

Rekayasa dan Manipulasi Genetik

Suhardi, S.Pt.,MP.,Ph.D





Genetic Modification

- Istilah "rekayasa genetika" pertama kali diciptakan oleh Jack Williamson dalam novel fiksi ilmiahnya Dragon's Island, yang diterbitkan pada tahun 1951.
- Rekayasa genetik merupakan teknik untuk menghasilkan molekul DNA yang berisi gen baru yang diinginkan atau kombinasi gen-gen baru atau dapat dikatakan sebagai manipulasi organisme.
- **Rekayasa genetika**, juga disebut **modifikasi genetika**, adalah manipulasi langsung gen suatu organisme menggunakan bioteknologi.




BIOTEKNOLOGI KONVENSIONAL DAN MODERN

- Bioteknologi adalah bidang penerapan biosains dan teknologi yang menyangkut penerapan praktis organisme hidup atau komponen subselulernya pada industri jasa dan manufaktur serta pengelolaan lingkungan.
- Atau dapat pula di definisikan sebagai teknologi yang menggunakan sistem hayati (proses-proses biologi) untuk mendapatkan barang dan jasa yang berguna bagi kesejahteraan manusia.
- Bioteknologi memanfaatkan: bakteri, ragi, kapang, alga, sel tumbuhan atau sel hewan yang dibiakkan sebagai konstituen berbagai proses industri.

- Pada umumnya bioteknologi dibedakan menjadi bioteknologi tradisional dan modern.
- **Bioteknologi tradisional** adalah bioteknologi yang memanfaatkan mikrobia (organisme) untuk memodifikasi bahan dan lingkungan untuk memperoleh produk optimal. Misalnya pembuatan tempe, tape, roti, pengomposan sampah.
- Sedangkan **bioteknologi modern** dilakukan melalui pemanfaatan keterampilan manusia dalam melakukan manipulasi makhluk hidup agar dapat digunakan untuk menghasilkan produk sesuai yang diinginkan manusia. Misalnya melalui teknik rekayasa genetik.
- Bioteknologi modern berkembang pesat setelah genetika molekuler berkembang dengan baik. Dimulai dengan pemahaman tentang struktur DNA pada tahun 1960an dan hingga berkembangnya berbagai teknik molekuler telah menjadikan pemahaman tentang gen menjadi semakin baik

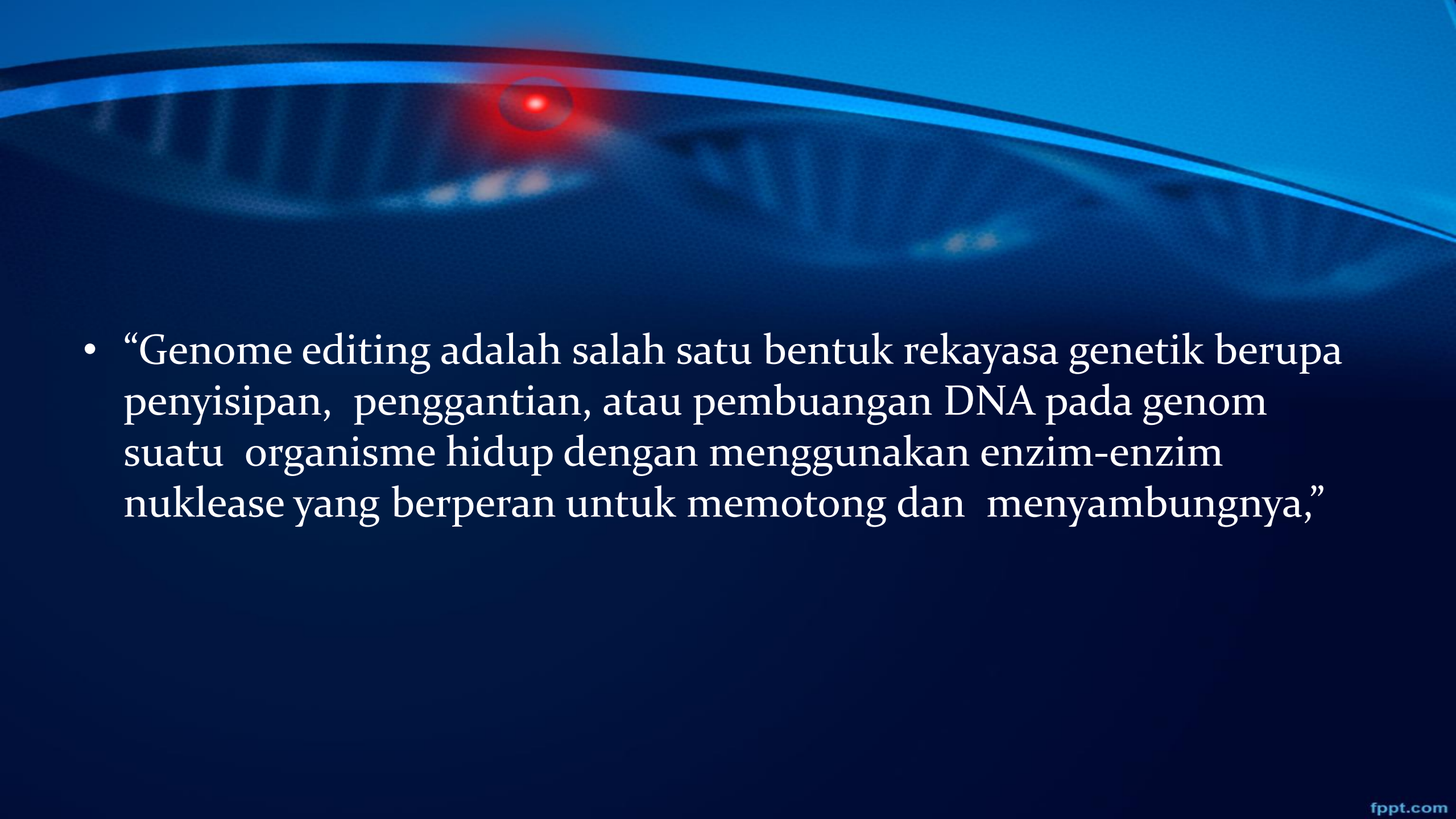
- Suatu organisme yang dihasilkan melalui rekayasa genetika dianggap dimodifikasi secara genetik dan entitas yang dihasilkan disebut genetically modified organism (GMO).
- Makanan yang dimodifikasi secara genetik telah dijual sejak tahun 1994, dengan munculnya tomat dari Flavr Savr. Flavr Savr direkayasa untuk memiliki umur simpan lebih lama, tapi tanaman transgenik saat ini dimodifikasi paling banyak untuk meningkatkan ketahanan terhadap serangga dan herbisida.
- Pada tahun 2016, sudah ada salmon yang telah dimodifikasi dengan hormon pertumbuhan.
- Rekayasa genetika telah banyak diaplikasikan dalam berbagai bidang, termasuk penelitian, obat-obatan, bioteknologi industry, pertanian dan peternakan.

- 
- Rekayasa genetika adalah suatu proses yang mengubah susunan genetik dari suatu organisme dengan menghapus atau memasukkan [DNA](#).
 - Tidak seperti pengembangbiakan [hewan](#) dan [pemuliaan tanaman](#) secara tradisional, yang melibatkan beberapa persilangan dan kemudian organisme terpilih dengan [fenotip](#) tertentu, rekayasa genetika mengambil [gen](#) secara langsung dari satu organisme dan memasukkan ke organisme lain.
 - Proses ini jauh lebih cepat, dapat digunakan untuk menyisipkan gen-gen dari organisme apapun (bahkan organisme dari berbagai [domain](#)) dan mencegah agar gen yang tidak diinginkan tidak ikut ditambahkan.

- Rekayasa genetika berpotensi memperbaiki [kelainan genetik](#) pada manusia dengan mengganti gen yang rusak dengan gen yang baik.
- Proses ini menjadi sebuah alat yang penting dalam penelitian yang memungkinkan fungsi spesifik suatu gen menjadi bahan penelitian.
- Tanaman transgenik yang telah dikembangkan saat ini membantu [keamanan pangan](#) dengan meningkatkan hasil, nilai gizi dan toleransi terhadap tekanan lingkungan.
- DNA dapat dimasukkan secara langsung ke organisme inang atau ke dalam sel yang kemudian [menyatu](#) atau [dihybridisasi](#) dengan tuan rumah.
- Proses ini bergantung pada teknik [rekombinan asam nukleat](#) untuk membentuk kombinasi baru dari materi genetik yang dapat diwariskan diikuti oleh penggabungan dari materi baik secara tidak langsung melalui sistem vektor atau langsung melalui [mikro-injeksi](#), [makro-injeksi](#) atau [mikro-enkapsulasi](#).

PRINSIP DAN TEKNIK DASAR REKAYASA GENETIK

- Beberapa metode yang sering digunakan dalam teknik rekayasa genetika meliputi penggunaan vektor, kloning, PCR (Polymerase Chain Reaction), dan seleksi, screening, serta analisis rekombinan. Adapun langkah-langkah dari rekombinasi genetik meliputi:
 - (1) Identifikasi gen yang diharapkan;
 - (2) Pengenalan kode DNA terhadap gen yang diharapkan;
 - (3) Pengaturan ekspresi gen yang sudah direkayasa; dan
 - (4) Pemantauan transmisi gen terhadap keturunannya.

- 
- “Genome editing adalah salah satu bentuk rekayasa genetik berupa penyisipan, penggantian, atau pembuangan DNA pada genom suatu organisme hidup dengan menggunakan enzim-enzim nuklease yang berperan untuk memotong dan menyambunginya,”

Memodifikasi materi genetik hewan telah banyak dilakukan dengan tujuan memiliki berbagai macam manfaat yang bisa diambil, antara lain:

- (1) Bidang Sains dan Kedokteran Hewan yang secara genetika sudah dimodifikasi atau dikenal dengan istilah Genetically Modified Animal (GMA) seperti pada hewan uji yakni mencit dapat digunakan untuk penelitian bagaimana fungsi yang ada pada hewan. Disamping itu juga digunakan untuk memahami dan mengembangkan perlakuan pada penyakit baik pada manusia maupun hewan.
- (2) Pengobatan Penyakit. Beberapa penelitian telah menggunakan protein pada manusia untuk mengobati penyakit tertentu dengan cara mentransfer gen manusia ke dalam gen hewan, misalnya domba atau sapi. Selanjutnya hewan tersebut akan menghasilkan susu yang memiliki protein dari gen manusia yang akan digunakan untuk penyembuhan pada manusia.
- (3) Modifikasi Hasil Produksi Hewan. Beberapa negara melakukan rekayasa genetik pada hewan ternak yang diharapkan akan menghasilkan hewan ternak yang cepat pertumbuhannya, tahan terhadap penyakit, bahkan menghasilkan protein atau susu yang sangat bermanfaat bagi manusia. Berikut ini ada beberapa penerapan Rekayasa Genetika pada beberapa jenis hewan



Manfaat rekayasa genetik

- Membantu pemenuhan kebutuhan hidup manusia menyediakan kebutuhan pangan masa depan dengan kualitas yang lebih baik
- Dapat dijadikan sumber energy alternative yang dapat memperbarui, misalnya biomass dan biofuel yang dapat menggantikan sumber energy konvensional
- Perawatan kesehatan yang lebih baik dan penciptaan obat-obatan yang lebih efektif
- Efisiensi agroindustry, peningkatan produktivitas dan mengendalikan hama penyakit

Produk Hasil Rekayasa Genetik

- **Produk farmasi**
Pemenuhan kebutuhan produk farmasi tertentu bila dilakukan dengan teknologi konvensional akan memerlukan bahan dan biaya yang banyak. Contohnya hormon somatostatin, yaitu hormon pertumbuhan pada manusia. Hormon ini memerlukan setengah juta otak domba untuk mendapatkan 0,005 gram somatostatin murni.
- **Produk non pangan**
Rekayasa genetik juga menyentuh di bidang lain seperti peternakan, perkebunan, dan kehutanan. Produk tersebut misalnya, vaksin, antibiotik, dan hormon pertumbuhan untuk hewan. Ternak kloning, berbagai macam tanaman tahan herbisida, insek, jamur, dan cacing, serta tanaman yang toleran terhadap kekeringan dan cuaca dingin. Baca juga: Nyamuk Rekayasa Genetik untuk Melawan Zika Ada juga tanaman transgenetik seperti tanaman anggrek yang tahan lama dengan warna bunga yang diinginkan, tanaman karet yang menghasilkan lateks dengan kadar protein tinggi, dan masih banyak lainnya.
- **Produk pangan**
Peningkatan varietas tanaman dan pengembangan varietas baru dengan hasil yang lebih tinggi dan ketahanan terhadap penyakit dan hama.
Peningkatan kualitas nutrisi berbagai produk makanan dari hewan
Teknik rekayasa genetik juga dilakukan pada bahan pangan, antara lain tomat, jagung, kedelai, kanola, bunga, kol, keju, tepung susu, kentang, beras, dan sebagainya.



Dampak positif rekayasa genetik

- Tanaman hasil rekayasa genetika biasanya tahan lebih lama terhadap hama serta dapat meningkatkan hasil panen.
- Mamalia GMO seperti tikus dan kelinci digunakan dalam penelitian kesehatan.
- Virus dimodifikasi secara genetik yang digunakan dalam terapi gen untuk memberikan gen ke dalam tubuh manusia yang dapat menyembuhkan penyakit manusia.
- Insulin sintetis telah diproduksi dan digunakan dalam perawatan pasien diabetes. Hal tersebut menjadi rekayasa genetik.

Dampak Negative Rekayasa Genetik

- Keseimbangan ekosistem bisa terganggu karena dominasi GMO atas spesies alami.
- Gangguan kesehatan akibat penggunaan hasil rekayasa genetik ialah reaksi alergi yang sudah dapat dibuktikan.
- Peperangan bisa berbahaya karena senjata biologis yang diproduksi dengan rekayasa genetika.
- Penelitian telah membuktikan bahwa beberapa produk makanan mempertahankan bahan genetik buatan yang akan menciptakan efek merugikan pada kesehatan manusia.



- Tahapan teknik dasar dalam cloning gen :

- 1. Isolasi DNA / RNA 2

Tahapan teknik dasar dalam cloning gen :

1. Isolasi DNA / RNA

2. Pemotongan, penyambungan / insersi DNA / RNA.

3. Memantau hasil pemotongan atau penyambungan DNA / RNA.

4. Transformasi pada sel host (E. coli).

5. Isolasi DNA rekombinan dari host.

6. Analisa DNA rekombinan.



ANALISIS HASIL TES DNA

- Analisis DNA untuk tes paternitas meliputi beberapa tahap yaitu tahap pengambilan spesimen, tahap proses laboratorium, tahap perhitungan statistik dan pengambilan kesimpulan.
- Untuk metode tes DNA di Indonesia, masih memanfaatkan metode elektroforesis DNA.
- Interpretasi hasilnya adalah dengan cara menganalisa pola DNA menggunakan marka STR (short tandem repeats).
- STR adalah lokus DNA yang tersusun atas pengulangan 2-6 basa.
- Dalam genom manusia dapat ditemukan pengulangan basa yang bervariasi jumlah dan jenisnya. Dengan menganalisa STR ini, maka DNA tersebut dapat diprofilkan dan dibandingkan dengan sampel DNA terduga lainnya.



CONTOH PRAKTIS PENERAPAN TEKNIK ISOLASI DAN UJI DNA


- 1. PENYIAPAN SAMPEL DAN ISOLASI DNA Seperti yang telah disebutkan sebelumnya, sampel untuk analisis DNA dapat diperoleh dari berbagai jaringan, seperti bagian daging (otot), tulang, gigi, darah, sperma, saliva, rambut dan sebagainya. Setiap jenis sampel yang berbeda mempunyai teknik penyiapan sampel yang berbeda dan teknik isolasi DNA yang berbeda pula. Jumlah sampel yang umumnya terbatas, tidak menjadi kendala, karena jumlah DNA akan digandakan sebelum proses analisis dan kuantifikasinya. Dengan kondisi ini, maka prosedur isolasi DNA dianggap selesai mketika DNA telah terekstrak dan dimurnikan serta siap untuk proses penggandaan (melalui PCR).



Salah satu contohnya :

Pada Tulang Isolasi DNA untuk tulang dilakukan melalui beberapa tahapan:

- Pertama, hancurkan tulang sampai berupa bubuk halus dan mesin bor dengan kecepatan tertentu sehingga diperoleh bubuk tulang berukuran 100 μm . Dekalsifikasi 1 gr bubuk tulang dengan 10 ml EDTA 0,5 M (pH 7,5), selanjutnya divorteks, diinkubasi pada suhu 56 oC dalam alat ultrasonik selama 2 jam. Proses tersebut dipantau dengan menambahkan larutan amonium oksalat pH 3.0 jenuh dan proses dihentikan setelah larutan jernih.
- Kedua, DNA diisolasi dari tulang yang didekalsifikasi menggunakan 4 metode, yaitu metode Maxim (Silika/guanidium tiosianat), piranti DNAzol, piranti Ready AMP, dan ekstraksi menggunakan garam dapur NaCl. DNA yang dihasilkan diukur menggunakan piranti DNA DipStick.
- Dan ketiga, dilakukan visualisasi DNA pada gel agarosa konvensional menggunakan metode pengecatan perak dan perancangan primer menggunakan perangkat lunak pangkalan data (database) the Human Genebank dengan sekuen: 5-CTGATGGTTGGCCTCAAGCCTGTG-3 (Indralsex1) dan 5-TAAAGAGA-TTCATTA ACTTGACTG-3 (Indralsex2) yang dapat menghasilkan produk PCR X-spesifik dan Y-spesifik menggunakan gel agarosa biasa. DNA siap digunakan.

- 
- Pada Rambut Umumnya Dipergunakan Dua Metode, Yaitu Isolasi DNA Dari Rambut Dan Protokol Dr. Glowatzki (Dr. Glowatzki's Protocol) a. Isolasi DNA Sampel Rambut. – Potong 10 – 15 helai akar rambut sepanjang 0,5 cm kedalam 1,5 ml tabung eppendorf – Tambahkan 50 µl 200mM NaOH solusi. – Panaskan tabung menggunakan bak air bersuhu 94 oC selama 10 menit. – Lalu dinginkan dalam suhu ruangan dan tambahkan 50 µl solusi yang terdiri dari 200 mM HCL dan 200 mM Tris-HCL pH 8,5. – DNA siap untuk digunakan
 - 24. b. Isolasi DNA dengan Dr. Glowatzki's protocol – Potong 5-10 akar rambut sekitar 0,5 cm ke dalam tabung eppendorf. – Gunakan 50 µl larutan di bawah ini sebagai buffer lisis : • 10 mM Tris pH 8,3, • 50 mM KCl, • 0,5% Tween. – Tambahkan juga 10 µl larutan 20 µg/ml Proteinase K dalam 10 mM Tris-HCl (pH 7,5) – Sentrifus selama 30 detik. – Ultrasentrifus pada 13000 rpm selama 1 detik – Inkubasi selama satu malam dalam air hangat bersuhu 560 – 600 C. – Inkubasi kembali selama 10 menit pada suhu 940 C (bertujuan untuk mendenaturasi proteinase K). – Dinginkan dalam suhu ruangan. – Ultrasentrifus pada kecepatan 13000 rpm selama 1 detik – DNA siap untuk dilakukan PCR

- ANALISIS DNA yang paling umum digunakan dalam analisis DNA adalah metode pemisahan fraksi protein berdasarkan berta molekulnya, yakni dengan metode Elektroforesis, khususnya Elektroforesis dengan gel Agarose. Teknik ini dilakukan berdasarkan fakta bahwa DNA merupakan senyawa bermuatan negatif pada pH netral, yang disebabkan oleh rangka fosfatnya. Berdasarkan sifat ini, maka jika arus listrik diberikan pada larutan yang mengandung DNA, molekul DNA akan terdorong menuju bagian bidang yang bermuatan positif.

Slide Title

- KUANTIFIKASI DAN INTERPRETASI Berdasarkan pengamatan pada pita DNA hasil elektroforesis, maka konsentrasi sampel DNA dapat dianalisis. Konsentrasi DNA diperoleh dengan membandingkan kekompakan pita dan intensitas kecerahannya yang diamati pada pola elektroforesis sampel DNA dibandingkan marker DNA (misal λ Hind III). Hasil perbandingan dituangkan dalam rasio (nisabah)-nya. Berdasarkan rasio perbandingan tersebut, maka konsentrasi DNA dapat dikuantifikasi mengikuti rumus berikut: $(\text{Ukuran marker} \times \text{konsentrasi marker} \times \mu\text{l marker} \times \text{rasio perbandingan}) / (\text{ukuran total marker} \times \mu\text{l sampel})$

Pro dan Kontra Rekayasa Genetik

- Munculnya tanaman rekayasa genetika yang dikomersilkan telah memberikan manfaat ekonomi kepada para petani di berbagai negara, tetapi juga menjadi sumber kontroversi. Meskipun ada konsensus ilmiah yang menyatakan bahwa makanan yang berasal dari tanaman transgenik tidak menimbulkan risiko yang lebih besar untuk kesehatan manusia daripada makanan konvensional, keamanan pangan transgenik tetap menjadi pusat kritikan.
- Adanya masalah ini mengakibatkan munculnya pengembangan kerangka peraturan yang dimulai pada tahun 1975. Perjanjian internasionalnya juga telah disepakati pada tahun 2000 yaitu Protokol Cartagena tentang keamanan hayati. Masing-masing negara telah mengembangkan sendiri sistem regulasi mengenai transgenik.



Assignment

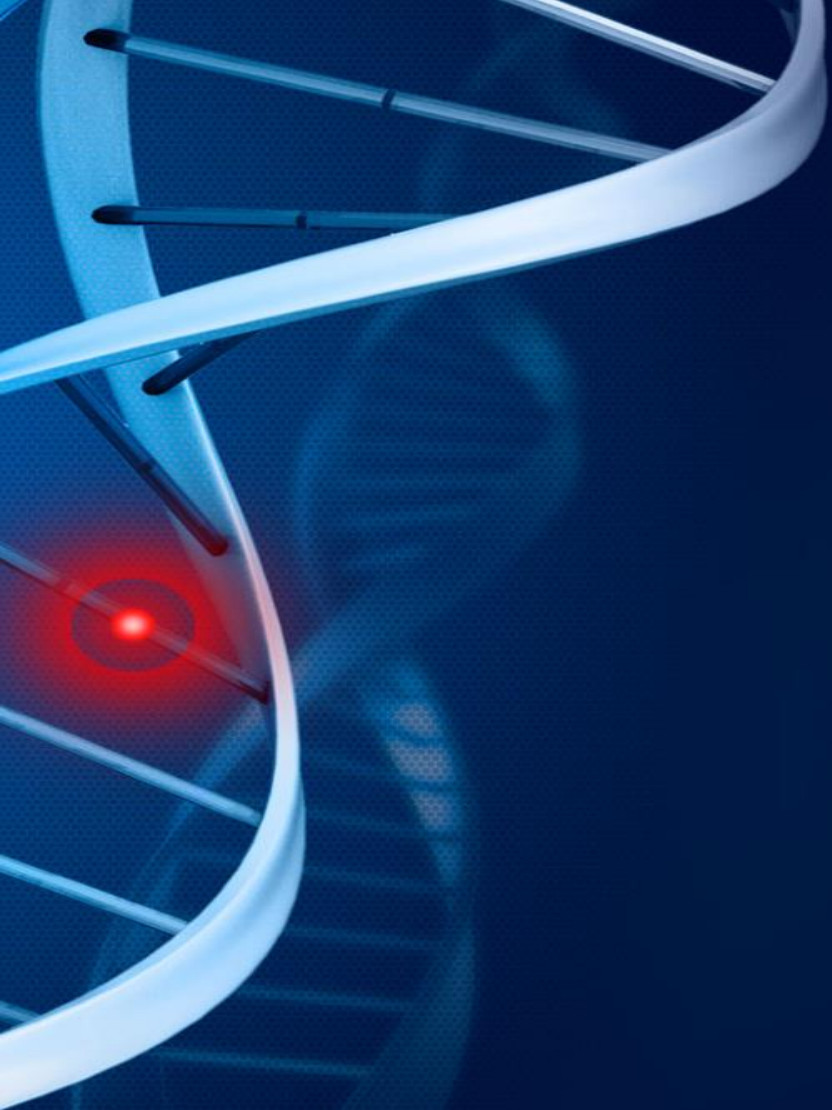
Review Jurnal International yang terindex scopus, tema rekayasa genetik pada ternak

Max 250 kata

Kirimkan juga file manuscript journalnya

Kirim ke email: shrd_hardi@yahoo.com

- Deadline 16 Mei 2021, 11.00 PM



Terimakasih