan segar dan meningkatkan laju proliferasi dan diferensiasi sel. Namun, ada juga beberapa masalah yang terkait dengan garis sel yang berasal dari sel punca termasuk ketidakstabilan genetik dan pergeseran fenotipik. Ketidakstabilan genetik dan fenotipik garis sel, bersama dengan kesalahan identifikasi dan kontaminasi mikroorganisme, adalah salah satu dari beberapa masalah yang terus memengaruhi kultur sel (Geraghty et al., 2014). Sumber lain adalah sel punca yang diisolasi dari jaringan, seperti sel punca embrionik, sel punca otot, dan sel punca mesenkimal (Gambar 5) (Stern-Straeter et al., 2014).



Gambar 12.5. Diagram alir produksi daging kultur. Sel induk yang diperoleh dari jaringan otot, embrio, atau sel somatik yang diinduksi pertama kali diperluas dan kemudian diinduksi untuk diferensiasi menjadi sel otot. Sel-sel ini selanjutnya ditanam dalam bioreaktor untuk menambah jumlahnya. Scaffolds atau microcarrier kemudian diperkenalkan untuk menumbuhkan sel-sel ini menjadi serat otot tertentu dan jaringan yang lebih besar. Tuomisto HL (2019)

2. Proliferasi dan Diferensiasi

Pengembangan sel induk dan rekayasa jaringan memberikan kemungkinan produksi daging kultur skala besar (Zhao et al, 2017; Cravero et al, 2015). Daging yang dikultur membutuhkan sejumlah besar sel otot yang berbeda untuk membentuk jaringan. Studi telah menunjukkan bahwa mempertahankan sel sehat dengan menyediakan nutrisi segar adalah layak, sementara pelepasan atau pemisahan sel diperlukan untuk mempertahankan sel dalam pertumbuhan eksponensial (Masters & Stacey, 2007). Namun, sebagian besar sel memiliki kapasitas terbatas untuk membelah, yang dikenal

sebagai batas Hayflick, yang membatasi kultur jaringan otot skala besar di laboratorium. Ada cara lain yang efektif untuk meningkatkan proliferasi dengan meningkatkan potensi regeneratif sel punca. Misalnya, batas Hayflick ditentukan oleh panjang telo belaka, yang merupakan urutan berulang yang kaya akan guanin di ujung kromosom. Telomere memendek dengan setiap putaran replikasi, memengaruhi kemampuan sel untuk berkembang biak. Telomerase, ribozim yang memperpanjang telomere, ditemukan dalam garis sel anti-penuaan. Oleh karena itu, mengatur ekspresi atau penambahan telomerase eksogen dapat secara efektif meningkatkan potensi regenerasi sel, yang kondusif bagi proliferasi sel hewan dalam skala besar, stabil, dan cepat (Shay & Wright, 2000).

3. Media Kultur Bebas Serum

Media berbasis serum telah banyak digunakan untuk menumbuhkan sel hewan secara *in vitro*, memberikan aktivitas pemacu pertumbuhan yang tinggi untuk berbagai lini sel mamalia (M. Takahashi, Makino, Kikkawa, & Osumi, 2014). Serum mengandung faktor perlekatan, mikronutrien, elemen jejak, faktor pertumbuhan, hormon, dan elemen pelindung yang mendorong pertumbuhan sel yang cepat, tetapi juga membawa risiko kontaminasi virus atau prion (Park et al., 2013). Sangat penting untuk menggunakan media yang murah dan aman untuk rekayasa jaringan dan peningkatan daging kultur (Leong et al., 2017; Bjare, 1992; Warner, 2019).

Desain berbantuan komputer dan biologi sintetik telah diadopsi sebagai pendekatan yang efisien untuk membangun media yang ditentukan secara kimiawi (Tan et al., 2015). Basis data online media bebas serum interaktif menentukan garis sel yang disesuaikan dengan spesies,

organ, jaringan, dan tipe sel (Brunner et al., 2010). Ada perbaikan bertahap dengan penambahan bahan utama dan mengadaptasi sel ke media bebas serum dengan melibatkan pendekatan sistematis untuk mengganti serum secara bertahap dengan mengganti nutrisi esensial atau faktor pertumbuhan (Aswad, Jalabert, & Roma, 2016), yang dapat memfasilitasi produksi daging kultur dalam skala besar dalam kondisi yang aman.

4. Bioreaktor untuk Peningkatan Skala

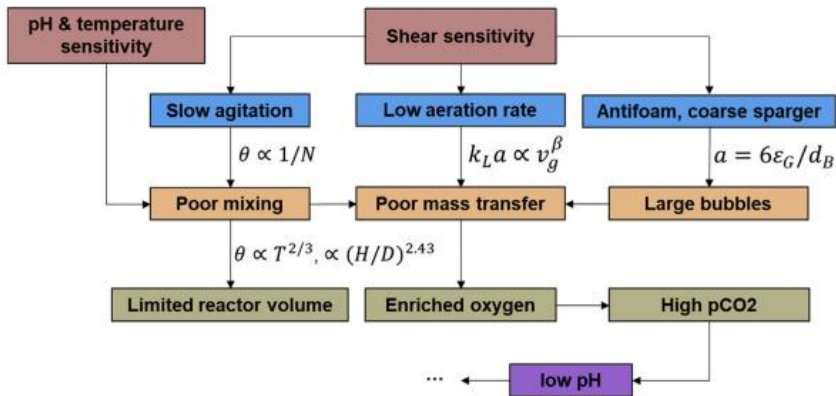
Desain dan pengembangan bioreaktor untuk daging culture tidak diragukan lagi merupakan tantangan teknis, yang skalanya diharapkan akan menjadi yang terbesar yang pernah ada di bidang kultur sel mamalia. Produksi satu ton daging culture, jumlah sel yang diinginkan berada di urutan 10^{14} dan kepadatan sel maksimum yang dapat diakses dalam bioreaktor adalah $1\sim3 \times 10^7/\text{mL}$, jadi satu bioreaktor 10 m^3 adalah konfigurasi dasar (Post et al., 2020). Secara *in vivo*, pertumbuhan dan perkembangan sel tidak dapat dipisahkan dari lingkungan interaksi berbagai organisme, demikian pula bioreaktor harus menyediakan lingkungan yang sama untuk pertumbuhan sel secara *ex vivo*. Secara khusus, perlu artifisial membangun "jantung" (pencampuran nutrisi), "paru-paru" (pertukaran gas), dan "ginjal" (pembuangan limbah metabolisme) dalam bioreaktor. Jika lingkungan keseluruhan atau lingkungan lokal dalam bioreaktor tidak sesuai, dapat menyebabkan diferensiasi sel dewasa sebelum waktunya atau apoptosis.

Di antara alasan mengapa produksi skala besar belum terlihat adalah kesulitan yang terkait dengan reaktor dan peningkatan proses dari daging kultur (Verbruggen, Luining, van Essen, & Post, 2018). Saat ini, sebagian besar produk yang berasal dari kultur sel mamalia masih bernilai tinggi dan produksi masih rendah. Industri biotek ini

masih terbatas pada terapi dan obat-obatan (Oosterhuis, 2018). Bioreaktor skala produksi yang tersedia secara komersial untuk kultur sel biasanya berukuran 1–2 m³ dalam volume kerja, meskipun bioreaktor yang lebih besar hingga 10–20 m³ dapat dibuat khusus (Flickinger, Hu, Zhou, Zhou, & Zhong, 2010).

5. Suspensi Kultur

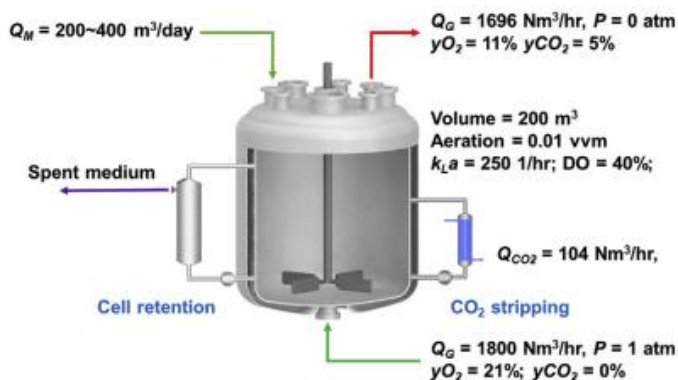
Sistem pilihan untuk kultur sel mamalia skala besar (>1 m³) adalah reaktor tangki berpengaduk, sel-sel tersebut tersuspensi secara bebas atau menempel pada mikrocarrier yang tersuspensi. Suspensi kultur berlaku untuk daging yang dikultur, karena sel myoblast bergantung pada jangkar (Verbruggen et al., 2018). Tingkat disipasi energi 400 W/m³ menghasilkan penurunan 25% dalam produktivitas antibodi monoklonal dengan lini sel (Sieck et al., 2013). Ledakan gelembung 1 mm menghasilkan tingkat disipasi energi lokal 10 MW/m³ yang efisiensi perpindahan massa, yang diagram alirnya dapat dilihat pada Gambar 12.6.



Gambar 12.6. Dampak sensitivitas geser yang dirasakan sel hewan pada desain dan operasi reaktor. θ : waktu pencampuran; N : kecepatan agitasi; T : diameter tangki; H : kedalaman cairan; **kLa** : koefisien perpindahan massa volumetrik; **v_g** : kecepatan superfisial gas, yaitu laju aliran volumetrik gas dibagi dengan luas penampang reaktor; $\dot{y}$: parameter yang dapat disesuaikan secara empiris; a : area perpindahan massa tertentu; **$\dot{y}G$** : gas holdup, yaitu fraksi gas volumetrik; **d_B** : diameter gelembung. (Zhang et al., 2020)

Perpindahan massa yang buruk memerlukan penggunaan udara yang diperkaya sebagai suplai oksigen, yang pada gilirannya menghasilkan tekanan parsial CO₂ tinggi, hasil bagi pernapasan (RQ) sel hewan mendekati satu. Akibatnya, N₂ murni digunakan untuk menghilangkan CO₂ terlarut. Ketika digunakan konsentrasi minimum 0,5 g/L (Sieblis et al., 2013; AW Nienow, 2006). Berdasarkan serapan oksigen spesifik tipikal sel hewan, 10-16 mol/sel/detik dan densitas sel 10⁸ sel/mL, koefisien perpindahan massa volumetrik 250 1/jam

diperlukan untuk mempertahankan tingkat oksigen terlarut sebesar 30–50% sambil mencapai konversi oksigen 50% tanpa tekanan tambahan yang diterapkan ke reaktor. Laju aliran udara steril yang sesuai yaitu 1800 Nm³/jam, memberikan kecepatan superfisial gas 0,012 m/s di bagian bawah dan dua kali lipat kecepatan di bagian atas reaktor setinggi 10 m dengan diameter internal 5 m (Gambar 12.7).



Gambar 12.7. Diagram alir proses dengan parameter operasi utama untuk reaktor produksi daging budidaya skala besar potensial. QM: laju alir sedang, QG: laju alir gas, P: tekanan, kLa : koefisien perpindahan massa volumetrik, y_{O_2} : fraksi volu metrik O₂, y_{CO_2} : fraksi volumetrik CO₂, QCO₂: laju pengupasan CO₂ (Zhang et al., 2020)

Tekanan hidrostatik 1 atm di dasar reaktor tidak menyebabkan kerusakan pada sel (Takagi, Ohara, & Yoshida, 1995). Konversi oksigen 50%, konsentrasi CO₂ dalam fase gas mencapai 10,5% memiliki efek merugikan pada biakan, CO₂ dapat langsung dihilangkan dari fase cair menggunakan membran selektif permeabel CO₂ (misalnya, Kontaktor Membran Membrana Liqui-Cel) atau kombinasi

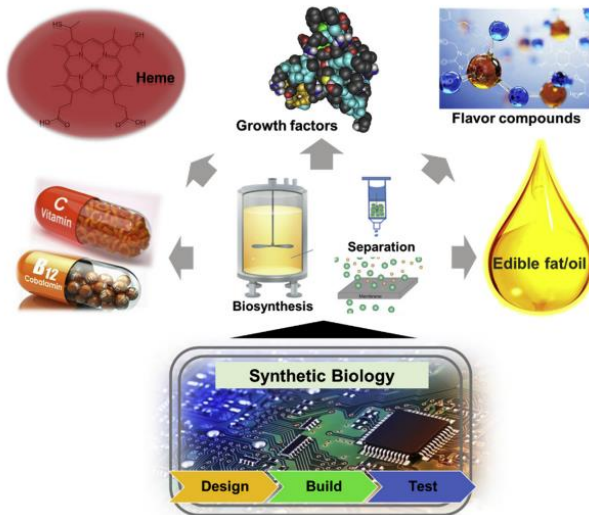
dari sparger kasar dan tingkat aerasi yang lebih tinggi dapat memberikan tingkat transfer oksigen yang sama. Selain pasokan oksigen yang cepat dan penghilangan CO₂, media cair perlu diisi ulang dengan laju pengenceran 1–2/hari (Y. Zhang, Stobbe, Silvander, & Chotteau, 2015) dan sel harus 100% dipertahankan. Oleh karena itu, perangkat retensi sel yang sesuai, misalnya, filtrasi aliran silang atau sentrifugasi terus menerus, akan diperlukan untuk mendaur ulang sel. KL sebagian besar ditentukan oleh sifat fisiokimia media kultur, peningkatan k_La sebagian besar akan berasal dari area perpindahan massa spesifik, a , yang pada gilirannya merupakan fungsi dari penahanan gas, $\bar{y}G$ (atau fraksi gas volumetrik) dan gelembung ukuran (db). Desain rasional reaktor semacam itu menggunakan alat seperti CFD (Villiger et al., 2018), dan satu-satunya ketidakpastian adalah sensitivitas geser sel, terutama yang berkaitan dengan gelembung yang pecah (Neunstoecklin et al., 2016; Neunstoecklin et al., 2015; Sieck et al., 2013).

6. Microcarrier

Sel-sel myoblast adalah anchor-dependent, microcarrier harus digunakan bersama dengan tangki berpengaduk atau bioreaktor kolom gelembung untuk kultur tersuspensi. Penggunaan microcarrier dalam kultivasi sel hewan telah lama diketahui (Van Wezel, 1967), dan diharapkan tidak ada hambatan teknis utama untuk penerapannya dalam produksi daging kultivasi. Kecepatan cairan dan kecepatan agitasi yang dibutuhkan oleh homogenisasi media kultur harus melebihi yang dibutuhkan oleh suspensi mikrokarrier dan dapat dievaluasi dengan simulasi CFD (Delaforse, Loubière, Calvo, Toye, & Olmos, 2018). Sudah ada beberapa pekerjaan eksperimental pembuktian konsep yang mengeksplorasi potensi penggunaan microcarrier untuk

- produksi daging sapi kultur, dan yang tersisa adalah masalah penyaringan untuk bahan dan struktur microcarrier yang optimal (Verbruggen et al., 2018). Jika pembawa mikro dapat terurai secara hayati maka dapat diintegrasikan ke dalam produk akhir dengan cara menghilangkan langkah pemisahan hilir. Bahan-bahan yang sesuai untuk tujuan ini termasuk pektin berikatan silang, seperti pektin tiopropionilamid (PTP), dan RGD yang mengandung polipeptida, seperti tiolated cardosin A (Francoise SM, Brendan PP, Gabor F., & Andras F., 2017). Sel yang dipanen dari microcarrier jauh lebih mudah daripada di industri farmasi karena agitasi intensif dapat digunakan (AW Nienow, Rafiq, Coopman, & Hewitt, 2014).
7. Zat aditif nutrisi yang diproduksi dengan biologi sintetik

Dengan pesatnya perkembangan pabrik sel dan kultur sel punca, sejumlah kecil daging kultur dapat diproduksi di laboratorium, namun dengan biaya tinggi dan masih jauh untuk mengkomersialkannya. Selain itu, penerimaan pasar terhadap produk ini juga belum cukup (Bekker et al., 2017; Verbeke et al., 2015). Alasan utamanya adalah produk daging buatan saat ini tidak secara realistis mensimulasikan kualitas daging asli dengan cara yang hemat biaya dan hemat sumber daya. Oleh karena itu, perlu untuk memenuhi preferensi jaringan otot dengan warna, nutrisi, aroma, dan rasa yang nyata (Gambar 8).



Gambar 12.8. Bioteknologi sintetik berbasis biologi diterapkan pada produksi dan optimalisasi daging kultur. Mikroba yang dirancang untuk biologi sintetik telah digunakan untuk menghasilkan molekul individu dan dapat dengan mudah ditingkatkan untuk produksi komersial, seperti bahan tambahan makanan, enzim, dan senyawa lainnya. (Zhang et al., 2020).

Warna merah daging asli diberikan oleh heme dalam hemoglobin atau mioglobin (Salvador et al., 2009; Sakata & Honokel, 2001). Jaringan otot buatan tidak mengandung hemoglobin dan mioglobin. Jadi, untuk mensimulasikan warna daging asli, hemoglobin yang stabil harus ditambahkan pada produk daging kultur (Jin et al., 2018). Hemoglobin dapat diperoleh dari darah hewan atau jaringan tumbuhan, tetapi metode ini memakan waktu dan kerja yang rumit (X. Zhang et al., 2017). Ada dua jalur untuk biosintesis heme (jalur C4 dan C5). Terdapat enzim

dan gen pengkodennya yang terlibat dalam dua jalur ini (Layer, Reichelt, Jahn, & Heinz, 2010). Sejumlah kecil heme dapat disintesis menggunakan jalur C4 pada *Escherichia coli* (Pranawidjaja, Choi, Lay, & Kim, 2015). Namun, strategi ini memerlukan penambahan glisin dan asam suksinat sebagai substrat, dan ini tidak cocok untuk fermentasi skala besar. Tanpa penambahan substrat, produksi heme ekstraseluler dicapai pada *E. coli* menggunakan jalur C5 melalui penghambatan degradasi heme dan pembentukan produk sampingan (XR Zhao, Choi, & Lee, 2018).

Zat aromatik seperti daging sapi, termasuk tiol, pirazina, tiazol, dan disulfida, dapat dibuat dengan pemanasan konvensional atau microwave dari hidrolisat enzimatis protein jamur dengan prekursor lainnya (Lotfy et al., 2015). Selain itu, sebanyak 57 senyawa perasa volatil yang berkontribusi terhadap bau daging dapat terbentuk dengan mencampurkan hidrolisat enzimatis residu kecap dengan kedelai yang dihilangkan lemaknya (Wang & Cha, 2018). Selain itu, analisis metodologi permukaan respon digunakan untuk mengoptimalkan kondisi reaksi Maillard untuk membentuk zat aromatik dari berbagai sumber (Yang, Song, Chen, & Zou, 2011).

Selain zat aromatik, asam lemak dalam jumlah yang sesuai juga dibutuhkan untuk memberikan rasa daging yang unik pada daging kultur. Ekspresi terintegrasi yang efisien mengandung dua gen de saturase dari *Mortierella alpina*, sejumlah besar asam linolenat disintesis dari prekursor intraseluler dalam *Yarrowia lipolytica* (asam linoleat dan asam oleat) (Chuang et al., 2010). Selanjutnya, asam eicosa dienoic, asam eicosatrienoic, dan asam eicosapentaenoic dapat disintesis dari bahan baku murah setelah mengoptimalkan kondisi kultur (Poli et al., 2014). Saat ini, rendemen asam lemak tak jenuh pada strain penghasil

ester komersial dapat mencapai lebih dari 50% total asam lemak intraseluler (Lazar, Liu, & Stephanopoulos, 2018). Selain itu, asam linolenat dan ester turunannya dapat diekstraksi secara efisien dari sel (Yook, Kim, Woo, Um, & Lee, 2019) dan digunakan sebagai bahan tambahan makanan untuk meningkatkan cita rasa daging kultur.

8. Produksi daging tiruan yang disesuaikan dengan pencetakan 3D

Peningkatan standar hidup masyarakat menyebabkan peningkatan permintaan untuk produk daging yang disesuaikan dengan keinginan konsumen. Perbedaan rasa dan aroma yang signifikan pada daging dari berbagai bagian hewan, proporsi komponen utama dalam produk yang diinginkan harus ditentukan terlebih dahulu. Komposisi fisik dan kandungan nutrisi dari potongan daging yang berbeda dapat diperoleh dengan menerapkan spektroskopi inframerah-dekat dan spektrometri massa (Schonfeldt, Naude, & Boshoff, 2010). Selain itu, peralatan yang ditingkatkan dan kecerdasan buatan dapat digunakan untuk analisis komponen daging yang berbeda secara cepat dan akurat (Perez et al., 2018). Proporsi komponen utama dioptimalkan dengan jaringan syaraf tiruan multidimensi untuk membangun model kualitatif daging tiruan (Zou et al., 2018).

Bentuk daging tiruan merupakan faktor penting dan berpengaruh terhadap penerimaan konsumen. Oleh karena itu, pencetakan tiga dimensi sangat dibutuhkan untuk membentuk kembali struktur daging buatan, untuk replikasi dari struktur daging asli yang padat dan elastis (Godoi, Prakash, & Bhandari, 2016). Menggunakan perangkat lunak pemodelan (Rimann et al., 2016), peralatan penyemprot (Gunther et al., 2014), struktur tiga dimensi daging tiruan dapat dirancang dan bahan

pembantu dapat dicampur untuk penyempurnaan bentuk dan rasa daging kultur. Selain itu, teknologi pencetakan tiga dimensi memungkinkan pembuatan bejana buatan yang fleksibel (Attalla et al., 2018) dan kontrol lokal terhadap kekasaran dan ketangguhan daging buatan (Lueders et al., 2014; Saratti et al., 2019), untuk lebih mensimulasikan struktur tiga dimensi daging asli.

9. Pengurangan Biaya untuk Bahan Media Kultur

Pengurangan biaya tetap menjadi prioritas utama dalam pengembangan dan optimalisasi proses produksi daging culture. Sepanjang proses produksi daging culture, biaya paling signifikan yaitu media culture, yang berkontribusi 55% hingga 95% dari biaya produksi (Kolkmann et al., 2020). Tingginya harga sitokin bukan karena kesulitan teknis dalam produksi, tetapi skala industri yang masih relatif rendah (Choudhury et al., 2020). Biaya produksi banyak enzim skala industri dalam jumlah besar dalam pengolahan makanan dan kebutuhan sehari-hari seperti lipase, selulase, dan amilase lebih rendah daripada biaya produksi sitokin (Specht, 2020). Oleh karena itu, perlu mengembangkan standar food grade bahan daging culture, sehingga sitokin murah tersedia di pasar. Selain itu, sering dikatakan dalam industri fermentasi bahwa skala yang lebih besar menciptakan biaya per unit output yang lebih rendah, sehingga harga sitokin mau tidak mau menurun seiring dengan intensitas persaingan profesi dan perluasan skala produksi.

Cara lain untuk mengurangi biaya adalah dengan menggunakan hidrolisat protein yang berasal dari tumbuhan atau mikroorganisme sebagai bahan dasar media atau bahkan suplemen serum. Hidrolisat protein adalah produk yang diperoleh setelah hidrolisis protein secara enzimatis, asam atau basa, dan komponen utamanya

adalah peptida, dengan sejumlah kecil asam amino, gula, lipid, mineral, dan vitamin (Pasupuleti dan Demain, 2010). Meskipun hidrolisat protein tersedia secara luas, murah, dan telah menunjukkan beberapa efek menguntungkan pada pertumbuhan sel, mekanismenya tidak sepenuhnya pasti. Selain itu, sumber bahan baku yang bervariasi dan komponen yang tidak sepenuhnya jelas dapat menyebabkan perbedaan besar antara batch produk (Lobo-Alfonso et al., 2008).

12.2.7 Tantangan Regulasi dan Sosial untuk Daging Culture

1. Evaluasi keselamatan dan kebijakan peraturan

Sebagai jenis produk daging baru, evaluasi keamanan dan kebijakan regulasi daging culture perlu dipelajari dan dirumuskan secara hati-hati. Mengenai status regulasi industri daging culture, Uni Eropa (UE) adalah inisiator pertama, Amerika Serikat adalah promotor paling aktif, dan Israel dan Singapura adalah peserta positif (Listek, 2020; Post et al., 2020). Di UE, yang mulai berlaku pada 1 Januari 2018, secara eksplisit mencantumkan produk yang dihasilkan melalui kultur sel atau jaringan hewan sebagai makanan baru, menghapus rintangan hukum untuk pemasaran daging culture (EFSA, 2018). Di Amerika Serikat telah memperkenalkan kerangka peraturan bersama untuk mengatur daging culture setelah beberapa diskusi. Di Australia dan Selandia Baru mengumumkan bahwa daging yang diculture dapat dimasukkan dalam Kode Standar Makanan yang ada tetapi persetujuan pra-pasar khusus diperlukan. Di Cina, sistem pengawasan dan peraturan terkait culture meat sedang disiapkan dan ditingkatkan untuk industri daging culture. Peneliti Cina menyarankan bahwa daging culture harus dianggap

sebagai bahan baku makanan baru dan dikelola sesuai dengan Metode Manajemen Nasional untuk Tinjauan Keamanan Bahan Baku Makanan Baru (Wang et al., 2019). Keamanan hewan donor dan seluruh proses produksi daging culture harus diperkuat, dan sistem standar independen dan sistem regulasi objektif harus dikembangkan untuk menilai risiko keamanan pangan dan komposisi nutrisi. Regulator Singapore mengklaim telah menyetujui penerapan penjualan publik produk ayam culture oleh perusahaan bernama Eat Just, menjadi regulasi pertama yang dikeluarkan untuk daging culture. Namun, tidak ada informasi khusus tentang tekstur, rasa, dan nutrisi termasuk komposisi asam amino, protein, lemak, dan kandungan mineral produk ini.

2. Keamanan

Risiko keamanan pangan daging culture meliputi keamanan kimiawi, keamanan hayati, dan keamanan nutrisi selama proses produksi (Wang et al., 2019). Komponen media dan aditif ekstra untuk proliferasi dan diferensiasi sel, bahan perancah, dan penggunaan antibiotik dan hormon harus sesuai dengan peraturan yang relevan (Chriki dan Hocquette, 2020). Perlu dicatat bahwa untuk beberapa aditif perlu dikembangkan spesifikasi penggunaan mengenai produk makanan karena aplikasi pertama mereka di area makanan. Dalam hal keamanan hayati daging culture, potensi variasi gen dan protein sel akibat budidaya jangka panjang *in vitro* harus dievaluasi sebelum dikomersialkan. Jika modifikasi gen diterapkan selama proses produksi, evaluasi sensitisasi, toksisitas, dan tumorigenisitas seluruh produk harus dilakukan dalam rotasi yang ketat (Mohorcich dan Reese, 2019). Singkatnya, kriteria evaluasi keamanan pangan dan regulasi kebijakan yang ditujukan pada semua bahan dan produk dalam rantai

industri daging culture perlu diperkenalkan sedini mungkin, yang dapat memberikan panduan untuk penelitian daging culture.

3. Persepsi dan Penerimaan Publik

Masalah persepsi dan penerimaan publik selalu menjadi tantangan dalam teknologi dan produk yang muncul, tidak terkecuali daging yang diculture (Bryant, 2020). Bryant dan Barnett (2018) melakukan tinjauan sistematis berdasarkan 14 studi tentang penerimaan konsumen terhadap daging culture dan menemukan tanggapan yang bertentangan dalam mencoba daging culture. Daging culture lebih dapat diterima oleh orang yang mengenalnya atau setelah diberi tahu tentang manfaat daging culture bagi lingkungan dan kesehatan. Kekhawatiran konsumen terfokus pada ketidakpastian keamanan dan harga pangan, seperti ketidakwajaran, tidak sehat, tidak enak, dan harga yang tidak terduga. Rolland et al., (2020) menyelidiki penerimaan pelanggan terhadap daging culture setelah mencicipi dan menekankan pengaruh informasi positif dalam meningkatkan penerimaan dan keinginan untuk mencicipi daging culture. Anehnya, 58% responden bersedia membayar mahal untuk daging culture, rata-rata 37% di atas harga daging biasa.

Daging culture umumnya ditargetkan pada pemakan daging, namun beberapa individu yang condong vegetarian yang tidak makan daging karena belas kasih untuk hewan, berpotensi sebagai konsumen daging culture (Siegrist et al., 2018). Tanggapan yang lebih kritis tentang daging culture seperti “tidak alami” dan “tidak menarik” (Laestadius dan Caldwell, 2015). Oleh karena itu, selain berupaya melakukan terobosan teknologi, sosialisasi ilmu pengetahuan masyarakat tentang daging culture harus dilakukan melalui berbagai jalur. Tujuan pengembangan,

teknologi produksi, keuntungan dan kerugian daging culture, serta nilai gizi, keamanan pangan, dan pengaruh kesehatan dari produk, harus dipopulerkan ke publik tanpa bias. Setelah konsumen membangun persepsi yang benar, mereka dapat memilih apakah akan makan dan kapan harus makan daging culture.

12.2.8 Lima Alasan Utama Kebutuhan Daging Culture Meat

1. Penyesuaian Nutrisi dalam Daging Culture Meat
 - ✓ Keberhasilan kultur daging in vitro tergantung pada pilihan media kultur.
 - ✓ Pemilihan kultur memanipulasi dan mempengaruhi rasa dan asam lemak komposisi sehingga daging culture mentah dapat disesuaikan dengan nutrisi yang diinginkan
 - ✓ Bisa juga dengan memasukkan vitamin, perasa, dan zat nutrisi tertentu
 - ✓ Jika menginginkan daging dengan lemak tertentu maka ditingkatkan lemak dilakukan dengan budaya bersama penghasil lemak adiposit.
 - ✓ Fenomena melengkapi daging dengan rasa tambahan ini disambut baik oleh pelanggan, sementara munculnya makanan yang diubah nutrisinya telah menarik kemauan pemangku kepentingan terhadap karakteristik gizi daging culture
2. Pemanfaatan Sumber Daya Hayati yang Minimalis dan Peningkatan Jejak Ekologis
 - ✓ Proyeksi peningkatan gas rumah kaca yang mengkhawatirkan sedang mengancam, sementara sebagian besar bagian yang merupakan 7,1 gigaton emisi karbon dioksida terhitung sekitar 14,5% dari emisi bersumber dari rantai pasokan ternak konvensional

- ✓ Memelihara ternak untuk daging dan produk susu menempati 65% dari total emisi gas rumah kaca, khususnya 45% dari ini dalam bentuk metana
 - ✓ Variasi perubahan iklim yang cepat ini secara langsung memaksakan fluktuasi distribusi satwa liar dan mempercepat penyebaran penyakit zoonosis dan vektor penyakit menular pada manusia dan satwa liar
 - ✓ Produksi daging melalui pemeliharaan ternak memiliki hubungan yang lebih besar dengan konsumsi air tawar, sementara diperkirakan sepertiga dari sumber daya air tawar dimanfaatkan untuk peternakan
 - ✓ Air yang digunakan untuk menanam pakan ternak menyumbang 98% dari total produksi ternak
 - ✓ Pengurangan jejak karbon pada kenyataannya dimungkinkan dengan produksi daging di laboratorium, yang tidak diragukan lagi menjamin keseimbangan ekologi
3. Sosial Budaya
- ✓ Survei terbaru tentang penerimaan daging culture di beberapa negara yaitu Australia, Cina, Inggris, Prancis, Jerman, Meksiko, Afrika Selatan, Spanyol, Swedia, dan AS menunjukkan angka yang positif terhadap penerimaan daging culture
 - ✓ Daging culture disesuaikan dari sel hewan hidup memiliki tantangan dan prospek untuk meyakinkan sosial-etika, ramah lingkungan, dan masalah kesehatan masyarakat.
4. Culture Meat tidak seperti Produksi Daging Konvensional,
- Daging yang ditanam di laboratorium membutuhkan lebih sedikit waktu dan menghasilkan produksi maksimal. Selain itu, jalur pipa tradisional untuk ternak membutuhkan energi dan bioresources dan kebutuhan alam seperti pakan ternak, penggerak, dan ruang, dan

reproduksi membutuhkan waktu dan investasi uang. Culture meat memiliki keuntungan diproduksi dalam bioreaktor yang dapat ditingkatkan dalam waktu yang jauh lebih sedikit ruang, dan panen dapat dilakukan dengan cepat dengan semua nutrisi yang dapat disesuaikan seperti seperti vitamin, protein, mineral, dan juga nutrisi tambahan. Tujuan strategis dari culture meat memiliki banyak arti, karena dapat dibawa dengan mudah untuk memasok pasukan di medan perang di daerah kutub dan medan yang sulit, di mana pasokan nutrisi makanan menjadi tugas yang sulit. Dengan cara yang sama, daging culture dapat diberikan sebagai makanan untuk astronot. Selain itu, ini telah digunakan sebagai makanan untuk stasiun ilmiah yang berkemah di lautan dan kutub bumi dimana makanan kaya protein dan lemak menjadi kebutuhan wajib. Dengan demikian, culture meat memiliki keuntungan dalam situasi darurat dan juga memenuhi kelangsungan hidup jangka panjang

5. Perlindungan Hutan dan Hewan Eksotis
 - ✓ Pemanfaatan tutupan hutan untuk pengembalaan dan bahan bakar berhubungan langsung dengan peternakan konvensional untuk produksi daging.
 - ✓ Promosi daging culture dapat mempengaruhi pengurangan habisnya sumber daya hutan dan mendukung kelestarian lingkungan untuk jangka panjang. Selain itu, ini juga menjadi cara yang bagus untuk memulihkan ternak yang terancam punah. Dengan kata lain, daging culture dapat mencegah aktivitas perburuan satwa liar untuk daging hewan eksotis. Karena sel dapat dibiakkan di laboratorium menggunakan sel punca. Ini secara langsung mengurangi ancaman terhadap hewan liar dari punah.

- ✓ Pemasaran global hewan langka dan terancam punah untuk hewan konsumsi telah mengurangi populasi liar dari banyak spesies langka di banyak negara, sehingga daging culture dari hewan satwa liar dan terancam punah menjadi solusi (Stephens et al. 2018)

12.2.9 Tanggapan terkait Culture Meat

1. Tanggapan Daging Culture Meat terkait Psikologis

- ✓ Penerimaan konsumen menghadapi rintangan besar, meskipun daging culture menjadi pilihan yang tidak dapat dibantah untuk keamanan lingkungan, persepsi negatif dipandang sebagai tantangan utama.
- ✓ Diantara manusia dan termisasneophobia, suatu keadaan kecenderungan untuk tidak terbiasa dengan makanan yang baru. Hambatan ini dapat diatasi melalui kesadaran, diskusi transparan di forum publik, dan hasil penelitian oleh para akademisi yang berlatar belakang ilmiah kepada publik untuk mengatasi skeptisisme tersebut.
- ✓ Strategi proaktif yang diperlukan diperlukan untuk promosi dan peningkatan penerimaan daging culture [Tomiyama., et al 2020)].
- ✓ Media memainkan peran penting dalam promosi serta kritik untuk setiap teknologi baru dan dapat diperdebatkan atau diterima.
- ✓ Persetujuan pembeli daging culture didasarkan pada faktor penentu yang luas seperti pengetahuan, persepsi, harapan produk, dan faktor-faktor lain seperti keputusan kebijakan, kepercayaan pada ilmu pengetahuan, iklan publik, dan liputan media (Hopkins et al., 2015).
- ✓ Oposisi moral dari para petani dan peternak bahwa teknologi yang berfungsi sebagai bagian dari pertanian

seluler akan merenggut mata pencaharian mereka (Wilks et al., 2017).

- ✓ Daging culture bertujuan untuk memberikan peluang baru untuk pertanian konvensional dengan pemeliharaan breed ternak asli tradisional.
- ✓ Peralihan dari pemotongan karkas ke pemanenan sel mendukung pemilihan breed unggul berdasarkan ciri-ciri genomik dan fenotipik untuk pemeliharaan ternak konvensional, yang dapat diusahakan dengan input rendah dan pengaturan ekstensif. Hal ini dapat memberikan keuntungan tiga kali lipat, termasuk pengurangan dampak lingkungan, konservasi keanekaragaman hayati dalam kaitannya dengan breed asli, dan keuntungan marjinal yang tinggi (Bryant et al., 2020).
- ✓ Inisiasi oleh pembuat kebijakan dan dukungan melalui dana pemerintah dan kampanye pemasaran akan mendorong munculnya perusahaan rintisan dan akan memberikan paparan yang bersamaan kepada masyarakat dan memainkan peran penting dalam mempengaruhi persepsi publik tentang daging culture (Choudhury et al., 2020).
- ✓ Sebuah studi eksplorasi utama yang dilakukan di Belgia dengan 180 peserta mengungkapkan bahwa sebagian besar peserta menyatakan menyukai daging yang culture, sementara 9% keberatan, 43% menunjukkan kesediaan, dan 51% hipotetis menerima.
- ✓ Ulasan tentang penerimaan daging culture dari kelompok responden yang berpendidikan sangat kontras. Studi ini terdiri dari tiga bagian: pertama, wawancara dengan 817 orang (ilmuwan utama dan mahasiswa); kedua, survei internet terhadap 865 orang Prancis dengan latar belakang terdidik dan 208

(ilmuwan) yang berpartisipasi dalam forum terkait daging culture. hanya sedikit persentase (5-11%) yang merekomendasikan konsumsi daging culture daripada daging konvensional (yang ditanamkan). Sementara 38 hingga 47% menawarkan untuk mendukung kegiatan penelitian tentang daging culture. Mereka berspekulasi bahwa daging yang diculture tidak akan diterima sebagai pengganti oleh pecinta daging di masa depan . Orang-orang terpelajar mendukung penerimaan daging culture untuk keramahan lingkungan dan profil nutrisi yang disesuaikan tetapi tidak yakin dengan rasa dan aroma aslinya menyamai daging konvensional (Hocquette., et al 2015).

12.2.10 Tanggapan Teknis dalam Produksi Culture Meat

Produksi daging culture bidang komersial menggunakan teknologi rekayasa jaringan. Produksi daging ini terikat dengan tantangan teknologi dalam bahan baku yang digunakan dalam produksi (misalnya, bioreaktor, media kultur, jenis sel, dll.). Beberapa perusahaan rintisan dan perusahaan terkenal telah mulai berinvestasi dan juga untuk menyelesaikan masalah yang masih ada di bidang ini. Masalah rekayasa bioreaktor, ilmu nutrisi, peran ilmu material untuk persiapan sel, standarisasi protokol kultur, dan augmentasi media yang hemat biaya. Ilmu pembudidayaan daging secara intrinsik dan kompleks sangat diperlukan untuk meningkatkan pendekatan interdisipliner seperti teknik bioreaktor dan biologi sintetik untuk prospek masa depan (Zhang., et al 2020).

Salah satu pemicu biaya yang menonjol dalam produksi daging in vitro adalah media kultur, yang seringkali diproduksi dari sumber yang berasal dari hewan (serum janin sapi). namun, penelitian potensial tentang strategi produksi alternatif diperlukan untuk efektivitas biaya (Specht, 2020). Metode

culture daging yang tepat dengan mencocokkan tekstur daging tradisional adalah perkara yang sulit. Kesulitan tersebut terkait dengan pengembangan sistem vaskular yang lebih rumit, jaringan ikat bersama dengan endo-, peri-, dan epimisius otot dan lapisan lemak sangat menantang secara teknis. Namun, kultur bersama dari berbagai sel seperti mioblas dengan fibroblas dan adiposit (Langelaan et al., 2010) dapat menghasilkan kecocokan yang dekat dengan daging hasil konvensional. Menjadi masalah lainnya adalah setiap garis sel unik dan memerlukan media khusus untuk pertumbuhan dan diferensiasi. Jika permasalahan tersebut tidak ditangani maka akan menghasilkan pertumbuhan yang kurang optimal dan secara langsung mempengaruhi tekstur dan rasa daging culture (Gholobova et al., 2015)

12.2.11 Aspek Sensorik dan Gizi Daging Culture Meat

Pertanyaan apakah daging culture secara biologis setara dengan daging tradisional terus menjadi perdebatan. Studi perbandingan berdasarkan karakteristik molekuler dan sensorik telah dilaporkan dari sudut rekayasa jaringan dan teknologi daging. Sangat menantang bagi daging culture untuk menandingi daging tradisional dalam hal komponen nutrisi seperti lemak, protein, mineral, vitamin, dan nutrisi penting lainnya. Patut dicatat bahwa banyak metabolit biokimia yang ada dalam daging konvensional merupakan produk bersih dari asupan makanan dan metabolisme biologis tetapi tidak berasal dari otot itu sendiri. Pada daging culture dapat secara kasar dicocokkan dengan formulasi media tertentu, dan poin penting bergantung pada seberapa baik sel menyerap nutrisi ini dari media dan akhirnya tumbuh. Kegagalan penyerapan secara signifikan mempengaruhi rasa, nutrisi, dan sensorik dari daging culture.

Metabolisme post-mortem pada hewan setelah penyembelihan mengubah otot menjadi daging, dan sebagian besar dipengaruhi oleh glikolisis anaerobik, di mana glikogen dalam otot diubah menjadi laktat. Sementara oleofactin dan kontraksi miosin disebabkan oleh serangkaian peristiwa seperti metabolisme kalsium, penurunan pH, sehingga mempengaruhi pembentukan kompleks aktin-miosin permanen (Huff et al., 2010) yang mengakibatkan "rigor mortis". Namun, fenomena biologis alami ini tidak ada dalam daging culture, dan sejauh ini belum ada penelitian ilmiah yang membuktikannya. Demikian pula, daging konvensional mengalami pelunakan, dan tergantung pada jenis daging yang digunakan, misalnya, daging sapi, atau ayam, dll., enzim seperti protease, calpain, proteasome, caspase, enzim lisosom cathepsins, dan banyak lainnya terlibat dalam tenderisasi dan peningkatan rasa. Daging culture pada lingkungan mikro dalam bioreaktor dan kondisi intraseluler sangat bervariasi. Interaksi biomolekul yang diperoleh dari proteolisis dan siklus glikogen mempengaruhi panjang, kompleksitas, dan kapasitas menahan air dari sarkomer. Mioglobin berhubungan dengan warna dan kandungan besi dari daging. Infus dan ekspresi mioglobin dalam daging kultur dikaitkan dengan pemilihan media, pemberian hipoksia dalam reaktor serta aditif media yang dipilih seperti lipid atau asam asetat.

Komponen penting lainnya yang menambah rasa dan rasa pada daging tradisional adalah lemak, laktat, dan inosin 50-monofosfat; ini disebabkan oleh reaksi Maillard dan reaksi degradasi lipid (Parker, 2017) dimasukkannya kandungan lemak dalam daging culture dengan menambahkan media dengan lemak nabati dan lemak hewani pada tahap akhir proses culture namun tidak bisa menyamai kesempurnaan daging konvensional. Secara umum, daging konvensional mengandung beberapa mineral dan vitamin seperti seng,

selenium, dan zat besi serta vitamin B12. Dimasukkannya nutrisi ini ke dalam daging culture adalah tugas rumit lainnya, media sudah terdiri dari mineral penting dan digunakan oleh sel untuk pertumbuhan dan diferensiasi, tetapi jumlah nutrisi yang diserap dan dipertahankan oleh sel masih belum jelas. Penambahan produk nabati sintetis yang mengandung vitamin B12 pada tahap akhir produksi daging culture dapat meningkatkan kualitas nutrisi produk tetapi belum bisa secara sempurna menyamai daging konvensional,

12.2.12 Keamanan Pangan pada Daging Culture Meat

Berbagai pilihan untuk pemantauan lanjutan dan optimalisasi proses rekayasa jaringan, yang dapat mengurangi biaya produksi, meningkatkan tingkat produksi, membantu peningkatan skala dan komersialisasi. Seluruh bioproses daging culture memenuhi tahap proliferasi, diferensiasi, dan pematangan, yang masing-masing memerlukan spesifikasi khusus seperti media khusus, perancah, dan bioreaktor. Integrasi sensor dalam bioreaktor dan teknik pencitraan perancah akan memfasilitasi produksi yang hemat biaya dan berkualitas di seluruh rantai pasokan makanan (Djisalov et al., 2021). Peningkatan pemahaman tentang prediksi bioproses (pembelahan sel, pertumbuhan, dan diferensiasi) dan optimalisasi variabel fisik (gerakan fluida, suhu, pH, tekanan, panas dan regulasi oksigen, tingkat karbon dioksida) (Mendonça et al., 2020). Di sisi lain, integrasi sensor telah memungkinkan pemeriksaan kualitas lebih mudah pada tingkat yang berbeda dan meningkatkan kualitas produksi di setiap tahap bioproses. Biosensor elektrokimia diterapkan untuk mendeteksi laktat dan amonia selama fase proliferasi sel dan juga untuk memeriksa tingkat toksisitas akibat kelebihan produksi amonia pada lini sel mamalia (Genzel et al., 2005). Pemasangan biosensor untuk memantau metabolit, nutrisi,

glukosa, enzim, dan produk sampingan akan memungkinkan potensi daur ulang dan konservasi energi. Sedangkan inovasi yang paling mencengangkan adalah multiple sensing melalui mikrofluida.

12.2.13 Tanggapan Daging Culture Terkait Kehalalan Menurut Pandangan Islam

Daging hasil culture meat telah menjadi pilihan pengganti daging konvensional untuk mengurangi pencemaran lingkungan. Krisi pangan hewani daging culture meat akan menjadi cara terbaik untuk mengurangi krisis pangan dan pilihan yang tepat untuk meningkatkan profil nutrisi. Namun penerimaan daging culture meat bagi ummat islam masih perlu peninjauan lebih lanjut. Peninjauan tersebut terkait dengan kehalalan pada zat yang digunakan, hakikatnya, proses pembuatannya dan berbagai aspek daging culture meat. Ulama kaum muslimin di seluruh dunia yang memiliki wewenang dalam berfatwa sebagai pegangan kaum muslimin di dunia. Perkara halal dan haram suatu produk makanan, maka kajiannya ada dikalangan para ulama dan dibantu oleh ahli pangan.

12.3 Kesimpulan

Meningkatnya permintaan global akan daging merupakan tantangan besar, karena kendala sumber daya dan lingkungan yang semakin serius. Meskipun daging kultur dianggap sebagai alternatif yang menjanjikan untuk daging konvensional, namun ini masih dalam tahap awal dan tidak memiliki dasar yang kuat terkait; komposisi kandungan nutrisi, harga, dan sertifikasi keamanan pangan. Selain itu, ada masalah mendasar yang perlu diselesaikan, berkaitan dengan tinjauan kehalalaan daging kultur bagi kaum muslimin, kendala sosial dan etika, rekayasa jaringan

yang efisien, kondisi kultur yang disesuaikan, bioreaktor skala besar, dan pengembangan media kultur bebas serum yang hemat biaya dan aman. Meskipun orang memahami perlunya mengembangkan alternatif daging yang berkelanjutan, mereka tetap pesimis terhadap tantangan peningkatan produksi, biaya, dan keamanan pangan, yang masih perlu mengembangkan banyak penelitian keamanan dan promosi konsep sehat daging kultur.

Terdapat beberapa faktor risiko utama daging kultur seperti sertifikasi keamanan pangan komponen yang digunakan dalam daging kultur dan rekayasa genetika yang diterapkan pada daging kultur. Namun, dengan meningkatnya permintaan dan pengembangan bioteknologi lebih lanjut, daging kultur pada akhirnya dapat bersaing dengan daging konvensional.

Perkara yang masih perlu ditinjau terkait dengan daging kultur adalah aspek kehalalan daging tersebut bagi umat muslimin. Kehalalan daging kultur masih perlu ditinjau dan dikaji lebih mendalam oleh pihak yang terkait (Ulama kaum muslimin, pemerintah, kesehatan, dan pihak lain yang memiliki peranan).

DAFTAR PUSTAKA

- Allan, S.J., De Bank, P.A., Ellis, M.J., 2019. Bioprocess design considerations for cultured meat production with a focus on the expansion bioreactor. *Front. Sustain. Food Syst.* 3, 9. doi:10.3389/fsufs.2019.00044.
- Alexandratos, N., & Bruinsma, J. 2012. World agriculture towards 2030/2050: the 2012 revision. Retrieved from <http://www.fao.org/3/a-ap106e.pdf>
- Alexander, R. (2011). In vitro meat: A vehicle for the ethical rescaling of the factory farming industry and in vivo testing or an intractable enterprise? *Intersect*, Vol. 4, 42–47.
- Aswad, H., Jalabert, A., & Rome, S. (2016). Depleting extracellular vesicles from fetal bovine serum alters proliferation and differentiation of skeletal muscle cells in vitro. *BMC Biotechnology*, 16, 32.
- Attalla, R., Puersten, E., Jain, N., & Selvaganapathy, P. R. (2018). 3D bioprinting of heterogeneous bi- and tri-layered hollow channels within gel scaffolds using scalable multi-axial microfluidic extrusion nozzle. *Biofabrication*, 11, 015012.
- Balasubramanian B, Wenchao Liu, Karthika Pushparaj and Sungkwon Park. 2021. The Epic of In Vitro Meat Production—A Fiction into Reality. *Foods* 2021, 10, 1395. <https://doi.org/10.3390/foods10061395>
- Bekker, G. A., Fischer, A. R. H., Tobi, H., & van Trijp, H. C. M. (2017). Explicit and implicit attitude toward an emerging food technology: The case of cultured meat. *Appetite*, 108, 245–254.
- Bellarby, J., Tirado, R., Leip, A., Weiss, F., Lesschen, J. P., & Smith, P. (2013). Livestock greenhouse gas emissions and

- mitigation potential in Europe. *Global Change Biology*, 19, 3–18.
- Benjaminson, M. A., Gilchriest, J. A., & Lorenz, M. (2002). In vitro edible muscle protein production system (MPPS): Stage 1, fish. *Acta Astronautica*, 51, 879–889.
- Bhat, Z. F., & Bhat, H. (2011a). Animal-free meat biofabrication. *American Journal of Food Technology*, 6, 441–459.
- Bhat, Z. F., & Bhat, H. (2011b). Tissue engineered meat-Future meat. *Journal of Stored Products and Postharvest Research*, 2, 1–10.
- Bhat, Z. F., & Fayaz, H. (2011). Prospectus of cultured meat—advancing meat alternatives. *Journal of Food Science & Technology*, 48, 125–140.
- Bhat, Z. F., Kumar, S., & Bhat, H. F. (2017). In vitro meat: A future animal-free harvest. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57, 782–789.
- Bhat, Z. F., Kumar, S., & Fayaz, H. (2015). In vitro meat production: Challenges and benefits over conventional meat production. *Journal of Integrative Agriculture*, 14, 241–248.
- Bjare, U. (1992). Serum-free cell culture. *Pharmacology & Therapeutics*, 53, 355–374.
- Brunner, D., Frank, J., Appl, H., Schöffl, H., Pfaller, W., & Gstraunthaler, G. (2010). Serum-free cell culture: The serum-free media interactive online database. *ALTEX*, 27, 53–62.
- Bryant, C.J., 2020. Culture, meat, and cultured meat. *J. Anim. Sci.* (8) 98. doi:10.1093/jas/skaa172.
- Bryant, C.; van Nek, L.; Rolland, N. 2020. European markets for cultured meat: A comparison of Germany and France. *Foods*, 9, 1152. [CrossRef]

- Boularaoui, S.M., Abdel-Raouf, K.M.A., Alwahab, N.S.A., Kondash, M.E., Truskey, G.A., Teo, J.C.M., Christoforou, N, 2018. Efficient transdifferentiation of human dermal fibroblasts into skeletal muscle. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 12 (2), E918–E936. doi:10.1002/term.2568.
- Chriki, S., Hocquette, J.-F., 2020. The myth of cultured meat: a review. *Front. Nutr.* 7 (7). doi:10.3389/fnut.2020.00007.
- Choudhury, D.; Tseng, T.W.; Swartz, E. 2020. The business of cultured meat. *Trends Biotechnol.* 38, 573–577. [CrossRef] [PubMed]. doi:10.1016/j.tibtech.2020.02.012
- Chuang, L. T., Chen, D. C., Nicaud, J. M., Madzak, C., Chen, Y. H., & Huang, Y. S. (2010). Co-expression of heterologous desaturase genes in *Yarrowia lipolytica*. *New Biotech*, 27, 277–282.
- Cravero, D., Martignani, E., Miretti, S., Accornero, P., Pauciullo, A., Sharma, R., et al. (2015). Generation of induced pluripotent stem cells from bovine epithelial cells and partial redirection toward a mammary phenotype in vitro. *Cellular Reprogramming*, 17, 211–220.
- Datar, I., & Betti, M. (2010). Possibilities for an in vitro meat production system. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11, 13–22.
- Delafosse, A., Loubière, C., Calvo, S., Toye, D., & Olmos, E. (2018). Solid-liquid suspension of microcarriers in stirred tank bioreactor-Experimental and numerical analysis. *Chemical Engineering Science*, 180, 52–63.
- Díaz-Flores, L., Madrid, J.F., Gutiérrez, R., Varela, H., Alvarez-Argüelles, H., 2006. Adult stem and transit-amplifying cell location. *Histol. Histopathol.* 21 (9), 995–1027. doi:10.14670/HH-21.995.

- Dixon, L.K., Stahl, K., Jori, F., Vial, L., Pfeiffer, D.U., 2020. African swine fever epidemiology and control. *Ann. Rev. Anim. Biosci.* 8, 221–246. doi:10.1146/annurev-animal-021419-083741FAO. 2006. Livestock's long shadow—Environmental issues and options. Retrieved from <http://www.fao.org/3/a0701e/a0701e.pdf>
- Ding, S., Wang, F., Liu, Yan, Li, S., Zhou, G., Hu, P., 2017. Characterization and isolation of highly purified porcine satellite cells. *Cell Death Discov.* 3, 17003. doi:10.1038/cddiscovery.2017.3.
- Djisaov, M.; Knežić, T.; Podunavac, I.; Živojević, K.; Radonic, V.; Knežević, N.Ž.; Bobrinetskiy, I.; Gadjanski, I.2021. Cultivating Multidisciplinary: Manufacturing and Sensing Challenges in Cultured Meat Production. *Biology*, 10, 204. [CrossRef] [PubMed]
- Edelman, P. D., McFarland, D. C., Mironov, V. A., & Matheny, J. G. (2005). Commentary: In vitro-cultured meat production. *Tissue Engineering*, 11, 659–662.
- EFSA. 2018. Novel food. Retrieved from <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/novel-food>.
- Fang, C.-Y., Wu, C.-C., Fang, C.-L., Chen, W.-Y., Chen, C.-L., 2017. Long-term growth comparison studies
- Fao (2006). Livestock's long shadow-Environmental issues and options. FAO publications.
- Flickinger, M. C., Hu, W., Zhou, T.-C., Zhou, W.-W., & Zhong, J.-J. (2010). Bioreactors, cell culture, commercial production.
- Fusaro, D. 2021. Future meat technologies reduces cultured chicken breast cost to \$7.50. Retrieved from <https://www.foodprocessing.com/industrynews/2021/future-meat-chicken-7-50/>.

- Fish, K., Rubio, N., Stout, A., Yuen, J., Kaplan, D., 2020. Prospects and challenges for cell-cultured fat as a novel food ingredient. *Trends Food Sci. Technol.* 98. doi:10.1016/j.tifs.2020.02.005
- Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc. Francoise S.M., Brendan P.P., Gabor F., & Andras F. (2017). Edible and animal-product free microcarriers for engineered meat. In (Vol. 9 , 752 , 12). US Patent.
- Geraghty, R. J., Capes-Davis, A., Davis, J. M., Downward, J., Freshney, R. I., Knezevic, I., et al. (2014). Guidelines for the use of cell lines in biomedical research. *British Journal of Cancer*, 111, 1021–1046.
- Gerber, P. J., Steinfeld, H., Henderson, B., Mottet, A., Opio, C., Dijkman, J., et al. (2013). Tackling climate change through livestock: A global assessment of emissions and mitigation opportunities. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).
- Genovese, N.J., Domeier, T.L., Telugu, B.P.V.L., Roberts, R.M., 2017. Enhanced development of skeletal myotubes from porcine induced pluripotent stem cells. *Sci. Rep.* 7, 41833. doi:10.1038/srep41833.
- Genzel, Y.; Ritter, J.B.; König, S.; Alt, R.; Reichl, U. Substitution of glutamine by pyruvate to reduce ammonia formation and growth inhibition of mammalian cells.
- GFI. (2020). 2019 State of the Industry Report Cultivated Meat. Retrieved from <https://gfi.org/resource/cultivated-meat-eggs-and-dairy-state-of-the-industry-report/>.
- GFI. 2021. Alternative protein manufacturers and brands. Retrieved from <https://gfi.org/resource/alternative-protein-company-database/>

- Godoi, F. C., Prakash, S., & Bhandari, B. R. (2016). 3D printing technologies applied for food design: Status and prospects. *Journal of Food Engineering*, 179, 44–54.
- Guan, X., Lei, Q., Yan, Q., Li, X., Zhou, J., Du, G., & Chen, J. (2021). Trends and ideas in technology, regulation and public acceptance of cultured meat. *Future Foods*, 3, 100032.
- Gstraunthaler, G., Lindl, T., Valk, J.v., 2013. A plea to reduce or replace fetal bovine serum in cell culture media. *Cytotechnology* 65 (5), 791–793. doi:10.1007/s10616-013-9633-8
- Gholobova, D.; Decroix, L.; Van Muylder, V.; Desender, L.; Gerard, M.; Carpentier, G. 2015. Endothelial network formation within human tissue-engineered skeletal muscle. *Tissue Eng. A*, 21, 2548–2558. [CrossRef]
- Gunther, D., Heymel, B., Gunther, J. F., & Ederer, I. (2014). Continuous 3D-printing for additive manufacturing. *Rapid Prototyping Journal*, 20, 320–327.
- Hocquette, J. F., Gondret, F., Baéza, E., Médale, F., Jurie, C., & Pethick, D. W. (2010). Intramuscular fat content in meat-producing animals: Development, genetic and nutritional control, and identification of putative markers. *Animal*, 4, 303–319.
- Hopkins, P.D. Cultured meat in western media: The disproportionate coverage of vegetarian reactions, demographic realities, and implications for cultured meat marketing. *J. Integr. Agric.* 2015, 1, 264–272. [CrossRef]
- Herrero, M., Gerber, P., Vellinga, T., Garnett, T., Leip, A., Opio, C., McAllister, T.A., 2011. Livestock and greenhouse gas emissions: the importance of getting the numbers right. *Anim. Feed Sci. Technol.* 166-67, 779–782. doi:10.1016/j.anifeedsci.2011.04.083.

- Hoekstra, A.Y., Mekonnen, M.M., 2012. The water footprint of humanity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 109 (9), 3232–3237. doi:10.1073/pnas.1109936109.
- Hocquette, A.; Lambert, C.; Siquin, C.; Peterolff, L.; Wagner, Z.; Bonny, S.P.; Lebert, A.; Hocquette, J.F. 2015. Educated consumers don't believe artificial meat is the solution to the problems with the meat industry. *J. Integr. Agric.* 1, 273–284. [CrossRef]
- Hopkins, P.D. 2015. Cultured meat in western media: The disproportionate coverage of vegetarian reactions, demographic realities, and implications for cultured meat marketing. *J. Integr. Agric.* 1, 264–272. [CrossRef]
- Huff, L.E.; Zhang, W.; Lonergan, S.M. Biochemistry of postmortem muscle—Lessons on mechanisms of meat tenderization. *MeatSci.* **2010**, 86, 184–195. [CrossRef]
- Jiang, G., Ameer, K., Kim, H., Lee, E.-J., Ramachandraiah, K., Hong, G.-P., 2020. Strategies for sustainable substitution of livestock meat. *Foods* 9 (9), 1227. doi:10.3390/foods9091227.
- Kang, H.W., Lee, S.J., Ko, I.K., Kengla, C., Yoo, J.J., Atala, A., 2016. A 3D bioprinting system to produce human-scale tissue constructs with structural integrity. *Nat. Biotechnol.* 34 (3), 312–319. doi:10.1038/nbt.3413.
- Kadim, I.T.; Mahgoub, O.; Baqir, S.; Faye, B.; Purchas, R. Cultured meat from muscle stem cells: A review of challenges and prospects. *J. Integr. Agric.* 2015, 14, 222–233. [CrossRef]
- Lee, H.J., Yong, H.I., Kim, M., Choi, Y.-S., Jo, C., 2020. Status of meat alternatives and their potential role in the future meat market - A review. *Asian-australas. J. Anim. Sci.* 33 (10), 1533–1543. doi:10.5713/ajas.20.0419.

- Kolkmann, A.M., Post, M.J., Rutjens, M.A.M., Essen, A.L.M.v., Moutsatsou, P, 2020. Serum-free media for the growth of primary bovine myoblasts. *Cytotechnology* 72, 111–120. doi:10.1007/s10616-019-00361-y.
- Layer, G., Reichelt, J., Jahn, D., & Heinz, D. W. (2010). Structure and function of enzymes in heme biosynthesis. *Protein Science*, 19, 1137–1161.
- Lazar, Z., Liu, N., & Stephanopoulos, G. (2018). Holistic approaches in lipid production by *Yarrowia lipolytica*. *Trends in Biotechnology*, 36, 1157–1170.
- Langelaan, M.L.P.; Boonen, K.J.M.; Polak, R.B.; Frank, P.T.; Post, M.J.; Schaft, D.W.J. 2010. Meet the new meat: Tissue engineered skeletal muscle. *Trends Food Sci. Technol.* 21, 59–66. [CrossRef]
- Lamarche, É., AlSudais, H., Rajgara, R., Fu, D., Omaiche, S., Wiper-Bergeron, N., 2021. SMAD2 Promotes Myogenin Expression and Terminal Myogenic Differentiation. *Development* 148 (3), dev.195495. doi:10.1242/dev.195495.
- Laestadius, L., Caldwell, M., 2015. Is the future of meat palatable? Perceptions of *in vitro* meat as evidenced by online news comments. *Public Health Nutr.* 1–11. doi:10.1017/S1368980015000622
- Leong, D. S., Tan, J. G., Chin, C. L., Mak, S. Y., Ho, Y. S., & Ng, S. K. (2017). Evaluation and use of disaccharides as energy source in protein-free mammalian cell cultures. *Scientific Reports*, 7 45216.
- Liu, W.Y., 2019. A review on the genetic regulation of myogenesis and muscle development. *Am. J. Biochem. Biotechnol.* 15, 1–12. doi:10.3844/ajbbbsp.2019.1.12.

- Listek, V. 2020. The Cultured Meat Revolution: singapore and Israel One Step Closer to Commercializing Lab Grown Chicken. Retrieved from <https://3dprint.com/276467/the-cultured-meat-revolution-singapore-and-israel-onestep-closer-to-commercializing-lab-grown-chicken/>.
- Lívia Garcez de Oliveira Padilha, Lenka Malek*, Wendy J. Umberger. 2021. Consumers' attitudes towards lab-grown meat, conventionally raised meat and plant-based protein alternatives .
<https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2022.104573>
- Lotfy, S. N., Fadel, H. H., El-Ghorab, A. H., & Shaheen, M. S. (2015). Stability of encapsulated beef-like flavourings prepared from enzymatically hydrolysed mushroom proteins with other precursors under conventional and microwave heating. *Food Chemistry*, 187, 7–13.
- Lobo-Alfonso, J., Price, P., Jayme, D., 2008. Benefits and Limitations of Protein Hydrolysates as Components of Serum-Free Media for Animal Cell Culture Applications. In: Pasupuleti, V., Demain, A. (Eds.), *Protein Hydrolysates in Biotechnology*. Springer, Dordrecht doi:10.1007/978-1-4020-6674-0_4.
- Lueders, C., Jastram, B., Hetzer, R., & Schwandt, H. (2014). Rapid manufacturing techniques for the tissue engineering of human heart valves. *European Journal of CardioThoracic Surgery*, 46, 593–601.
- Lucas, A. 2020. Singapore issues first regulatory approval for lab-grown meat to Eat Just. Retrieved from <https://www.cnbc.com/2020/12/01/singapore-issuesfirst-regulatory-approval-for-lab-grown-meat-to-eat-just.html>.
- Masters, J. R., & Stacey, G. N. (2007). Changing medium and passaging cell lines. *Nature Protocols*, 2, 2276–2284.

- Mattick, C. S., Landis, A. E., Allenby, B. R., & Genovese, N. J. (2015). Anticipatory life cycle analysis of in vitro biomass cultivation for cultured meat production in the United States. *Environmental Science & Technology*, 49, 11941–11949.
- Mendonça da Silva, J.; Erro, E.; Awan, M.; Chalmers, S.A.; Fuller, B.; Selden, C. 2020. Small-Scale Fluidized Bed Bioreactor for Long-Term Dynamic Culture of 3D Cell Constructs and in vitro Testing. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 8, 895. [CrossRef]
- Mizukami, A., Swiech, K., 2018. Mesenchymal stromal cells: from discovery to manufacturing and commercialization. *Stem Cells Int.* 2018, 4083921. doi:10.1155/2018/4083921.
- Mohorcich, J., Reese, J., 2019. Cell-cultured meat: lessons from GMO adoption and resistance. *Appetite* 143, 9. doi:10.1016/j.appet.2019.104408
- Neunstoecklin, B., Stettler, M., Solacroup, T., Broly, H., Morbidelli, M., & Soos, M. (2015). Determination of the maximum operating range of hydrodynamic stress in mammalian cell culture. *Journal of Biotechnology*, 194, 100–109.
- Neunstoecklin, B., Villiger, T. K., Lucas, E., Stettler, M., Broly, H., Morbidelli, M., et al. (2016). Pilot-scale verification of maximum tolerable hydrodynamic stress for mammalian cell culture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100, 3489–3498.
- Nienow, A. W. (2006). Reactor engineering in large scale Animal cell culture. *Cytotechnology*, 50, 9.
- Nienow, A. W., Rafiq, Q. A., Coopman, K., & Hewitt, C. J. (2014). A potentially scalable method for the harvesting of hMSCs from microcarriers. *Biochemical Engineering Journal*, 85, 79–88.

- Normile, D., 2008. Driven to extinction. *Science* 319, 1606–1609
- Oki, Y., Watanabe, S., Endo, T., Kano, K., 2008. Mature adipocyte-derived dedifferentiated fat cells can transdifferentiate into skeletal myocytes in vitro. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 377 (3), 780–785. doi:10.1247/csf.08038.
- O'Riordan, K., Fotopoulou, A., & Stephens, N. (2017). The first bite: Imaginaries, promotional publics and the laboratory grown burger. *Public Understanding of Science*, 26, 148–163.
- Oosterhuis, N. (2018). Bioreactor design for cultured meat, where to go? Paper presented at the 4th international conference on cultured meat Maastricht, Netherlands.
- Pasupuleti, V, Demain, A, 2010. Protein Hydrolysates in Biotechnology[M]. Springer.
- Pasupuleti, V, Demain, A, 2010. Protein Hydrolysates in Biotechnology[M]. Springer
- Parker, J.K. Meat. In *Springer Handbook of Odor*; Buettner, A., Ed.; Springer International Publishing: Cham, Switzerland, 2017;pp. 191–221.
- Park, S.-Y., Yun, Y., Lim, J.-S., Kim, M.-J., Kim, S.-Y., Kim, J.-E., Kim, I.-S., 2016. Stabilin-2 modulates the efficiency of myoblast fusion during myogenic differentiation and muscle regeneration. *Nat. Commun.* 7, 10871. doi:10.1038/ncomms10871
- Park, Y. H., Gong, S. P., Kim, H. Y., Kim, G. A., Choi, J. H., Ahn, J. Y., et al. (2013). Development of a serum-free defined system employing growth factors for preantral follicle culture. *Molecular Reproduction and Development*, 80, 725–733.

- Perez, I. M. N., Badaro, A. T., Barbon, S., Barbon, A. P. A. C., Pollonio, M. A. R., & Barbin, D. F. (2018). Classification of chicken parts using a portable near-infrared (NIR) spectrophotometer and machine learning. *Applied Spectroscopy*, 72, 1774–1780.
- Poli, J. S., da Silva, M. A. N., Siqueira, E. P., Pasa, V. M. D., Rosa, C. A., & Valente, P. (2014). Microbial lipid produced by *Yarrowia lipolytica* QU21 using industrial waste: A potential feedstock for biodiesel production. *Bioresource Technology*, 161, 320–326.
- Post, M. (2012). Cultured meat from stem cells: Challenges and prospects. *Meat Science*, 92, 297–301. Post, M. (2014). Cultured beef: Medical technology to produce food. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94, 1039–1041.
- Post, M. J., Levenberg, S., Kaplan, D. L., Genovese, N., Fu, J., Bryant, C. J., . . . Moutsatsou, P. (2020). Scientific, sustainability and regulatory challenges of cultured meat. *Nature Food*, 1(7), 403-415.
- Post, M.J. Cultured beef: Medical technology to produce food. *J. Sci. Food Agric.* 2014, 94, 1039–1041. [CrossRef] [PubMed]
- Pranawidjaja, S., Choi, S. I., Lay, B. W., & Kim, P. (2015). Analysis of heme biosynthetic pathways in a recombinant *Escherichia coli*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25, 880–886.
- Ramboer, E., De Craene, B., De Kock, J., Vanhaecke, T., Berx, G., Rogiers, V., et al. (2014). Strategies for immortalization of primary hepatocytes. *Journal of Hepatology*, 61, 925–943.
- Rimann, M., Bono, E., Annaheim, H., Bleisch, M., & Graf-Hausner, U. (2016). Standardized 3D bioprinting of soft tissue models with human primary cells. *Journal of Laboratory Automation*, 21, 496–509.

- Rolland, N.C.M., Markus, C.R., Post, M.J, 2020. The effect of information content on acceptance of cultured meat in a tasting context. *PLoS One* 15 (10), e0240630. doi:10.1371/journal.pone.0240630.
- Sakata, R., & Honokel, K. O. (2001). Investigation the physical and chemical properties of the red pigment of meat products. *Fleischwirtschaft*, 81, 182–190.
- Salvador, P., Toldra, M., Pares, D., Carretero, C., & Saguer, E. (2009). Color stabilization of porcine hemoglobin during spray-drying and powder storage by combining chelating and reducing agents. *Meat Science*, 83, 328–333.
- Saratti, C. M., Rocca, G. T., & Krejci, I. (2019). The potential of three-dimensional printing technologies to unlock the development of new 'bio-inspired' dental materials: An overview and research roadmap. *Journal of Prosthodontic Research*, 63, 131–139.
- Schonfeldt, H. C., Naude, R. T., & Boshoff, E. (2010). Effect of age and cut on the nutritional content of South African beef. *Meat Science*, 86, 674–683.
- Seman, D. L., Quickert, S. C., Borger, A. C., & Meyer, J. D. (2008). Inhibition of *Listeria monocytogenes* growth in cured ready-to-eat meat products by use of sodium benzoate and sodium diacetate. *Journal of Food Protection*, 71, 1386–1392.
- Shay, J. W., & Wright, W. E. (2000). Hayflick, his limit, and cellular ageing. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 1, 72–76.
- Sieblist, C., Jenzsch, M., & Pohlscheidt, M. (2013). Influence of pluronic F68 on oxygen mass transfer. *Biotechnology Progress*, 29, 1278–1288.

- Sieck, J. B., Cordes, T., Budach, W. E., Rhiel, M. H., Suemeghy, Z., Leist, C., et al. (2013). Development of a Scale-Down Model of hydrodynamic stress to study the performance of an industrial CHO cell line under simulated production scale bioreactor onditions. *Journal of Biotechnology*, 164, 41–49.
- Siu, E. 2019. World's first cultivated fish maw shows the importance of global markets. Retrieved from <https://www.gfi-apac.org/blog/worlds-first-cultivated-fishmaw-shows-the-importance-of-global-markets/>.
- Siegrist, M., Sütterlin, B., Hartmann, C., 2018. Perceived naturalness and evoked disgust influence acceptance of cultured meat. *Meat Sci.* 139, 213–219. doi:10.1016/j.meatsci.2018.02.007.
- Southey, F. 2020. 'Ethical foie-gras': cultured meat start-up taps duck egg cells to recreate French delicacy. Retrieved from <https://www.foodnavigator.com/Article/2020/05/14/Ethical-foie-gras-Cultured-meat-start-up-taps-duck-egg-cells-torecreate-French-delicacy>.
- Specht, L. (2020). An analysis of culture medium costs and production volumes for culti- vated meat. Retrieved from.
- Specht, L. *An Analysis of Culture Medium Costs and Production Volumes for Cultivated Meat*; The Good Food Institute: Washington, DC, USA, 2020.
- Stephens, N., Di Silvio, L., Dunsford, I., Ellis, M., Glencross, A., Sexton, A., 2018. Bringing cultured meat to market: technical, socio-political, and regulatory challenges in cellular agriculture. *Trends Food Sci. Technol.* 78, 155–166. doi:10.1016/j.tifs.2018.04.010.

- Stern-Straeter, J., Bonaterra, G. A., Juritz, S., Birk, R., Goessler, U. R., Bieback, K., et al. (2014). Evaluation of the effects of different culture media on the myogenic differentiation potential of adipose tissue- or bone marrow-derived human mesenchymal stem cells. *International Journal of Molecular Medicine*, 33, 160–170.
- Taylor, R.A., Condoleo, R., Simons, R.R.L., Gale, P., Kelly, L.A., Snary, E.L, 2019. The risk of infection by African swine fever virus in European swine through boar movement and legal trade of pigs and pig meat. *Front. Vet. Sci.* 6, 486. doi:10.3389/fvets.2019.00486.
- Takagi, M., Ohara, K., & Yoshida, T. (1995). Effect of hydrostatic pressure on hybridoma cell metabolism. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 80, 619–621.
- Takahashi, M., Makino, S., Kikkawa, T., & Osumi, N. (2014). Preparation of rat serum suitable for mammalian whole embryo culture. *Journal of Visualized Experiments*, 90, e51969.
- Tan, K. Y., Teo, K. L., Lim, J. F., Chen, A. K., Choolani, M., Reuveny, S., et al. (2015). Serum-free media formulations are cell line-specific and require optimization for microcarrier culture. *Cytotherapy*, 17, 1152–1165.
- Tiberius, V., Borning, J., & Seeler, S. (2019). Setting the table for meat consumers: An international delphi study on in vitro meat. *NPJ Sci Food*,
- Tomiyama, A.J.; Kawecki, N.S.; Rosenfeld, D.L.; Jay, J.A.; Rajagopal, D.; Rowat, A.C. 2020. Bridging the gap between the science of cultured meat and public perceptions. *Trends Food Sci. Technol*, 104, 144–152. [CrossRef]
- Tuomisto, H. L. (2019). The eco-friendly burger: Could cultured meat improve the environmental sustainability of meat products? *EMBO Reports*, 20, e47395.

- Tuomisto, H. L., & Teixeira de Mattos, M. J. (2011). Environmental impacts of cultured meat production. *Environmental Science & Technology*, 45, 6117–6123.
- UNPD. 2019. World Population Prospects 2019: highlights. Retrieved from <https://www.un.org/development/desa/publications/world-population-prospects2019-highlights.html>.
- Upshall, E. 2021. Producer of lab-grown kangaroo meat Vow raises \$6 m in seed funding. Retrieved from https://www.foodbev.com/news/producer-of-cellbased-kangaroo-vow-raises-6m-in-seed-funding/?_cf_chl_jschl_tk_=977cf126dc0fe00cf044333a49a8a0edadff3f66-1613448050-0-AaoAyIH5kQmASDJG1XZNtCWkRf212XGecHepgnCzX_1muRSNs44dh46F1RmTMk8OMKdd47kL-hSTu_5bpc-ll0AmfS6WvEbED5m9lcHK5y_3i1w67GMQHYxE0_EyOT4Yq7-_NZArbcRMjafXYMmZTddxapg2fRMUu4Zx7r-7wKqojhb5OSbcz53byi5UgHBOsaL1rKBr_N72kOowtFCJQ3uFJVMj3wCCUIzVhlPhRZ9dOXU108rK8NgRuQdC55pg0dcjSbc2j1DSjkz1raNaG6BRs1ZD2UYH3JPkmT2-4RSGb7PKwQlznh0Rt3Eu4L0q3BXDF0KouhDemyjW_w8qRUvKkKeKmAwX4KJtAQeFyuikgPiPdgdJm26bYajxIrm9Eu88TnTOaqFjgnpKWQ
- Van Wezel, A. L. (1967). Growth of cell-strains and primary cells on micro-carriers in homogeneous culture. *Nature*, 216, 64–65.
- Verbruggen, S., Luining, D., van Essen, A., & Post, M. J. (2018). Bovine myoblast cell production in a microcarriers-based system. *Cytotechnology*, 70, 503–512.

- Villiger, T. K., Neunstoecklin, B., Karst, D. J., Lucas, E., Stettler, M., Broly, H., et al. (2018). Experimental and CFD physical characterization of animal cell bioreactors: From micro- to production scale. *Biochemical Engineering Journal*, 131, 84–94.
- W. I. P. Organization. Verbeke, W., Marcu, A., Rutsaert, P., Gaspar, R., Seibt, B., Fletcher, D., et al. (2015). Would you eat cultured meat?': Consumers' reactions and attitude formation in Belgium, Portugal and the United Kingdom. *Meat Science*, 102, 49–58.
- Wang, W., & Cha, Y. J. (2018). Volatile compounds in seasoning sauce produced from soy sauce residue by reaction flavor technology. *Preventive Nutrition and Food Science*, 23, 356–363.
- Wang, T., Zhou, J., Zhao, X., Zhang, G., LI, X., Du, G., Sun, X., 2019. Research progress on lab-grown meat risk prevention and safety management norms. *Food Forment. Ind.* 45 (11), 254–258.
- Warner, R. D. (2019). Review: Analysis of the process and drivers for cellular meat production. *Animal*, 13, 3041–3058.
- Webster, R. (2002). The importance of animal influenza for human disease. *Vaccine*, 20, S16–S20.
- Webber, J. 2019. Lab-Grown Foie Gras Will Be in Restaurants By 2021. Retrieved from <https://www.livekindly.co/lab-grown-foie-gras-restaurants/>.
- Wessman, S.J., Levings, R.L., 1999. Benefits and risks due to animal serum used in cell culture production. *Dev. Biol. Stand.* 99, 3–8.
- Wilks, M.; Phillips, C.J. 2017. Attitudes to in vitro meat: A survey of potential consumers in the 665 United States. *PLoS ONE*. 12, e0171904. [CrossRef]

- Williams, L.A., Davis-Dusenbery, B.N., Eggan, K.C., 2012. SnapShot: directed differentiation of pluripotent stem cells. *Cell* 149 (5), 1174. doi:10.1016/j.cell.2012.05.015, e1171.
- Wolfson, W. (2002). Raising the steaks. *New Sci*, 176, 60–63.
- Wu, S. M., & Hochedlinger, K. (2011). Harnessing the potential of induced pluripotent stem cells for regenerative medicine. *Nature Cell Biology*, 13, 497–505.
- Yang, C., Song, H. L., Chen, F., & Zou, T. T. (2011). Response surface methodology for meat-like odorants from the maillard reaction with glutathione II: The tendencies analysis of meat-like donors. *Journal of Food Science*, 76, C1267–C1277.
- Yook, S. D., Kim, J., Woo, H. M., Um, Y., & Lee, S. M. (2019). Efficient lipid extraction from the oleaginous yeast *Yarrowia lipolytica* using switchable solvents. *Renewable Energy*, 132, 61–67.
- Zhang, Y., Stobbe, P., Silvander, C., & Chotteau, V. (2015). Very high cell density perfusion of CHO cells anchored in a non-woven matrix-based bioreactor. *Journal of Biotechnology*, 213, 28–41.
- Zhang, X., Tan, J., Xu, X., Shi, F., Li, G., & Yang, Y. (2017). A coordination polymer based magnetic adsorbent material for hemoglobin isolation from human whole blood, highly selective and recoverable. *Journal of Solid State Chemistry*, 253, 219–226.
- Zhang, G., Zhao, X., Li, X., Du, G., Zhou, J., Chen, J., 2020. Challenges and possibilities for bio-manufacturing cultured meat. *Trends Food Sci. Technol.* 97, 443–450. doi:10.1016/j.tifs.2020.01.026
- Zhao, X., Zhang, G., Li, X., Sun, X., Zhou, J., Du, G., Chen, J., 2019. Commercial production of artificial meat. *Food Ferment. Ind.* (11) 248–253

- Zhao, X. R., Choi, K., & Lee, S. Y. (2018). Metabolic engineering of *Escherichia coli* for secretory production of free haem. *Nature Catalysis*, 1, 720–728.
- Zhao, L., Wang, Z., Zhang, J., Yang, J., Gao, X., Wu, B., et al. (2017). Characterization of the single-cell derived bovine induced pluripotent stem cells. *Tissue and Cell*, 49, 521–527.
- Zou, Y., Zhang, K., Zhang, X., Li, P., Zhang, M., Liu, F., et al. (2018). Optimization of goose breast meat tenderness by rapid ultrasound treatment using response surface methodology and artificial neural network. *Animal Science Journal*, 89, 1339–1347.

BIODATA PENULIS



Dr. Andi Faridah Arsal, S. Si., M. Si.

Dosen Program Studi Pendidikan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Makassar

Lahir di Makassar pada tanggal 18 Juli 1970 adalah dosen di Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Makassar. Mulai menempuh Pendidikan pada usia 7 tahun di SD Negeri kompleks Butung, Makassar. Melanjutkan sekolah lanjutan di SMP Negeri 5 Makassar dan SMA Negeri 4 Makassar. Gelar sarjana Strata 1 diperoleh dari Jurusan Biologi FMIPA Universitas Hasanuddin. Gelar Sarjana Strata 2 diperoleh dari Jurusan Genetika molekular Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada. Tahun 2019 menyelesaikan Pendidikan S3 di Program Studi Pendidikan Kependudukan dan Lingkungan Hidup, Universitas Negeri Makassar.

Bekerja sebagai tenaga edukatif di Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Makassar sejak tahun 2005. Mengajar mata kuliah Bioteknologi selama 8 tahun. Mengajar mata kuliah Genetika, Genetika Molekular, dan Pendidikan Lingkungan Hidup hingga saat ini.

Karya yang pernah dihasilkan antara lain; Identifikasi Sumber Belajar pada Pembelajaran Berbasis Lingkungan di Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Makassar, 2017. *Sainsmat : Jurnal Ilmiah Ilmu Pengetahuan Alam* Vol 6, No 2 (2017): September.

Pendidikan Lingkungan pada Mata Kuliah Pendukung: Pemanfaatan Kebun Percobaan di Jurusan Biologi, 2018. *UNM Environmental Journals* Vol 2, No 1 (2018): Desember.

Memperoleh HAKI dengan nomor EC00202106250 pada tanggal 14 Januari 2021 dengan Jenis ciptaan karya tulis Pembuatan Tempat Sampah Multi Fungsi dalam Pengelolaan Sampah Rumah Tangga.

Menjadi Editor di buku motivasi ;1). *Law of Attraction, Rahasia Mewujudkan Kehidupan Terbaik* di bidang Pribadi, Keluarga, Profesional, Sosial dan Spiritual, 2010. Penerbit AAI, Makassar.2). *Living with Miracles, Gunakan 9 Keajaiban Diri Anda untuk Hidup Bahagia & Sukses Luar Biasa*, 2013. Penerbit PT. Elex Media Komputindo, Jakarta.

Menulis Buku Ajar dan buku referensi; 1). *Genetika I* Arif Memahami Kehidupan, 2018 Penerbit UNM. 2). *Model Pembelajaran Berbasis Lingkungan*, 2018. Penerbit Agma. 3). *Perangkat Pembelajaran Berbasis Lingkungan*, 2018. Penerbit Agma. 4). *Pemanfaatan Elektronik untuk Pembelajaran Aktif berbasis Keterampilan Proses Sains*.

Motto: “ Setiap orang memiliki potensi tanpa batas, sehingga belajar apapun pasti akan bisa” serta “Terus belajar, terus berkembang”

BIODATA PENULIS



Ahmad Zil Fauzi
amat victoria curam

Lahir di Makassar tanggal 29 Oktober 1985. Meraih gelar Magister Kesehatan dari Sekolah Pasca Sarjana Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada tahun 2017. Selain menyukai karya karya Pramudya Ananta Toer, dan sempat bertindak selaku produser film dokumenter pada Rumah IDE Production House di Makassar, penulis juga menikmati kegiatan kepenicintaalaman (gunung dan laut dalam). Sejak tahun 2018-sekarang, penulis menjadi dosen tetap di Politeknik Kesehatan Kementerian Kendari.

BIODATA PENULIS



Angga Aditya Permana
Newcomer Writer

Angga Aditya Permana (lahir pada Desember 1989 di Jakarta) seorang dosen full time di bidang Computer Science, fokus penelitian pada kriptografi, steganografi serta keamanan computer, namun pada tahun 2021 sedang mendalami topik bioinformatika dan network science. Angga juga memiliki hobi yaitu touring menggunakan motor dan juga bermain bulutangkis, saat ini sedang menjadi mahasiswa program doctoral pada IPB University. Memulai karir pertama kali sebagai Network Enginner tahun 2011 dan memulai profesinya sebagai dosen pada 2013 di kampus swasta yang ada di Jakarta, pernah juga mengajar di kampus negeri yang berada di Jakarta dan Tangerang, juga pernah di undang menjadi dosen tamu untuk mengenalkan bioinformatika di kampus negeri di Jakarta. Terimakasih..

BIODATA PENULIS



M. Noris, S. Pd., M.Pd.

Mahasiswa Doktor Pendidikan IPA
Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan
Universitas Sebelas Maret

Penulis lahir di Bima tanggal 05 Desember 1996. Penulis sedang menempuh Program Doktoral Pendidikan Ilmu Pengetahuan Alam, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Sebelas Maret, Surakarta, Indonesia. Menyelesaikan pendidikan S1 pada Jurusan Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Surakarta, dan melanjutkan S2 pada Jurusan Magister Pendidikan Sains, Universitas Sebelas Maret.

Penulis merupakan Anak Ke Enam dari 7 bersaudara dari (Alm. H. M. Said Umar dan Hj. Rohani). Penulis selain menggemari penulisan buku, juga telah berhasil mempublikasikan jurnal-jurnal nasional dan internasional serta menajdi Presenter di seminar nasioanl dan nternasional. .

Penulis juga aktif di organisasi kemahasiswaan RACANA UMS (2017), Ikatan Mahasiswa Muhammadiyah (2015), HMP Pendidikan Biologi (2015), Forum Mahasiswa Bima-Dompu Surakarta/ Formbid (2015), Forum Mahasiswa Pascasarjana-NTB Surakarta (Forms-NTB Surakarta). Selain aktif di

organisasi, penulis juga mendirikan Forum Anak Kecamatan Belo (FAKB) yang bergerak dalam menuntaskan dan menunaikan kewajiban-kewajiban anak untuk mendapatkan pendidikan yang layak.

Penulis juga merupakan bagian dari Anggota Forum Kolaborasi Dosen Indonesia (FKDI). Bagi penulis, menulis adalah sebuah kegemaran untuk menghantarkan keniscayaan dalam keilmuan.

BIODATA PENULIS



Risma Rasmani, S.Si., M.Si.

Dosen Program Studi Agroteknologi
Fakultas Pertanian Universitas Megou Pak Tulang Bawang

Penulis lahir di Palembang pada tanggal 28 Desember 1997. Penulis telah menyelesaikan S1 di Program Studi Biologi FMIPA Universitas Lampung Tahun 2019 dan S2 di Program Studi Magister Biologi FMIPA Universitas Lampung tahun 2021. Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian, Universitas Megou Pak Tulang Bawang sejak tahun 2021 hingga sekarang. Penulis aktif juga sebagai pengajar di SMP Budi Karya Natar serta kini sebagai Sekretaris LPPM UMPTB. Selain itu, Penulis aktif dalam Penulisan Karya Ilmiah. Karya tulis terakhir yang diterbitkan dalam bentuk Book Chapter yaitu Manajemen Sumber Daya Manusia (MSDM).

BIODATA PENULIS



Rosyid Ridlo Al-Hakim

Program Studi Primatologi, Sekolah Pascasarjana
IPB University

Penulis merupakan *research associate* di Research Management Center (RMC) Jakarta Global University (JGU) dan mahasiswa aktif di Program Studi Primatologi IPB University. Penulis menyelesaikan pendidikan sarjana di Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman dan STMIK Widya Utama konsentrasi kecerdasan buatan, pendidikan magister di Jakarta Global University dengan *major* bidang kecerdasan buatan dan saat ini juga merupakan mahasiswa pascasarjana di Program Studi Primatologi, Sekolah Pascasarjana, IPB University. Penulis secara aktif mempublikasikan karya ilmiah yang sudah diterbitkan di beberapa prosiding maupun jurnal nasional serta internasional bereputasi. Narahubung pada email rosyidridlo10@gmail.com.

BIODATA PENULIS**Rina Hidayati Pratiwi**

Dosen program studi Pendidikan Biologi
Universitas Indraprasta PGRI Jakarta

Penulis merupakan staf pengajar perguruan tinggi di Universitas Indraprasta PGRI, Jakarta, program studi Pendidikan Biologi (S1) dan Pendidikan MIPA (S2). Penulis juga sebagai dosen Luar Biasa di Universitas Terbuka serta trainer Mikrobiologi di perusahaan. Pendidikan S-1 diperoleh penulis dari Jurusan Biologi, Institut Pertanian Bogor (IPB) tahun 2003. Di Universitas yang sama, penulis juga menyelesaikan pendidikan masternya (S-2) pada Program Studi Bioteknologi melalui program beasiswa BPPS Dikti. Pendidikan S-3 diselesaikan di Jurusan Biologi, Universitas Indonesia (UI) tahun 2016 menggunakan beasiswa BPPDN Dikti. Keilmuan penulis ialah Mikrobiologi, Pendidikan Mikrobiologi, Microbial Prospecting dan Kemoprospecting. Dari skripsi hingga disertasi, riset yang penulis lakukan di bidang Mikrobiologi. Hingga saat ini pun, penulis juga aktif melakukan penelitian dalam berbagai bidang Mikrobiologi, Bioinformatika dan *drug discovery* dari hibah riset Kementerian, baik KemenristekDikti

maupun Kemendikbud-Ristek. Pencarian senyawa bioaktif, baik dari mikroorganisme fage maupun bakteri endofit hingga mendesign obat menjadi fokus dari bidang risetnya. Selain menulis buku, penulis juga aktif menulis di berbagai jurnal ilmiah internasional dan nasional. Saat ini penulis juga aktif sebagai editor dan reviewer di jurnal nasional maupun internasional serta reviewer penelitian Dikti. E-mail penulis: rina.hp2012@gmail.com. Researchgate penulis: <https://www.researchgate.net/search/publication?q=rina%20hidayati%20pratiwi>

BIODATA PENULIS



apt. Muh Taufiqurrahman, M.Farm

Dosen Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan (STIKES) Dirgahayu
Kota Samarinda

Penulis adalah putra ke dua dari tiga bersaudara dari pasangan Ibrahim, BA dan Asiah S.Pd. Lahir 22 Agustus 1993 di Bima, Provinsi Nusa Tenggara Barat, Indonesia. Penggiat literasi ini telah menamatkan pendidikan SDN 55 Kota Bima, MTS Negeri 1 Kota Bima, dan SMA Negeri 4 Kota Bima. Ia saat ini tinggal di Kota Samarinda, Provinsi Kalimantan Timur bersama istri. Setelah lulus Program Magister Farmasi Universitas Pancasila, terhitung Agustus 2022, ia diamanahkan menjadi Dosen di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan (STIKES) Dirgahayu, Kota Samarinda.

BIODATA PENULIS



Analekta Tiara Perdana

**Dosen Program Studi Biologi, Fakultas Sains, UIN Sultan
Maulana Hasanuddin Banten**

Penulis lahir di Jakarta tanggal 27 Maret 1991. Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi Biologi, Fakultas Sains, UIN Sultan Maulana Hasanuddin Banten. Menyelesaikan pendidikan S1 pada Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Al Azhar Indonesia dan S2 pada Program Studi Mikrobiologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB University. Penulis menekuni bidang mikrobiologi pangan.

BIODATA PENULIS



Junaedi, S.Pt., M.Si

Dosen program Study Peternakan
Fakultas Pertanian Perikanan Peternakan
Universitas Sembilanbelas November Kolaka

Penulis lahir di Jeneponto, 13 Juni 1989. Penulis adalah Dosen program Studi Peternakan Fakultas Pertanian Perikanan Peternakan, Universitas Sembilanbelas November Kolaka. Tahun 1996-2002 Penulis menempuh pendidikan Sekolah Dasar di SDI 121 Balangloe Balang. Tahun 2002-2005 Penulis menempuh pendidikan Sekolah Menengah pertama di SMP Negeri 1 Tamalatea. Tahun 2005-2008 Penulis menempuh pendidikan Sekolah Menengah Atas di SMA Negeri 1 Tamalatea. Tahun 2008-2012 Penulis menempuh pendidikan Program Sarjana, Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin. Tahun 2013-2015 Penulis menempuh pendidikan Magister, Program Studi Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, di Institut Pertanian Bogor. Tahun 2022 Penulis menempuh pendidikan Doktorat di Ilmu Ternak, Universitas Brawiyaya. Tahun 2011-2012 Penulis bekerja sebagai supervisor breeding di PT Satwa

Indo Perkasa, Tbk. Tahun 2012 penulis bekerja sebagai Supervisor hatchery di PT Japfa Comfeed, Tbk. Tahun 2015-2016 Penulis mengajar di Universitas Muhammadiyah Sinjai. Tahun 2016 sampai Sekarang Penulis sebagai Dosen Tetap PNS di Universitas Sembilanbelas November Kolaka. Aktivitas Penulis selain sebagai pengajar, juga aktif melakukan penelitian dan publikasi journal ilmiah