BIOTEKNOLOGI PERTANIAN

INOVASI DARI GEN HINGGA LAPANG

JILID II

Dr. Ir. Rita Hayati, M.P | Ir. Jafrizal, M.Si | Ir. Suryadi, M.P
Ir. Yukiman Armadi, M.Si | Ir. Neti Kesumawati, M.Si
Ir. Jon Jawahar, M.Si | Ir. Rita Feni, M.Si | Ir. Edy Marwan, M.M | Dr. Edi Efrita, S.P., M.P

BIOTEKNOLOGI PERTANIAN:
INOVASI DARI GEN HINGGA LAPANG
JILID II

Penulis:

Dr. Ir. Rita Hayati, M.P

Ir. Jafrizal, M.Si

Ir. Suryadi, M.P

Ir. Yukiman Armadi, M.Si

Ir. Neti Kesumawati, M.Si

Ir. Jon Jawahar, M.Si

Ir. Rita Feni, M.Si

Ir. Edy Marwan, M.M

Dr. Edi Efrita, S.P., M.P

LUMINARY PRESS

CV. LUMINARY PRESS INDONESIA

BIOTEKNOLOGI PERTANIAN:

INOVASI DARI GEN HINGGA LAPANG

JILID II

Penulis :

Dr. Ir. Rita Hayati, M.P **I** Ir. Jafrizal, M.Si **I** Ir. Suryadi, M.P **I**

Ir. Yukiman Armadi, M.Si **I** Ir. Neti Kesumawati, M.Si **I** Ir. Jon Jawahar, M.Si **I Ir.**

Rita Feni, M.Si **I** Ir. Edy Marwan, M.M **I** Dr. Edi Efrita, S.P., M.P

ISBN : 978-634-7476-48-7 (no.jil.lengkap)

978-634-7603-00-5 (jil.2)

Editor : Weni Yuliani, S.Si., M.M., C. Ed.

Penyunting : Febiola Tiara, S.Pd.

Desain Sampul dan Tata Letak : Septia Fakhira Risti, S.Ds.

Penerbit : CV LUMINARY PRESS INDONESIA

Anggota IKAPI No. 057/SBA/2024

Redaksi :

Perum. Pasadena Residence Blok J no.10, Sungai Lareh, Lubuk Minturun,

Padang, Sumatera Barat

Website : www.luminarypress.id

Email : luminarypressindonesia@gmail.com

Cetakan pertama, Maret 2026

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

KATA PENGANTAR

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar besarnya kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan moral dan material dalam penyusunan buku ajar ini. Buku ini dirancang untuk membekali para mahasiswa, khususnya di program studi agroteknologi, agronomi, dan bioteknologi, dengan pemahaman yang mendalam mengenai prinsip, teknik, dan aplikasi bioteknologi dalam konteks pertanian modern. Harapan kami, para pembaca tidak hanya mampu memahami konsep teoritis, tetapi juga dapat menganalisis isu isu kontemporer, mengevaluasi potensi teknologi, serta terdorong untuk terlibat dalam riset dan pengembangan bioteknologi pertanian di masa depan. Ucapan terima kasih secara khusus kami sampaikan kepada para kolega akademisi yang telah memberikan masukan berharga, serta keluarga yang senantiasa memberikan dukungan tiada henti. Semoga buku ini dapat memberikan manfaat yang sebesar besarnya bagi pengembangan ilmu pengetahuan dan kemajuan sektor pertanian.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat dan karunia Nya sehingga buku ajar berjudul "Bioteknologi Pertanian: Inovasi dari Gen hingga Lapang" ini dapat terselesaikan dengan baik. Buku ini disusun sebagai salah satu sumber belajar bagi mahasiswa dan para praktisi di bidang pertanian yang ingin mendalami bagaimana ilmu biologi pada tingkat molekuler dapat diaplikasikan untuk menciptakan inovasi di sektor pertanian. Perkembangan dunia yang dinamis menuntut sektor pertanian untuk terus beradaptasi, terutama dalam menghadapi tantangan besar seperti perubahan iklim, ledakan populasi penduduk, dan degradasi lahan. Bioteknologi pertanian hadir sebagai salah satu pilar solusi yang menawarkan berbagai perangkat canggih untuk meningkatkan produktivitas, ketahanan tanaman, dan keberlanjutan sistem pertanian. Penulisan buku ini didasari oleh kebutuhan akan materi ajar yang komprehensif, relevan dengan perkembangan terkini, serta disajikan dalam bahasa yang mudah dipahami. Kami berharap buku ini tidak hanya menjadi referensi akademis, tetapi juga mampu menginspirasi lahirnya ide ide inovatif untuk kemajuan pertanian Indonesia.

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR ..... **i**

PRAKATA ..... **ii**

DAFTAR ISI ..... **iii**

BAB 8 GENOMIK DAN BIOINFORMATIKA PERTANIAN **1**

A. Pengantar Genomik Tanaman 3

B. Analisis Bioinformatika Dasar 10

C. *Transcriptomics* dan Analisis Ekspresi Gen 17

D. *Proteomics* dan *Metabolomics* 23

E. Aplikasi Genomik dalam Pertanian 29

F. Rangkuman Bab 35

G. Latihan Mahasiswa 36

GLOSARIUM BAB 8 40

BAB 9 CRISPR DAN *EDITING* GEN TANAMAN **43**

A. Prinsip CRISPR-Cas9 45

B. Implementasi CRISPR pada Tanaman 52

C. Keunggulan *Editing* Gen dibanding Transgenik 58

D. Aplikasi CRISPR dalam Pertanian 63

E. Masa Depan Teknologi *Editing* Gen 69

F. Rangkuman Bab 75

G. Latihan Mahasiswa 76

GLOSARIUM BAB 9 80

BAB 10 BIOTEKNOLOGI MIKROBIAL DALAM PERTANIAN 83

A. Mikroba Tanah yang Menguntungkan 85

B. Produksi Biofertilizer dan Biopestisida 92

C. Rekayasa Genetik Mikroba Tanah 98

D. Bioremediasi oleh Mikroba 103

E. Mikroba dalam Bioteknologi Pasca Panen 107

F. Rangkuman Bab 113

G. Latihan Mahasiswa 114

GLOSARIUM BAB 10 117

BAB 11 REGULASI, KEBIJAKAN, DAN ETIKA BIOTEKNOLOGI 119

A. Regulasi Nasional dan Internasional 121

B. Penilaian Keamanan Hayati 128

C. Etika dan Hak Kekayaan Intelektual 134

D. Isu Sosial dan Ekonomi 140

E. Perspektif Global terhadap Bioteknologi 145

F. Rangkuman Bab 151

G. Latihan Mahasiswa 152

GLOSARIUM BAB 11 156

BAB 12 STUDI KASUS DAN IMPLEMENTASI LAPANG.....159

A. Studi Kasus Tanaman Transgenik..... 161

B. Studi Kasus *Editing* Gen 167

C. Implementasi Kultur Jaringan di Industri..... 173

D. Komersialisasi dan Inovasi Bioteknologi..... 179

E. Evaluasi Dampak Teknologi 185

F. Rangkuman Bab..... 190

G. Latihan Mahasiswa 191

GLOSARIUM BAB 12 195

BAB 13 PRAKTIKUM BIOTEKNOLOGI PERTANIAN 197

A. Dasar-dasar Praktikum dan *Biosafety*..... 199

B. Praktikum Kultur Jaringan 205

C. Praktikum DNA dan PCR..... 210

D. Praktikum Marker Molekuler 215

E. Praktikum Mikrobiologi Pertanian 218

F. Rangkuman Bab..... 222

G. Latihan Mahasiswa 223

GLOSARIUM BAB 13 225

BAB 14 TREN MASA DEPAN DAN INOVASI BIOTEKNOLOGI PERTANIAN 229

A. *Precision Agriculture* dan *Big* Data..... 231

B. Digital Bioteknologi dan AI 237
C. Teknologi *SynBio* (Biologi Sintetik) 242
D. Pertanian Berbasis Ekosistem 247
E. Pendidikan dan Transformasi SDM Bioteknologi 252
F. Rangkuman Bab 257
G. Latihan Mahasiswa 258
GLOSARIUM BAB 14 262
DAFTAR PUSTAKA 264
BIODATA PENULIS

BAB 8
GENOMIK DAN BIOINFORMATIKA PERTANIAN

Tujuan Pembelajaran

Setelah mempelajari bab ini, mahasiswa diharapkan mampu:

1. Menjelaskan struktur dasar genom tanaman, termasuk perbedaan antara genom inti, plastid, dan mitokondria.
2. Menguraikan prinsip kerja teknologi sekuensing DNA generasi baru (*Next-Generation Sequencing*, NGS).
3. Menggunakan basis data genom publik dan melakukan analisis bioinformatika dasar seperti penyelarasan sekuens menggunakan BLAST.
4. Membedakan antara transkriptomik, proteomik, dan metabolomik, serta menjelaskan aplikasi utamanya.
5. Menjelaskan bagaimana data genomik dan "omik" lainnya digunakan untuk identifikasi gen fungsional dan pemuliaan berbasis genom.
6. Memahami peran bioinformatika sebagai jembatan antara data biologis skala besar dan penemuan pengetahuan baru dalam pertanian.

Pendahuluan

Bab sebelumnya telah dibahas mulai dari tingkat makro ke tingkat mikro, dari konsep ketahanan pangan global hingga ke dalam sel untuk memanipulasi gen tunggal. Bab ini menyinggung bab sebelumnya untuk melihat keseluruhan "buku resep" kehidupan, yaitu genom. Genom adalah keseluruhan set materi genetik (DNA) yang ada dalam suatu organisme, yang mengandung semua informasi yang diperlukan untuk membangun dan menjalankannya. Jika rekayasa genetika di Bab 4 adalah tentang menyisipkan satu atau dua kalimat baru ke dalam buku, maka genomik adalah tentang membaca, memahami, dan membandingkan seluruh isi buku tersebut, dari sampul depan hingga sampul belakang. Era genomik, yang didorong oleh kemajuan pesat dalam teknologi sekuensing DNA, telah secara fundamental mengubah cara kita melakukan penelitian biologi dan pemuliaan tanaman.

Kemampuan untuk menyekuensing seluruh genom tanaman pertanian penting, seperti padi, jagung, dan kedelai, dengan cepat dan biaya yang terus menurun telah menghasilkan ledakan data biologis yang belum pernah terjadi sebelumnya. Namun, data sekuens mentah itu sendiri hanyalah serangkaian huruf A, T, C, dan G yang panjang dan tidak bermakna. Di sinilah peran bioinformatika menjadi sangat krusial. Bioinformatika adalah disiplin ilmu interdisipliner yang menggunakan kekuatan komputasi, statistika, dan ilmu komputer untuk menganalisis, menginterpretasikan, dan mengekstrak pengetahuan yang bermakna dari data biologis skala besar. Ia adalah jembatan yang menghubungkan lautan data mentah dengan penemuan biologis yang nyata. Tanpa

bioinformatika, genomik akan menjadi seperti memiliki perpustakaan terbesar di dunia tetapi tanpa katalog, indeks, atau mesin pencari.

Bab ini membahas dunia genomik dan bioinformatika pertanian, mulai dengan memahami struktur genom tanaman yang kompleks dan bagaimana teknologi sekuensing generasi baru (NGS) telah merevolusi kemampuan untuk membacanya. Selanjutnya, akan dibahas mulai dengan perangkat kerja dasar seorang bioinformatikawan, termasuk basis data genom publik di mana data ini disimpan dan alat fundamental seperti BLAST untuk membandingkan sekuens. Kemudian, akan memperluas pandangan tentang melampaui genom (DNA) ke disiplin "omik" lainnya. Kita akan menyelami transkriptomik (studi tentang semua gen yang diekspresikan sebagai RNA), proteomik (studi tentang semua protein), dan metabolomik (studi tentang semua metabolit). Pendekatan multi omik ini memberikan gambaran yang jauh lebih dinamis dan holistik tentang bagaimana suatu tanaman berfungsi. Akhirnya, kita akan melihat bagaimana semua data ini bersatu untuk mendorong aplikasi praktis di bidang pertanian, mulai dari penemuan gen baru yang mengendalikan sifat penting hingga implementasi pendekatan pemuliaan paling canggih, yaitu seleksi berbasis genom.

A. Pengantar Genomik Tanaman

Genomik adalah bidang biologi yang berfokus pada studi tentang struktur, fungsi, evolusi, pemetaan, dan penyuntingan genom. Genom tanaman, secara khusus, memiliki beberapa karakteristik yang membuatnya menarik sekaligus menantang untuk dipelajari. Genom tanaman sangat bervariasi dalam ukuran, mulai dari yang relatif kecil seperti pada *Arabidopsis thaliana* (sekitar 135 juta pasangan basa atau

Mb) hingga yang sangat besar dan kompleks seperti pada gandum roti (sekitar 17.000 Mb), yang lebih dari lima kali lebih besar dari genom manusia (Michael & VanBuren, 2020). Ukuran genom yang besar ini seringkali bukan karena jumlah gen yang lebih banyak, melainkan karena proporsi DNA berulang atau *repetitive DNA* yang sangat tinggi, termasuk elemen transposable atau "gen pelompat" yang dapat menyalin dan menyisipkan diri mereka sendiri di berbagai lokasi di seluruh genom.

Selain genom inti (nukleus) yang mengandung sebagian besar DNA, sel tanaman juga memiliki dua genom organel yang lebih kecil, yaitu genom kloroplas (plastid) dan genom mitokondria. Kedua organel ini, yang diyakini berasal dari bakteri endosimbiotik, memiliki genom sirkular kecilnya sendiri yang mengkode beberapa protein penting untuk fotosintesis dan respirasi seluler (Bock, 2017). Genom kloroplas (cpDNA) biasanya berukuran sekitar 120-170 ribu pasangan basa (kb) dan memiliki struktur yang sangat lestari di antara spesies tanaman, menjadikannya sangat berguna untuk studi filogenetik. Genom mitokondria (mtDNA) pada tanaman jauh lebih bervariasi dalam ukuran dan struktur. Memahami ketiga genom ini (inti, kloroplas, dan mitokondria) secara bersamaan sangat penting untuk mendapatkan gambaran lengkap tentang biologi tanaman.

Kemajuan terbesar dalam genomik tanaman didorong oleh revolusi dalam teknologi sekuensing DNA. Proyek sekuensing genom pertama untuk tanaman, yaitu *Arabidopsis thaliana* (selesai pada tahun 2000) dan padi (selesai pada tahun 2005), menggunakan metode sekuensing Sanger yang padat karya dan mahal (Arabidopsis Genome Initiative, 2000; International Rice Genome Sequencing Project, 2005).

Namun, munculnya teknologi sekuensing generasi baru (*Next-Generation Sequencing*, NGS) pada pertengahan tahun 2000 an secara dramatis mengubah permainan. Teknologi NGS memungkinkan sekuensing paralel secara masif, menghasilkan miliaran pembacaan sekuens dalam sekali jalan dengan biaya per basa yang terus menurun secara eksponensial. Kemampuan ini telah memungkinkan sekuensing genom referensi untuk ratusan spesies tanaman dan re-sekuensing ribuan varietas dalam satu spesies, membuka era baru dalam genetika dan pemuliaan tanaman (Bevan et al., 2017).

Ketersediaan sekuens genom referensi berkualitas tinggi untuk tanaman budidaya penting berfungsi sebagai fondasi untuk semua penelitian genomik selanjutnya. Genom referensi ini bertindak sebagai "peta" di mana para ilmuwan dapat memetakan gen, mengidentifikasi variasi genetik seperti SNP, dan mempelajari elemen pengatur. Dengan membandingkan genom dari varietas yang berbeda (misalnya, yang toleran dan yang rentan kekeringan), para ilmuwan dapat dengan cepat mengidentifikasi perbedaan genetik yang mendasari perbedaan sifat tersebut. Era genomik telah mengubah pemuliaan tanaman dari proses yang sebagian besar bersifat empiris menjadi disiplin yang semakin didorong oleh desain dan prediksi berbasis informasi genetik.

Analogi: Mempelajari genomik dapat diibaratkan seperti menjelajahi sebuah kota metropolitan yang sangat besar. Genom inti adalah pusat kota yang luas dan padat, penuh dengan gedung pencakar langit (gen) tetapi juga banyak area parkir kosong dan bangunan tua yang ditinggalkan (DNA berulang). Genom kloroplas adalah seperti pembangkit listrik tenaga surya yang efisien dan terstandarisasi di pinggir kota. Genom mitokondria adalah seperti jaringan pembangkit

listrik kecil yang lebih tua dan lebih bervariasi. Sekuensing Sanger adalah seperti membuat peta kota dengan berjalan kaki dan mengukur setiap jalan satu per satu, sangat akurat tetapi sangat lambat. NGS adalah seperti menggunakan armada drone dan satelit pencitraan yang dapat memetakan seluruh kota dengan resolusi tinggi dalam satu hari. Genom referensi adalah seperti Google Maps untuk kota tersebut, sebuah peta dasar yang akurat yang dapat digunakan semua orang untuk navigasi dan analisis.

1. Struktur Genom Tanaman

Genom inti eukariotik, termasuk tanaman, diorganisir ke dalam struktur yang disebut kromosom, yang merupakan molekul DNA linier yang sangat panjang dan terasosiasi dengan protein histon. Protein histon membantu memadatkan DNA menjadi struktur yang lebih kompak yang disebut kromatin. Kromatin dapat berada dalam dua keadaan utama: eukromatin, yang merupakan keadaan yang lebih longgar dan aktif secara transkripsi (mengandung banyak gen), dan heterokromatin, yang sangat padat dan sebagian besar tidak aktif secara transkripsi (mengandung banyak DNA berulang) (Slotkin & Martienssen, 2007). Karakteristik yang paling menonjol dari banyak genom tanaman adalah prevalensi poliploidi. Poliploidi adalah kondisi di mana suatu organisme memiliki lebih dari dua set kromosom homolog. Banyak tanaman budidaya penting, seperti gandum (heksaploid, 6 set), kentang (tetraploid, 4 set), dan kapas (tetraploid, 4 set), adalah poliploid. Poliploidi dapat terjadi melalui penggandaan genom dalam satu spesies (autopoliploidi) atau melalui hibridisasi antara dua spesies yang berbeda diikuti oleh penggandaan genom (allopoliploidi) (Soltis et al., 2015). Poliploidi menciptakan redundansi genetik yang besar (banyak salinan

dari gen yang sama), yang memberikan bahan baku untuk evolusi fungsi gen baru tetapi juga secara signifikan mempersulit analisis genetik dan pemuliaan.

Komponen lain yang mendominasi genom tanaman adalah elemen transposable (TEs) atau "gen pelompat". TEs adalah sekuens DNA yang memiliki kemampuan untuk berpindah atau menyalin diri mereka sendiri ke lokasi baru di dalam genom. Mereka dapat diklasifikasikan menjadi dua kelas utama: retrotransposon (Kelas I), yang bergerak melalui perantara RNA, dan transposon DNA (Kelas II), yang bergerak melalui mekanisme "potong dan tempel". Pada beberapa tanaman seperti jagung, TEs dapat menyusun lebih dari 85% dari total genom (Schnable et al., 2009). Meskipun sering dianggap sebagai DNA "egois" atau "sampah", semakin banyak bukti menunjukkan bahwa TEs memainkan peran penting dalam evolusi genom, regulasi gen, dan adaptasi tanaman.

2. Genom Inti dan Plastid

Seperti yang telah disebutkan, sel tanaman memiliki tiga kompartemen genetik: inti, plastid (kloroplas), dan mitokondria. Ada perbedaan fundamental antara genom inti dan genom organel. Genom inti diwariskan dari kedua orang tua (pewarisan biparental) melalui gamet jantan dan betina dan mengikuti hukum pewarisan Mendel. Sebaliknya, genom plastid dan mitokondria pada sebagian besar tanaman berbunga diwariskan secara uniparental, biasanya hanya dari tetua betina (maternal) karena gamet jantan (serbuk sari) umumnya tidak menyumbangkan sitoplasma dan organelnya ke zigot (Bock, 2007). Pola pewarisan yang berbeda ini memiliki implikasi penting untuk pemuliaan dan evolusi.

Genom plastid (kloroplas), atau plastom, adalah molekul DNA sirkular yang relatif kecil (biasanya 120–170 kb). Ia memiliki struktur yang sangat lestari di antara tanaman darat, biasanya terdiri dari empat bagian: dua daerah salinan terbalik (*inverted repeat*, IR) yang memisahkan daerah salinan tunggal besar (*large single-copy*, LSC) dan daerah salinan tunggal kecil (*small single-copy*, SSC). Genom plastid mengkode sekitar 120-130 gen, yang sebagian besar terlibat dalam fotosintesis (seperti gen *rbcL* untuk subunit besar Rubisco) dan dalam mesin transkripsi/translasi kloroplas itu sendiri (Wicke et al., 2011). Karena laju evolusi sekuensnya yang lambat dan pewarisannya yang uniparental, sekuens genom plastid sangat banyak digunakan sebagai marker untuk studi filogenetik dan taksonomi tanaman.

Genom mitokondria tanaman (mtDNA), atau kondriom, jauh lebih kompleks dan bervariasi daripada plastom. Ukurannya dapat berkisar dari 200 kb hingga lebih dari 10.000 kb (10 Mb), dan seringkali memiliki struktur yang rumit dengan molekul sirkular master dan sub-sirkular yang lebih kecil yang dihasilkan melalui rekombinasi. Meskipun ukurannya besar, mtDNA tanaman hanya mengkode sejumlah kecil gen (sekitar 40-60), yang sebagian besar terlibat dalam respirasi seluler. Sebagian besar ukuran genom mitokondria tanaman terdiri dari DNA non-pengkode dan sekuens yang ditransfer dari genom inti dan plastid (Gualberto & Newton, 2017).

3. Teknologi Sequencing

Revolusi dalam genomik didorong oleh kemajuan pesat dalam teknologi sekuensing DNA. Metode sekuensing Sanger, yang mendominasi selama hampir 30 tahun, didasarkan pada terminasi rantai yang dikatalisis oleh

DNA polimerase menggunakan dideoksinukleotida (Sanger et al., 1977). Meskipun sangat akurat untuk pembacaan sekuens tunggal yang panjang (hingga 1000 basa), metode ini relatif lambat, mahal, dan sulit untuk diotomatisasi dalam skala besar. Munculnya teknologi *Next-Generation Sequencing* (NGS) pada pertengahan tahun 2000 an mengubah paradigma. Alih-alih menyekuensing satu fragmen DNA pada satu waktu, platform NGS menggunakan pendekatan sekuensing paralel secara masif, menyekuensing jutaan atau miliaran fragmen DNA secara bersamaan. Teknologi yang dominan di pasar, yang dipelopori oleh Illumina, menggunakan metode yang disebut *sequencing-by-synthesis*. Dalam metode ini, DNA genomik dipecah menjadi fragmen kecil, adaptor diligasi ke ujungnya, dan fragmen ini kemudian diamplifikasi secara klonal pada permukaan padat (disebut *flow cell*) untuk membentuk jutaan kluster. Sekuensing dilakukan dengan menambahkan nukleotida berlabel fluoresen yang dapat dibalik satu per satu dan mengambil gambar fluoresensi setelah setiap penambahan. Warna fluoresensi menunjukkan basa mana yang ditambahkan (Metzker, 2010). Proses ini menghasilkan sejumlah besar pembacaan sekuens pendek (*short reads*), biasanya 50 hingga 300 basa.

Baru-baru ini, teknologi sekuensing generasi ketiga, atau sekuensing pembacaan panjang (*long-read sequencing*), telah muncul. Platform dari perusahaan seperti Pacific Biosciences (PacBio) dan Oxford Nanopore Technologies (ONT) dapat menghasilkan pembacaan sekuens yang sangat panjang, dari beberapa ribu hingga lebih dari satu juta pasangan basa, dengan menyekuensing molekul DNA tunggal secara *real time* (Schadt et al., 2010). Meskipun tingkat kesalahan per basa saat ini lebih tinggi daripada sekuensing pembacaan pendek, kemampuan

untuk membaca sekuens yang sangat panjang sangat berharga untuk merakit genom yang kompleks dan berulang, seperti genom tanaman, dan untuk mendeteksi variasi struktural yang besar. Seringkali, pendekatan hibrida yang menggabungkan akurasi pembacaan pendek dan panjangnya pembacaan panjang digunakan untuk menghasilkan rakitan genom dengan kualitas terbaik.

B. Analisis Bioinformatika Dasar

Data mentah yang dihasilkan oleh platform sekuensing genom, terutama NGS, sangatlah besar dan tidak ada artinya tanpa analisis komputasi. Bioinformatika adalah disiplin yang menyediakan alat, algoritma, dan basis data untuk menyimpan, menganalisis, dan menginterpretasikan data biologis ini. Untuk seorang ahli biologi tanaman atau pemulia, pemahaman dasar tentang konsep dan alat bioinformatika menjadi semakin penting. Analisis bioinformatika dasar dapat dianggap sebagai langkah pertama dalam mengubah data sekuens menjadi pengetahuan biologis (Xiong, 2006). Langkah pertama yang penting adalah akses ke basis data genom. Sejumlah besar data genomik dan "omik" lainnya disimpan dalam basis data publik yang dapat diakses secara bebas oleh para peneliti di seluruh dunia. Lembaga utama yang mengelola basis data ini adalah *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) di Amerika Serikat, *European Bioinformatics Institute* (EBI) di Eropa, dan *DNA Data Bank of Japan* (DDBJ). Basis data GenBank di NCBI adalah arsip utama untuk semua sekuens DNA yang tersedia untuk umum. Selain itu, ada banyak basis data spesifik tanaman (misalnya, The Arabidopsis Information Resource atau TAIR, Gramene untuk sereal)

yang menyediakan genom yang telah dianotasi dan alat visual isasi yang dikurasi dengan baik (Goodstein et al., 2012).

Setelah sekuens gen atau protein baru diperoleh, pertanyaan pertama yang sering diajukan adalah, "Apakah sekuens ini mirip dengan sekuens lain yang fungsinya sudah diketahui?". Alat bioinformatika yang paling fundamental untuk menjawab pertanyaan ini adalah BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) (Altschul et al., 1990). BLAST adalah algoritma pencarian yang sangat cepat yang dapat membandingkan sekuens input (disebut *query*) dengan seluruh basis data sekuens (seperti GenBank) dan menemukan sekuens yang memiliki kesamaan lokal yang signifikan. Dengan menemukan kecocokan yang kuat (homologi) dengan gen yang fungsinya telah dikarakterisasi pada organisme lain, seorang peneliti dapat membuat hipotesis yang beralasan tentang fungsi dari gen baru mereka, sebuah konsep yang dikenal sebagai "bersalah karena asosiasi" (*guilt by association*).

Proses penting lainnya dalam bioinformatika adalah penyelarasan sekuens (*sequence alignment*). Ini adalah proses mengatur sekuens DNA, RNA, atau protein untuk mengidentifikasi daerah yang memiliki kesamaan sebagai hasil dari hubungan fungsional, struktural, atau evolusioner. Penyelarasan dapat dilakukan antara dua sekuens (*pairwise alignment*) atau di antara beberapa sekuens (*multiple sequence alignment*). Penyelarasan ganda sangat berguna untuk menemukan daerah yang lestari (terkonservasi) di antara sekelompok protein, yang seringkali menunjukkan domain fungsional yang penting, dan untuk membangun pohon filogenetik (Thompson et al., 1994). Anotasi gen, yaitu proses mengidentifikasi lokasi gen dan elemen fungsional lainnya di sepanjang sekuens genom, juga merupakan tugas bioinformatika inti

yang menggabungkan berbagai jenis bukti, termasuk prediksi gen komputasi dan penyelarasan dengan data transkrip (seperti RNA-Seq).

Analogi: Analisis bioinformatika dasar adalah seperti menggunakan peralatan pustakawan digital untuk menavigasi perpustakaan genom yang sangat besar. Basis data genom (seperti GenBank) adalah katalog online utama perpustakaan, tempat semua buku (sekuens) terdaftar. BLAST adalah seperti mesin pencari Google untuk perpustakaan; Anda mengetik sebuah kalimat (sekuens query Anda) dan ia akan dengan cepat menemukan semua buku lain di perpustakaan yang mengandung kalimat yang sama atau sangat mirip. Penyelarasan sekuens ganda adalah seperti mengambil beberapa edisi dari buku yang sama (misalnya, Shakespeare) dan menyusunnya berdampingan, baris demi baris, untuk melihat bagian mana dari teks yang tetap sama di semua edisi (daerah yang lestari). Anotasi gen adalah seperti proses di mana pustakawan membaca seluruh buku baru dan menambahkan catatan pinggir yang menunjukkan di mana setiap bab dimulai dan berakhir, di mana ada ilustrasi penting, dan apa topik utama dari setiap paragraf.

1. Basis Data Genom

Basis data genom adalah repositori digital yang terorganisir yang menyimpan dan menyediakan akses ke data sekuens genom dan informasi terkait. Mereka adalah infrastruktur fundamental yang mendukung penelitian genomik di seluruh dunia. Basis data primer utama, seperti GenBank (NCBI), European Nucleotide Archive (ENA), dan DNA Data Bank of Japan (DDBJ), adalah anggota dari *International Nucleotide Sequence Database Collaboration* (INSDC). Mereka

menyinkronkan data mereka setiap hari, sehingga mengandung informasi yang pada dasarnya identik (Cochrane et al., 2016). Basis data ini mengarsipkan data sekuens mentah yang diserahkan oleh para peneliti dari seluruh dunia.

Selain arsip primer, ada banyak basis data sekunder dan spesifik organisme yang lebih dikurasi. Basis data ini seringkali mengambil data dari sumber primer dan menambahkannya dengan anotasi manual, data eksperimental, dan alat analisis yang lebih canggih. Untuk komunitas peneliti tanaman, basis data seperti Phytozome (milik Joint Genome Institute) dan Gramene (untuk sereal) sangat berharga. Mereka menyediakan genom tanaman yang telah dirakit dan dianotasi secara konsisten, serta alat untuk perbandingan genom (*comparative genomics*) dan visualisasi (Goodstein et al., 2012). Ada juga basis data yang lebih spesifik lagi untuk spesies tanaman tertentu, seperti The Arabidopsis Information Resource (TAIR) atau MaizeGDB (untuk jagung), yang berfungsi sebagai pusat komunitas untuk semua informasi genetik dan molekuler yang terkait dengan organisme tersebut.

Basis data ini biasanya dapat diakses melalui antarmuka web yang memungkinkan pengguna untuk mencari gen atau sekuens tertentu, mengunduh data, dan menggunakan berbagai alat analisis online. Browser genom, seperti UCSC Genome Browser atau Ensembl, adalah alat visualisasi yang sangat kuat yang memungkinkan pengguna untuk menavigasi di sepanjang kromosom secara interaktif, melihat lokasi gen, data ekspresi, variasi genetik, dan berbagai jenis data genomik lainnya yang dipetakan ke genom referensi (Kent et al., 2002). Kemampuan untuk mengakses dan mengintegrasikan informasi dari berbagai basis

data ini sangat penting untuk merumuskan hipotesis dan merancang eksperimen.

2. Alignmen dan Anotasi Gen

Penyelarasan sekuens atau *sequence alignment* adalah salah satu tugas paling fundamental dalam bioinformatika. Tujuannya adalah untuk mengatur dua atau lebih sekuens untuk memaksimalkan jumlah karakter yang cocok pada setiap posisi. Penyelarasan ini didasarkan pada asumsi bahwa kesamaan yang signifikan antara sekuens menunjukkan kemungkinan adanya nenek moyang bersama (homologi). Ada dua jenis penyelarasan utama. Penyelarasan global (*global alignment*) mencoba untuk menyelaraskan setiap residu dalam setiap sekuens, dan paling sesuai untuk sekuens yang secara umum mirip dan memiliki panjang yang sama. Penyelarasan lokal (*local alignment*), di sisi lain, hanya mencari daerah kesamaan yang paling cocok di antara sekuens dan tidak harus menyelaraskan seluruh panjangnya. Algoritma BLAST yang populer adalah contoh dari penyelarasan lokal (Altschul et al., 1990).

Anotasi genom adalah proses mengidentifikasi dan melabeli elemen fungsional di sepanjang sekuens genom mentah. Ini adalah langkah penting dalam menerjemahkan "huruf" DNA menjadi informasi biologis yang bermakna. Proses anotasi dapat dibagi menjadi anotasi struktural dan anotasi fungsional. Anotasi struktural berfokus pada identifikasi lokasi fisik dari elemen elemen seperti gen (termasuk ekson, intron, dan UTRs), elemen pengatur (promotor, enhancer), dan elemen DNA berulang (Yandell & Ence, 2012). Ini biasanya dilakukan dengan menggunakan kombinasi metode komputasi *ab initio* (prediksi gen berdasarkan sinyal statistik seperti kodon mulai/berhenti dan situs

sambungan) dan metode berbasis bukti (menyelaraskan data sekuens transkrip eksperimental, seperti RNA-Seq atau EST, ke genom).

Anotasi fungsional adalah proses menetapkan fungsi biologis ke gen yang telah diidentifikasi secara struktural. Langkah pertama dalam anotasi fungsional biasanya adalah melakukan pencarian homologi menggunakan BLAST terhadap basis data protein yang fungsinya sudah diketahui. Jika gen baru menunjukkan kesamaan yang kuat dengan protein kinase yang diketahui, misalnya, maka ia dapat secara tentatif dianotasi sebagai protein kinase. Fungsi juga dapat disimpulkan dari identifikasi domain protein yang lestari (menggunakan basis data seperti Pfam) atau dengan memetakan gen ke jalur metabolisme atau ontologi gen (*Gene Ontology*, GO) yang diketahui (Ashburner et al., 2000). Anotasi adalah proses yang dinamis dan berkelanjutan yang terus disempurnakan seiring dengan tersedianya lebih banyak data eksperimental.

3. *Software* Genomik Populer

Ada ekosistem perangkat lunak bioinformatika yang luas, mulai dari alat baris perintah (*command line*) yang kuat hingga antarmuka web yang ramah pengguna, yang tersedia untuk menganalisis data genomik. Untuk analisis dasar, banyak alat tersedia melalui server web, menghilangkan kebutuhan bagi pengguna untuk menginstal perangkat lunak atau memiliki sumber daya komputasi yang besar. Portal NCBI menyediakan akses online ke BLAST, Clustal Omega (untuk penyelarasan ganda), dan berbagai alat lainnya. Browser genom seperti Ensembl Plant dan UCSC Genome Browser juga menawarkan serangkaian alat analisis yang terintegrasi. Analisis yang lebih canggih, terutama yang melibatkan data

NGS, seringkali diperlukan penggunaan perangkat lunak baris perintah yang diinstal pada komputer lokal atau server komputasi berkinerja tinggi. Untuk analisis data NGS mentah, perangkat lunak seperti FastQC digunakan untuk memeriksa kualitas pembacaan sekuens. Alat seperti Trimmomatic atau Cutadapt digunakan untuk memangkas sekuens adaptor dan basa berkualitas rendah (Bolger et al., 2014). Untuk penyelarasan pembacaan pendek ke genom referensi, perangkat lunak seperti BWA (Burrows-Wheeler Aligner) dan Bowtie adalah standar industri (Li & Durbin, 2009). Setelah penyelarasan, alat seperti SAMtools dan GATK (*Genome Analysis Toolkit*) digunakan untuk pemrosesan lebih lanjut, termasuk pemanggilan varian (identifikasi SNP dan indel) (McKenna et al., 2010).

Perakitan genom *de novo* (tanpa referensi), ada berbagai perangkat lunak perakit (*assembler*) yang dirancang untuk jenis data sekuensing yang berbeda (misalnya, SPAdes untuk pembacaan pendek Illumina, Canu untuk pembacaan panjang PacBio/ONT). Di bidang transkriptomik, alur kerja populer melibatkan penyelarasan pembacaan RNA-Seq ke genom menggunakan *aligner* yang sadar-sambungan (*splice-aware*) seperti STAR atau HISAT2, diikuti oleh kuantifikasi ekspresi gen menggunakan alat seperti HTSeq atau featureCounts, dan akhirnya analisis ekspresi diferensial menggunakan paket R/Bioconductor seperti DESeq2 atau edgeR (Love et al., 2014). Meskipun kurva pembelajarannya bisa curam, penguasaan alat baris perintah ini memberikan fleksibilitas dan kekuatan yang jauh lebih besar bagi para peneliti.

C. *Transcriptomics* dan Analisis Ekspresi Gen

Jika genomik memberi tahu kita tentang potensi genetik suatu organisme (buku resep lengkap), maka transkriptomik memberi tahu kita gen mana yang sedang aktif digunakan atau diekspresikan pada waktu dan kondisi tertentu. Transkriptom didefinisikan sebagai keseluruhan set molekul RNA transkrip dalam suatu sel, termasuk RNA pembawa pesan (mRNA), RNA ribosom (rRNA), RNA transfer (tRNA), dan berbagai RNA non-pengkode lainnya. Transkriptomik adalah studi skala besar tentang transkriptom, yang bertujuan untuk mengukur tingkat ekspresi ribuan gen secara bersamaan (Wang et al., 2009). Ini memberikan gambaran yang dinamis tentang respons seluler, karena transkriptom dapat berubah dengan cepat sebagai respons terhadap sinyal perkembangan atau rangsangan lingkungan.

Menganalisis transkriptom sangat penting untuk memahami bagaimana genotipe diterjemahkan menjadi fenotipe. Dengan membandingkan profil transkriptom dari dua kondisi yang berbeda (misalnya, tanaman yang diberi perlakuan stres kekeringan vs tanaman kontrol), para ilmuwan dapat mengidentifikasi gen yang diekspresikan secara diferensial (*Differentially Expressed Genes*, DEGs). Gen yang ekspresinya meningkat (*up-regulated*) atau menurun (*down-regulated*) sebagai respons terhadap stres kemungkinan besar terlibat dalam mekanisme toleransi stres. Informasi ini sangat berharga untuk identifikasi gen fungsional dan untuk memahami jalur pensinyalan biologis (Lowe et al., 2017).

Dua teknologi utama telah mendominasi bidang transkriptomik. Yang pertama adalah *microarray* DNA. *Microarray* adalah chip kaca kecil

di mana ribuan probe DNA untai tunggal yang diketahui (masing masing mewakili satu gen) ditempatkan dalam susunan yang teratur. RNA dari sampel diekstraksi, diubah menjadi cDNA berlabel fluoresen, dan kemudian dihibridisasi ke chip. Intensitas fluoresensi pada setiap titik menunjukkan tingkat ekspresi dari gen yang sesuai (Schena et al., 1995). Teknologi kedua dan yang sekarang lebih dominan adalah sekuensing RNA (*RNA sequencing* atau RNA-Seq). RNA-Seq menggunakan kekuatan NGS untuk secara langsung menyekuensing jutaan fragmen cDNA yang dibuat dari populasi RNA. Jumlah pembacaan sekuens yang memetakan ke setiap gen memberikan ukuran digital yang sangat akurat tentang tingkat ekspresinya (Wang et al., 2009). RNA-Seq telah sebagian besar menggantikan *microarray* karena menawarkan rentang dinamis yang lebih luas, sensitivitas yang lebih tinggi, dan kemampuan untuk menemukan gen baru dan varian transkrip yang tidak ada di *microarray*.

Analogi: Jika genom adalah seluruh koleksi buku resep di perpustakaan, maka transkriptom adalah daftar semua resep yang sedang disalin oleh para koki pada suatu hari tertentu untuk makan siang. Daftar ini akan sangat berbeda jika para koki sedang mempersiapkan sarapan atau makan malam. Analisis ekspresi diferensial adalah seperti membandingkan daftar resep yang disalin pada hari yang panas (stres panas) dengan hari yang sejuk. Anda mungkin menemukan bahwa resep untuk es krim dan salad buah lebih banyak disalin pada hari yang panas, sementara resep untuk sup panas lebih sedikit disalin. Ini memberi tahu Anda resep (gen) mana yang penting untuk menghadapi cuaca panas. Microarray adalah seperti memiliki katalog perpustakaan yang sudah dicetak sebelumnya dan menyorot resep mana yang disalin.

RNA-Seq adalah seperti meminta setiap koki untuk memberikan salinan dari setiap resep yang mereka gunakan dan kemudian menghitung jumlah total salinan untuk setiap resep, memberikan gambaran yang jauh lebih lengkap dan tidak bias.

1. *Microarray* dan RNA-seq

Teknologi *microarray* DNA adalah pendekatan hibridisasi berbasis-chip yang memungkinkan pengukuran ekspresi ribuan gen secara paralel. Prinsipnya adalah dengan menempatkan (*spotting*) ribuan probe DNA untai tunggal yang diketahui, di mana setiap probe mewakili satu gen, ke permukaan padat (biasanya slide kaca) dalam susunan yang teratur. RNA total diekstraksi dari sampel eksperimental (misalnya, perlakuan) dan sampel kontrol, kemudian masing masing diubah menjadi cDNA dan diberi label dengan pewarna fluoresen yang berbeda (misalnya, Cy3-hijau untuk kontrol, Cy5-merah untuk perlakuan). Kedua sampel cDNA berlabel ini kemudian digabungkan dan dihibridisasi ke *microarray* (Schena et al., 1995).

Setelah hibridisasi dan pencucian, *array* dipindai dengan laser pada dua panjang gelombang yang berbeda. Rasio intensitas fluoresensi merah terhadap hijau pada setiap titik diukur. Titik yang berwarna merah menunjukkan bahwa gen tersebut lebih banyak diekspresikan pada sampel perlakuan. Titik yang berwarna hijau menunjukkan ekspresi yang lebih tinggi pada sampel kontrol. Titik yang berwarna kuning menunjukkan ekspresi yang sama pada kedua sampel. Dengan menganalisis ribuan titik ini, peneliti dapat dengan cepat mengidentifikasi gen yang diekspresikan secara diferensial. Meskipun kuat, *microarray* memiliki beberapa keterbatasan, termasuk

ketergantungan pada pengetahuan gen sebelumnya (hanya gen yang ada di *array* yang dapat diukur), rentang dinamis yang terbatas, dan masalah dengan hibridisasi silang.

RNA-Seq telah muncul sebagai alternatif yang lebih unggul. Dalam RNA-Seq, populasi RNA total pertama tama diperkaya untuk mRNA (biasanya dengan menyeleksi ekor poli-A nya). mRNA ini kemudian dipecah menjadi fragmen kecil, diubah menjadi cDNA, dan adaptor sekuensing ditambahkan. Pustaka cDNA ini kemudian disekuensing secara mendalam menggunakan platform NGS (Wang et al., 2009). Pembacaan sekuens yang dihasilkan kemudian diselaraskan dengan genom referensi. Tingkat ekspresi suatu gen kemudian disimpulkan dengan menghitung jumlah pembacaan sekuens yang memetakan ke ekson gen tersebut. RNA-Seq menawarkan beberapa keunggulan dibandingkan *microarray*: ia tidak memerlukan pengetahuan gen sebelumnya, sehingga dapat menemukan gen baru dan varian sambungan (*splicing variants*); ia memiliki rentang dinamis yang jauh lebih luas untuk kuantifikasi; dan memberikan data tingkat nukleotida tunggal yang dapat digunakan untuk mendeteksi SNP dan variasi lainnya.

2. *Differential Expression Analysis*

Tujuan utama dari banyak eksperimen transkriptomik adalah untuk mengidentifikasi *Differentially Expressed Genes* (DEGs), yaitu gen yang menunjukkan perubahan tingkat ekspresi yang signifikan secara statistik antara dua atau lebih kondisi eksperimental. Identifikasi DEG adalah langkah pertama untuk memahami respons molekuler terhadap suatu perlakuan dan untuk menghasilkan hipotesis tentang gen kandidat yang

terlibat dalam suatu proses biologis. Analisis ekspresi diferensial adalah proses statistik untuk menentukan apakah perbedaan yang diamati dalam jumlah pembacaan (untuk RNA-Seq) atau intensitas sinyal (untuk *microarray*) untuk suatu gen benar benar signifikan atau hanya karena kebetulan acak.

Data RNA-Seq, jumlah pembacaan adalah data hitungan diskrit, bukan data kontinu. Oleh karena itu, model statistik yang didasarkan pada distribusi normal (seperti t-test) tidak sesuai. Sebaliknya, alat perangkat lunak khusus yang memodelkan data hitungan menggunakan distribusi seperti distribusi binomial negatif digunakan. Paket perangkat lunak populer untuk analisis DEG dari data RNA-Seq termasuk DESeq2, edgeR, dan limma-voom (Love et al., 2014; Robinson et al., 2010). Program program ini melakukan beberapa langkah penting. Pertama, mereka menormalkan data jumlah pembacaan untuk memperhitungkan perbedaan dalam kedalaman sekuensing total antar sampel. Kedua, mereka memperkirakan variabilitas biologis dalam data. Ketiga, mereka menerapkan uji statistik untuk setiap gen untuk menghitung nilai p, yang merupakan probabilitas untuk mengamati perbedaan sebesar yang teramati (atau lebih besar) secara kebetulan.

Hasil dari analisis DEG biasanya disajikan sebagai "plot gunung berapi" (*volcano plot*). Plot ini memvisualisasikan signifikansi statistik (nilai -log10 dari nilai p yang disesuaikan) pada sumbu y terhadap besarnya perubahan ekspresi (log2 dari *fold change*) pada sumbu x untuk setiap gen. Gen yang terletak di sudut kiri atas dan kanan atas dari plot adalah yang paling menarik, karena mereka menunjukkan perubahan ekspresi yang besar dan signifikan secara statistik. Daftar gen yang diekspresikan secara diferensial ini kemudian dapat digunakan untuk

analisis hilir lebih lanjut, seperti analisis pengayaan jalur (*pathway enrichment analysis*) untuk melihat jalur biologis mana yang paling terpengaruh oleh perlakuan tersebut.

3. Visualisasi Hasil Ekspresi Gen

Setelah analisis statistik selesai dan daftar gen yang diekspresikan secara diferensial (DEG) diperoleh, langkah penting berikutnya adalah memvisualisasikan hasil ini dengan cara yang intuitif dan informatif. Visualisasi yang baik sangat penting untuk menginterpretasikan data yang kompleks, mengidentifikasi pola, dan mengkomunikasikan temuan kepada orang lain. Salah satu visualisasi yang paling umum dan kuat untuk data ekspresi gen dari banyak sampel adalah *heatmap* atau peta panas.

Sebuah *heatmap* adalah representasi grafis dari data di mana nilai nilai individu yang terkandung dalam sebuah matriks direpresentasikan sebagai warna. Dalam konteks transkriptomik, baris dari matriks biasanya mewakili gen, dan kolom mewakili sampel atau kondisi eksperimental. Sel sel dalam *heatmap* diwarnai berdasarkan tingkat ekspresi gen, misalnya, merah untuk ekspresi tinggi dan hijau atau biru untuk ekspresi rendah. Selain itu, baris (gen) dan kolom (sampel) seringkali dikelompokkan bersama berdasarkan kesamaan dalam profil ekspresi mereka menggunakan algoritma klastering hierarkis, yang menghasilkan dendrogram di samping dan di atas *heatmap* (Eisen et al., 1998). *Heatmap* memungkinkan peneliti untuk secara visual mengidentifikasi kelompok gen yang memiliki pola ekspresi yang sama di seluruh kondisi (gen yang diatur bersama atau *co-regulated*) dan untuk melihat bagaimana sampel eksperimental mengelompok bersama.

Visualisasi lain yang telah disebutkan adalah *volcano plot*, yang sangat baik untuk menampilkan hasil analisis ekspresi diferensial dari perbandingan dua kondisi. Plot ini secara efektif menyoroti gen yang paling signifikan secara biologis (perubahan besar) dan statistik (nilai p rendah). Untuk memahami fungsi dari daftar DEG yang panjang, analisis pengayaan ontologi gen (*Gene Ontology enrichment analysis*) sering dilakukan. Hasilnya sering divisualisasikan sebagai grafik batang atau diagram jaringan yang menunjukkan istilah GO biologis mana (seperti "respons terhadap stres" atau "fotosintesis") yang secara signifikan terlalu terwakili dalam daftar gen tersebut. Alat seperti Cytoscape juga dapat digunakan untuk memvisualisasikan jaringan interaksi gen atau protein, membantu menempatkan DEG dalam konteks fungsional yang lebih luas.

D. *Proteomics* dan *Metabolomics*

Sementara genomik dan transkriptomik memberikan informasi tentang potensi dan transkripsi gen, mereka tidak selalu memberikan gambaran lengkap tentang apa yang sebenarnya terjadi di dalam sel. Tingkat mRNA tidak selalu berkorelasi sempurna dengan tingkat protein karena adanya regulasi pada tingkat translasi dan stabilitas protein. Protein adalah molekul fungsional utama di dalam sel, yang melaksanakan sebagian besar tugas biokimia. Proteomik adalah studi skala besar tentang proteom, yaitu keseluruhan set protein yang diekspresikan oleh suatu organisme atau sel pada waktu tertentu (Aebersold & Mann, 2003). Proteomik bertujuan untuk mengidentifikasi, mengkuantifikasi, dan mengkarakterisasi fungsi serta interaksi dari semua protein dalam sampel biologis.

Metabolomik membawa analisis satu langkah lebih jauh ke hilir. Ia adalah studi skala besar tentang metabolom, yaitu keseluruhan set metabolit (molekul kecil seperti gula, asam amino, lipid, dan metabolit sekunder) yang ada di dalam sel atau jaringan. Metabolom dianggap sebagai cerminan paling dekat dari fenotipe biokimia suatu sel karena merupakan produk akhir dari aktivitas gen dan protein serta dipengaruhi langsung oleh lingkungan (Fiehn, 2002). Dengan menganalisis perubahan dalam proteom dan metabolom, para ilmuwan dapat memperoleh wawasan yang lebih dalam tentang bagaimana respons seluler diatur dan bagaimana jalur metabolisme beroperasi. Pendekatan teknologi utama dalam proteomik dan metabolomik adalah spektrometri massa (*mass spectrometry*, MS). Spektrometri massa adalah teknik analitik yang sangat sensitif yang mengukur rasio massa terhadap muatan (m/z) dari ion. Dalam proteomik, protein dari sampel biasanya pertama tama dicerna menjadi peptida yang lebih kecil menggunakan enzim seperti tripsin. Campuran peptida ini kemudian dipisahkan (biasanya dengan kromatografi cair atau *liquid chromatography*, LC) dan dianalisis dengan spektrometer massa (*tandem mass spectrometry*, MS/MS). Spektrum yang dihasilkan kemudian dicocokkan dengan basis data protein teoretis (yang diturunkan dari data genom) untuk mengidentifikasi protein asli (Aebersold & Mann, 2003). Dalam metabolomik, teknik serupa seperti Kromatografi Cair-Spektrometri Massa (LC-MS) dan Kromatografi Gas-Spektrometri Massa (GC-MS) digunakan untuk memisahkan dan mengidentifikasi ratusan hingga ribuan metabolit secara bersamaan. Pendekatan multi-omik yang mengintegrasikan data dari genomik, transkriptomik, proteomik, dan metabolomik menawarkan pandangan biologi sistem yang paling komprehensif.

Analogi: Jika genom adalah buku resep, dan transkriptom adalah resep yang sedang disalin, maka proteom adalah semua koki dan asisten koki (protein) yang benar benar ada di dapur, serta semua peralatan yang mereka gunakan. Metabolom adalah semua bahan mentah (gula, asam amino), bahan setengah jadi, dan hidangan jadi (metabolit) yang ada di dapur pada saat itu. Proteomik adalah seperti melakukan sensus untuk mengidentifikasi setiap koki di dapur, mencari tahu apa spesialisasi mereka, dan melihat dengan siapa mereka bekerja sama. Metabolomik adalah seperti menginventarisasi seluruh isi dapur, mulai dari kantong tepung hingga kue yang baru keluar dari oven. Analisis ini memberikan gambaran paling akurat tentang apa yang sebenarnya sedang "dimasak" atau terjadi di dapur (sel) pada saat itu juga.

1. Pemisahan dan Identifikasi Protein

Langkah pertama dalam sebagian besar analisis proteomik adalah pemisahan campuran protein yang sangat kompleks dari lisat sel. Metode klasik yang masih banyak digunakan untuk pemisahan protein adalah elektroforesis gel dua dimensi (2D-PAGE). Dalam 2D-PAGE, protein pertama tama dipisahkan pada dimensi pertama berdasarkan titik isoelektriknya (pI), yaitu pH di mana protein tidak memiliki muatan netto, menggunakan teknik yang disebut pemfokusan isoelektrik (*isoelectric focusing*). Strip gel yang berisi protein yang telah dipisahkan ini kemudian ditempatkan di atas gel lempengan poliakrilamida dan dipisahkan pada dimensi kedua berdasarkan berat molekulnya menggunakan SDS-PAGE (O'Farrell, 1975). Hasilnya adalah sebuah gel 2D di mana protein terdistribusi sebagai titik titik, dengan setiap titik mewakili satu jenis protein. Dengan membandingkan gel 2D dari sampel kontrol dan perlakuan, titik titik yang menunjukkan perubahan

kelimpahan dapat diidentifikasi. Titik protein yang menarik kemudian dapat dipotong dari gel, dicerna, dan diidentifikasi menggunakan spektrometri massa.

Meskipun kuat secara visual, 2D-PAGE padat karya dan sulit untuk diotomatisasi. Pendekatan proteomik modern yang lebih *high-throughput* seringkali menghindari pemisahan berbasis gel dan menggunakan pendekatan berbasis kromatografi cair, yang dikenal sebagai proteomik "shotgun". Dalam pendekatan ini, seluruh campuran protein dari sampel dicerna menjadi peptida. Campuran peptida yang sangat kompleks ini kemudian dipisahkan menggunakan kromatografi cair multi-dimensi (biasanya kromatografi penukar ion diikuti oleh kromatografi fasa terbalik) yang terhubung langsung ke spektrometer massa (*online* LC-MS/MS) (Link et al., 1999). Metode ini memungkinkan identifikasi ribuan protein dalam satu kali analisis. Untuk kuantifikasi, berbagai strategi pelabelan isotop, seperti iTRAQ atau TMT, dapat digunakan untuk membandingkan kelimpahan protein secara relatif di antara beberapa sampel secara bersamaan.

Setelah peptida dianalisis dengan MS/MS, identifikasi protein dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak pencarian basis data seperti Mascot atau Sequest. Program ini mengambil spektrum fragmentasi eksperimental dari setiap peptida dan membandingkannya dengan spektrum teoretis yang dihasilkan secara *in silico* dari semua peptida yang mungkin ada dalam basis data sekuens protein (yang berasal dari genom yang telah dianotasi). Protein diidentifikasi berdasarkan kecocokan terbaik antara spektrum eksperimental dan teoretis (Eng et al., 1994).

2. LC-MS dan GC-MS

Kromatografi Cair-Spektrometri Massa (LC-MS) dan Kromatografi Gas-Spektrometri Massa (GC-MS) adalah dua platform teknologi utama dalam metabolomik. Keduanya menggabungkan kekuatan pemisahan dari kromatografi dengan kekuatan deteksi dan identifikasi dari spektrometri massa. Pilihan antara LC-MS dan GC-MS bergantung pada sifat kimia dari metabolit yang akan dianalisis. Kromatografi Gas-Spektrometri Massa (GC-MS) sangat cocok untuk analisis senyawa yang mudah menguap (*volatile*) atau dapat dibuat mudah menguap melalui derivatisasi kimia. Dalam GC, sampel disuntikkan ke dalam kolom panjang dan tipis yang dipanaskan. Senyawa yang berbeda akan bergerak melalui kolom dengan kecepatan yang berbeda tergantung pada titik didih dan interaksinya dengan fasa diam kolom, sehingga terpisah satu sama lain. Ketika setiap senyawa keluar dari kolom, ia langsung masuk ke spektrometer massa, di mana ia dibombardir dengan elektron untuk menghasilkan pola fragmentasi ion yang khas, yang berfungsi sebagai "sidik jari" molekuler. Dengan membandingkan waktu retensi (waktu yang dibutuhkan untuk melewati kolom GC) dan spektrum massa dengan standar yang diketahui, metabolit dapat diidentifikasi dan dikuantifikasi (Fiehn et al., 2000). GC-MS sangat baik untuk analisis asam lemak, asam organik, dan beberapa gula.

Kromatografi Cair-Spektrometri Massa (LC-MS) lebih serbaguna dan dapat menganalisis spektrum metabolit yang jauh lebih luas, termasuk senyawa yang tidak mudah menguap dan labil terhadap panas, seperti sebagian besar metabolit sekunder, nukleotida, dan peptida. Dalam LC (atau lebih spesifiknya, HPLC/UPLC), pemisahan terjadi dalam fase cair berdasarkan interaksi yang berbeda dari analit dengan fasa

diam di dalam kolom. Eluen dari kolom LC kemudian disemprotkan ke dalam spektrometer massa melalui antarmuka sumber ionisasi, seperti ionisasi elektrospray (ESI), yang mengubah molekul dari fase cair menjadi ion dalam fase gas tanpa fragmentasi yang signifikan. LC-MS sangat kuat untuk analisis metabolomik global atau *untargeted*, di mana tujuannya adalah untuk mendeteksi sebanyak mungkin metabolit dalam sampel (Dettmer et al., 2007).

3. Pemetaan Jalur Metabolik

Setelah daftar panjang protein atau metabolit yang berubah kelimpahannya berhasil diidentifikasi melalui proteomik atau metabolomik, tantangan berikutnya adalah untuk memahami signifikansi biologis dari perubahan tersebut. Analisis pengayaan jalur (*pathway enrichment analysis*) atau pemetaan jalur metabolisme adalah pendekatan bioinformatika yang sangat penting untuk tujuan ini. Daripada melihat setiap molekul secara terpisah, pendekatan ini menempatkan molekul yang berubah dalam konteks jaringan jalur biokimia yang saling terhubung (Karp et al., 2019). Proses ini biasanya melibatkan penggunaan basis data jalur metabolisme yang telah dikurasi dengan baik, seperti *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) atau MetaCyc. Basis data ini berisi diagram terperinci dari semua jalur metabolisme yang diketahui, yang menunjukkan bagaimana substrat diubah menjadi produk melalui serangkaian reaksi enzimatik. Perangkat lunak analisis jalur (seperti MetaboAnalyst atau VANTED) akan mengambil daftar protein atau metabolit yang diekspresikan secara diferensial dan memetakannya ke basis data jalur ini (Chong et al., 2018).

Perangkat lunak tersebut kemudian melakukan uji statistik (seperti uji hipergeometrik) untuk menentukan jalur metabolisme mana yang secara signifikan "terlalu terwakili" atau diperkaya oleh molekul yang berubah tersebut. Misalnya, jika sebuah eksperimen stres kekeringan menghasilkan peningkatan kadar prolin, sukrosa, dan beberapa asam amino lainnya, analisis jalur mungkin akan menyoroti "jalur metabolisme prolin" dan "jalur sintesis osmolit" sebagai jalur yang paling signifikan terpengaruh. Visualisasi hasil seringkali berupa diagram jalur di mana gen atau metabolit yang berubah ditandai dengan warna, memberikan gambaran visual yang cepat tentang bagian metabolisme mana yang paling aktif merespons perlakuan. Analisis ini membantu mengubah daftar molekul menjadi cerita biologis yang koheren.

E. Aplikasi Genomik dalam Pertanian

Data dan alat yang dihasilkan dari genomik dan "omik" lainnya telah merevolusi hampir setiap aspek penelitian dan perbaikan tanaman. Ketersediaan sekuens genom referensi dan data re-sekuensing dari ribuan varietas telah menjadi sumber daya yang tak ternilai bagi pemulia tanaman dan ahli biologi. Aplikasi dari informasi genomik ini sangat luas, mulai dari identifikasi gen yang mendasari sifat agronomis hingga pengembangan pendekatan pemuliaan yang lebih presisi dan efisien (Varshney et al., 2021). Salah satu aplikasi yang paling langsung adalah identifikasi gen fungsional. Dengan membandingkan genom atau transkriptom dari tanaman dengan fenotipe yang kontras, para ilmuwan dapat dengan cepat mempersempit wilayah genom yang bertanggung jawab atas sifat tersebut. Pemetaan asosiasi skala genom (*Genome-Wide Association Studies*, GWAS), yang mengkorelasikan jutaan SNP di

seluruh genom dengan variasi sifat pada panel plasma nutfah yang beragam, telah menjadi alat yang sangat kuat untuk membedah arsitektur genetik dari sifat kompleks (Buckler et al., 2009). Setelah gen kandidat diidentifikasi, fungsinya dapat divalidasi menggunakan teknik genetika terbalik, termasuk penyuntingan gen.

Teknologi penyuntingan gen, seperti CRISPR-Cas9, sangat bergantung pada informasi genomik. Untuk dapat mengedit suatu gen, sekuens persis dari gen target tersebut harus diketahui. Dengan demikian, sekuens genom referensi yang akurat adalah prasyarat mutlak untuk desain panduan RNA (gRNA) yang presisi dan spesifik (Chen et al., 2019). Genomik juga memungkinkan penilaian efek *off-target* (efek yang tidak diinginkan) dari penyuntingan gen dengan cara menyekuensing seluruh genom dari tanaman yang telah diedit. Aplikasi yang paling transformatif dalam pemuliaan adalah pemetaan marker dan pengembangan pemuliaan berbasis genom. Informasi genomik memungkinkan pengembangan marker SNP berdensitas tinggi yang mencakup seluruh genom. Marker ini digunakan dalam *Marker-Assisted Selection* (MAS) untuk sifat sederhana dan, yang lebih penting, dalam Seleksi Genomik (GS) untuk sifat kompleks. GS menggunakan data marker dari seluruh genom untuk memprediksi kinerja genetik suatu individu, memungkinkan seleksi dilakukan pada tahap bibit berdasarkan DNA saja. Pendekatan ini secara dramatis mempercepat siklus pemuliaan dan meningkatkan laju perolehan genetik, terutama untuk sifat yang sulit diukur seperti hasil panen (Meuwissen et al., 2001; Crossa et al., 2017).

Contoh Kasus: GWAS pada Jagung. Para peneliti di Cornell University dan tempat lain menggunakan panel asosiasi jagung yang terdiri dari sekitar 300 galur yang beragam dan menggenotipenya

dengan ratusan ribu marker SNP. Mereka kemudian menanam panel ini di berbagai lokasi dan mengukur berbagai sifat, termasuk waktu berbunga, tinggi tanaman, dan arsitektur daun. Dengan melakukan GWAS, mereka berhasil mengidentifikasi banyak QTL dan bahkan gen kandidat spesifik yang terkait dengan sifat sifat ini. Misalnya, mereka mengidentifikasi gen yang terkait dengan sudut daun, sebuah sifat penting yang mempengaruhi efisiensi penangkapan cahaya dalam penanaman padat. Pengetahuan ini tidak hanya memberikan wawasan tentang biologi perkembangan jagung tetapi juga menyediakan marker dan target gen yang dapat digunakan oleh pemulia untuk secara rasional merancang varietas jagung yang lebih produktif (Tian et al., 2011).

1. Identifikasi Gen Fungsional

Identifikasi gen yang mengendalikan sifat agronomis penting adalah langkah pertama menuju perbaikan tanaman yang ditargetkan. Genomik telah menyediakan "peta jalan" dan "alat pencarian" yang sangat kuat untuk proses penemuan gen ini. Pendekatan klasik, kloning posisional, dimulai dengan pemetaan pautan kasar untuk mengidentifikasi wilayah QTL yang luas (beberapa cM). Kemudian, melalui analisis populasi yang lebih besar dan pengembangan marker yang lebih padat di wilayah tersebut, QTL dipersempit menjadi interval yang sangat kecil (*fine mapping*). Akhirnya, semua gen yang ada di dalam interval yang telah dipersempit ini diidentifikasi dari sekuens genom referensi dan dievaluasi sebagai gen kandidat berdasarkan fungsi atau pola ekspresinya (Salvi & Tuberosa, 2005).

Pendekatan yang lebih modern dan *high-throughput* adalah pemetaan asosiasi skala genom (GWAS). GWAS memanfaatkan

keragaman alami dan rekombinasi historis dalam koleksi plasma nutfah yang besar. Dengan menggenotipe panel yang beragam ini dengan jutaan SNP dan mengukur fenotipe secara akurat, GWAS dapat menemukan asosiasi statistik antara SNP spesifik dan suatu sifat, seringkali dengan resolusi yang jauh lebih tinggi daripada pemetaan pautan (Buckler et al., 2009). Pendekatan transkriptomik juga sangat berguna untuk identifikasi gen fungsional. Dengan membandingkan profil ekspresi gen antara tanaman yang kontras (misalnya, resisten vs rentan penyakit setelah inokulasi), para ilmuwan dapat mengidentifikasi gen yang diekspresikan secara diferensial yang kemungkinan besar terlibat dalam respons tersebut. Setelah gen kandidat diidentifikasi melalui pendekatan genomik atau transkriptomik apa pun, fungsinya harus divalidasi secara eksperimental. Ini biasanya melibatkan pembuatan mutan *knock-out* (menggunakan CRISPR atau T-DNA insersi) untuk melihat apakah hilangnya gen tersebut menghilangkan sifat, atau membuat tanaman transgenik yang mengekspresikan gen tersebut secara berlebihan (*overexpression*) untuk melihat apakah sifat tersebut ditingkatkan.

2. Genom *Editing*

Penyuntingan genom (*genome editing*) merujuk pada sekelompok teknologi rekayasa molekuler yang memungkinkan para ilmuwan untuk secara tepat mengubah sekuens DNA pada lokasi spesifik di dalam genom. Berbeda dengan rekayasa genetika tradisional yang menyisipkan gen secara acak, penyuntingan genom seperti melakukan "operasi bedah" molekuler pada DNA. Teknologi yang paling terkenal dan banyak digunakan adalah sistem CRISPR-Cas9 (Chen et al., 2019). Sistem ini, yang diadaptasi dari sistem kekebalan bakteri, menggunakan molekul RNA panduan (gRNA) untuk mengarahkan enzim nuklease Cas9 ke

sekuens DNA target yang komplementer. Cas9 kemudian akan memotong untai ganda DNA di lokasi tersebut.

Pemotongan ini memicu mekanisme perbaikan DNA alami sel. Sel dapat memperbaiki potongan tersebut melalui jalur *non-homologous end joining* (NHEJ), yang seringkali tidak sempurna dan dapat menyebabkan insersi atau delesi kecil (indel). Indel ini biasanya mengganggu dan menonaktifkan gen target, sebuah proses yang sangat berguna untuk mempelajari fungsi gen atau untuk menghilangkan sifat yang tidak diinginkan (misalnya, gen yang menyebabkan kerentanan penyakit atau produksi alergen). Alternatifnya, jika sebuah molekul DNA donor dengan sekuens yang diinginkan disediakan, sel dapat menggunakan jalur *homology-directed repair* (HDR) untuk memperbaiki potongan tersebut, yang memungkinkan penyisipan atau penggantian sekuens yang presisi (Schiml et al., 2014).

Informasi genomik sangat penting untuk keberhasilan penyuntingan genom. Sekuens genom referensi yang akurat mutlak diperlukan untuk merancang gRNA yang sangat spesifik untuk gen target dan untuk meminimalkan kemungkinan pemotongan di lokasi lain yang tidak diinginkan (*off-target*). Setelah tanaman diedit, sekuensing genom keseluruhan dapat digunakan untuk memverifikasi bahwa pengeditan yang diinginkan telah terjadi dan untuk memastikan tidak ada mutasi *off-target* yang signifikan. Penyuntingan genom menjanjikan cara yang lebih cepat, lebih presisi, dan berpotensi lebih diterima secara regulasi untuk perbaikan tanaman, yang akan dibahas secara mendalam di Bab 9.

3. Pemetaan Marker dan Breeding Berbasis Genom

Informasi genomik adalah bahan bakar untuk semua pendekatan pemuliaan modern yang berbasis marker. Ketersediaan sekuens genom memungkinkan pengembangan ribuan hingga jutaan marker SNP yang tersebar di seluruh genom. Marker ini adalah landasan untuk pemetaan genetik resolusi tinggi, yang memungkinkan identifikasi QTL dengan presisi yang lebih besar. Semakin akurat sebuah QTL dipetakan, semakin dekat marker yang dapat ditemukan, dan semakin andal marker tersebut untuk digunakan dalam *Marker-Assisted Selection* (MAS). Namun, aplikasi yang paling transformatif dari data genomik padat adalah Seleksi Genomik (*Genomic Selection*, GS). Dalam GS, model prediksi statistik dikembangkan dengan menggunakan populasi "pelatihan" (*training population*) di mana individu individu telah dianalisis untuk genotipe (dengan ribuan marker) dan fenotipe nya. Model ini belajar hubungan antara pola marker di seluruh genom dan kinerja fenotipik. Setelah model "dilatih", ia dapat digunakan untuk memprediksi nilai pemuliaan dari individu baru dalam populasi "seleksi" (*selection population*) hanya berdasarkan data genotipe mereka, tanpa perlu evaluasi fenotipik yang ekstensif (Meuwissen et al., 2001).

GS secara drastis mengubah siklus pemuliaan. Pemulia dapat menyaring ribuan bibit di laboratorium, memilih yang memiliki nilai pemuliaan genomik (GEBV) tertinggi, dan hanya memajukan kandidat terbaik ke tahap uji coba lapangan. Hal ini secara signifikan mengurangi waktu dan biaya yang terkait dengan evaluasi fenotipik skala besar. Dengan GS, siklus pemuliaan dapat diperpendek, dan laju perolehan genetik per unit waktu dapat ditingkatkan secara dramatis, terutama untuk sifat kuantitatif yang kompleks. Pendekatan pemuliaan berbasis

genom ini, yang menggabungkan genomik, fenomik, dan ilmu data, adalah masa depan dari perbaikan tanaman.

F. Rangkuman Bab

- Genomik adalah studi tentang keseluruhan set materi genetik suatu organisme. Genom tanaman sangat bervariasi dalam ukuran dan kompleksitas, seringkali mengandung banyak DNA berulang dan menunjukkan poliploidi, serta terdiri dari genom inti, plastid, dan mitokondria.
- Bioinformatika adalah disiplin ilmu penting yang menggunakan alat komputasi untuk menganalisis data biologis skala besar. Alat dasar termasuk basis data genom (misalnya, GenBank), alat pencarian homologi (BLAST), dan perangkat lunak untuk penyelarasan dan anotasi gen.
- Transkriptomik (studi tentang ekspresi gen melalui *microarray* atau RNA-Seq), Proteomik (studi tentang protein melalui spektrometri massa), dan Metabolomik (studi tentang metabolit melalui LC-MS/GC-MS) memberikan gambaran fungsional yang dinamis tentang bagaimana genom diekspresikan.
- Analisis "omik" memungkinkan identifikasi gen fungsional yang mengendalikan sifat penting dan pemetaan jalur metabolisme yang terpengaruh oleh kondisi tertentu.
- Data genomik, terutama marker SNP berdensitas tinggi, mendorong pendekatan pemuliaan modern seperti penyuntingan genom (CRISPR) dan pemuliaan berbasis genom.

- Seleksi Genomik (GS) menggunakan data marker dari seluruh genom untuk memprediksi kinerja genetik suatu individu, secara dramatis mempercepat siklus pemuliaan untuk sifat kuantitatif yang kompleks.

G. Latihan Mahasiswa

Soal Esai

1. Jelaskan tiga karakteristik utama dari genom tanaman (misalnya, ukuran, DNA berulang, poliploidi) yang membuatnya menantang untuk dipelajari dibandingkan dengan genom prokariota.
2. Anda telah mengisolasi dan menyekuensing sebuah gen baru dari tanaman durian yang Anda duga terlibat dalam produksi aroma buah. Jelaskan bagaimana Anda akan menggunakan alat bioinformatika dasar seperti BLAST dan penyelarasan sekuens ganda untuk membuat hipotesis tentang fungsi gen tersebut.
3. Bandingkan dan kontraskan teknologi *microarray* dan RNA-Seq untuk analisis transkriptomik. Jelaskan mengapa RNA-Seq sekarang sebagian besar dianggap lebih unggul.
4. Apa perbedaan antara proteomik dan metabolomik? Jelaskan bagaimana kedua pendekatan "omik" ini dapat memberikan wawasan yang tidak dapat diperoleh dari analisis genomik atau transkriptomik saja.
5. Jelaskan prinsip dasar di balik Seleksi Genomik (GS). Mengapa GS dianggap sebagai pendekatan yang lebih kuat daripada MAS tradisional untuk perbaikan sifat kuantitatif yang kompleks seperti hasil panen?

Soal Pilihan Ganda

1. Keseluruhan set materi genetik (DNA) dalam suatu organisme disebut...

   A. Proteom

   B. Transkriptom

   C. Genom -V-

   D. Metabolom

2. Alat bioinformatika yang paling umum digunakan untuk membandingkan sekuens DNA atau protein dengan seluruh basis data untuk menemukan kecocokan yang signifikan adalah...

   A. Clustal Omega

   B. FastQC

   C. BLAST -V-

   D. DESeq2

3. Studi skala besar tentang semua molekul mRNA yang diekspresikan dalam sel pada waktu tertentu disebut...

   A. Genomik

   B. Proteomik

   C. Metabolomik

   D. Transkriptomik -V-

4. Teknologi pemisahan dan identifikasi utama yang digunakan dalam proteomik dan metabolomik adalah...

A. Elektroforesis gel agarosa

B. PCR

C. Spektrometri Massa (MS) -V-

D. Sekuensing Sanger

5. Pendekatan pemuliaan modern yang menggunakan ribuan marker di seluruh genom untuk memprediksi nilai pemuliaan total dari suatu individu adalah...

A. Pemuliaan silang balik

B. Seleksi Fenotipik

C. *Marker-Assisted Selection* (MAS)

D. Seleksi Genomik (GS) -V-

6. Pada tanaman, genom yang diwariskan secara maternal (dari induk betina) dan sangat berguna untuk studi filogenetik adalah...

A. Genom inti

B. Genom mitokondria

C. Genom plastid (kloroplas) -V-

D. Genom ribosom

7. Analisis bioinformatika yang bertujuan untuk mengidentifikasi jalur biokimia mana yang paling terpengaruh dalam suatu eksperimen "omik" disebut...

A. Analisis Komponen Utama (PCA)

B. Analisis Pengayaan Jalur (*Pathway Enrichment Analysis*) -V-

C. Pemetaan Asosiasi Skala Genom (GWAS)

D. Perakitan *de novo*

Studi Kasus atau Tugas Kontekstual

Sebuah tim peneliti ingin memahami mekanisme molekuler di balik toleransi salinitas pada tanaman kedelai. Mereka memiliki dua varietas kedelai: satu varietas (Toleran) yang dapat tumbuh dengan baik di tanah dengan kadar garam tinggi, dan satu varietas lain (Rentan) yang pertumbuhannya sangat terhambat. Mereka melakukan eksperimen RNA-Seq pada jaringan akar dari kedua varietas setelah diberi perlakuan garam selama 24 jam.

Berdasarkan skenario ini, jawablah pertanyaan berikut:

1. Tujuan Eksperimen: Apa tujuan utama dari eksperimen RNA-Seq ini? Apa jenis data yang akan mereka peroleh?
2. Analisis Bioinformatika: Setelah mendapatkan data pembacaan sekuens mentah, sebutkan tiga langkah analisis bioinformatika utama yang harus mereka lakukan untuk mendapatkan daftar gen yang diekspresikan secara diferensial (DEG).
3. Interpretasi Hasil: Misalkan hasil analisis menunjukkan bahwa beberapa gen yang terlibat dalam "transportasi ion" dan "biosintesis prolin" secara signifikan lebih tinggi ekspresinya pada varietas Toleran. Apa interpretasi biologis dari temuan ini? Bagaimana informasi ini dapat digunakan lebih lanjut dalam program pemuliaan kedelai?

GLOSARIUM BAB 8

- Genom: Keseluruhan materi genetik (DNA) dari suatu organisme.
- Genomik: Studi tentang struktur, fungsi, evolusi, dan pemetaan genom.
- Bioinformatika: Disiplin ilmu yang menggunakan alat komputasi untuk menganalisis dan menginterpretasikan data biologis.
- NGS (*Next-Generation Sequencing):* Sekelompok teknologi sekuensing DNA yang memungkinkan sekuensing paralel secara masif.
- BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*): Algoritma untuk membandingkan informasi sekuens biologis primer.
- Anotasi Gen: Proses mengidentifikasi lokasi gen dan elemen fungsional lainnya dalam sekuens genom.
- Transkriptomik: Studi skala besar tentang transkriptom (keseluruhan set transkrip RNA) untuk mengukur ekspresi gen.
- RNA-Seq (*RNA Sequencing*): Metode berbasis NGS untuk transkriptomik yang menyekuensing cDNA yang berasal dari RNA.
- Proteomik: Studi skala besar tentang proteom (keseluruhan set protein).
- Metabolomik: Studi skala besar tentang metabolom (keseluruhan set metabolit).
- Spektrometri Massa (*Mass Spectrometry*): Teknik analitik untuk mengukur rasio massa terhadap muatan ion, digunakan secara luas dalam proteomik dan metabolomik.

- GWAS (*Genome-Wide Association Study*): Studi yang menganalisis variasi genetik di seluruh genom pada banyak individu untuk menemukan asosiasi dengan sifat tertentu.
- Penyuntingan Genom (*Genome Editing):* Teknologi untuk membuat perubahan yang tepat dan ditargetkan pada DNA suatu organisme.

BAB 9

CRISPR DAN *EDITING* GEN TANAMAN

Tujuan Pembelajaran

Setelah mempelajari bab ini, mahasiswa diharapkan mampu:

1. Menjelaskan komponen komponen kunci dari sistem CRISPR-Cas9, termasuk peran Cas9, gRNA, dan sekuens PAM.
2. Menguraikan mekanisme molekuler bagaimana sistem CRISPR-Cas9 digunakan untuk menciptakan pemotongan untai ganda yang ditargetkan pada DNA.
3. Membandingkan dan membedakan keunggulan teknologi penyuntingan gen dibandingkan dengan rekayasa genetika transgenik tradisional.
4. Memberikan contoh aplikasi penyuntingan gen dalam pertanian, seperti pengembangan tanaman tahan penyakit dan modifikasi jalur metabolisme.
5. Menganalisis isu etika dan regulasi yang unik terkait dengan tanaman hasil penyuntingan gen.
6. Memahami arah pengembangan teknologi penyuntingan gen di masa depan, termasuk sistem CRISPR varian, *base editing*, dan *prime editing*.

Pendahuluan

Bioteknologi pertanian para ilmuwan terus melakukan penelitian mulai dengan memindahkan seluruh pemuliaan konvensional, kemudian menyalin dan menempelkan rekayasa genetika transgenik. Bab ini membahas kemampuan untuk bertindak sebagai editor teks yang sangat presisi, mampu mengubahnya. Era penyuntingan genom (*genome editing*), sebuah revolusi yang didorong oleh teknologi yang dikenal sebagai CRISPR. CRISPR, singkatan dari *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*, pada awalnya ditemukan sebagai sistem kekebalan adaptif yang cerdas pada bakteri, yang mereka gunakan untuk mengingat dan menghancurkan DNA virus penyerang. Namun, pada tahun 2012, para ilmuwan, terutama Jennifer Doudna dan Emmanuelle Charpentier, berhasil merekayasa ulang sistem ini menjadi alat rekayasa genetika yang sangat kuat, sederhana, dan serbaguna (Jinek et al., 2012). Penemuan ini, yang kemudian dianugerahi Hadiah Nobel Kimia pada tahun 2020, telah secara fundamental mengubah kecepatan dan presisi di mana kita dapat memodifikasi DNA suatu organisme, termasuk tanaman.

Bab ini akan membahas garis depan bioteknologi tanaman, menjelajahi kekuatan dan potensi dari "gunting molekuler" yang dapat diprogram ini, mulai dengan membongkar prinsip kerja sistem CRISPR-Cas9, memahami bagaimana molekul RNA panduan dapat mengarahkan enzim Cas9 untuk memotong DNA di lokasi yang tepat di dalam genom yang luas. Selanjutnya, kita akan membahas bagaimana teknologi ini diimplementasikan pada tanaman dan mengapa ia dianggap sebagai lompatan besar dibandingkan dengan rekayasa transgenik konvensional,

terutama dalam hal presisi dan kemampuannya untuk membuat perubahan kecil tanpa memasukkan DNA asing. Kemudian, kita akan menjelajahi aplikasi nyata dari CRISPR di bidang pertanian yang sudah mulai bermunculan. Dari menciptakan tomat yang tahan lebih lama hingga gandum yang rendah gluten dan padi yang tahan penyakit, penyuntingan gen membuka jalan bagi perbaikan tanaman dengan cara yang lebih cepat dan lebih halus. Tentu saja, seperti halnya teknologi yang kuat lainnya, CRISPR juga menimbulkan pertanyaan etis dan regulasi yang baru dan kompleks. Kita akan membahas bagaimana regulator di seluruh dunia bergulat dengan cara mengklasifikasikan tanaman hasil penyuntingan gen, apakah sama dengan GMO atau lebih mirip dengan produk pemuliaan konvensional. Terakhir, kita akan melihat sekilas ke masa depan, di mana varian baru dari teknologi CRISPR, seperti *base editing* dan *prime editing*, menjanjikan presisi yang lebih tinggi lagi, hingga ke tingkat satu huruf DNA.

A. Prinsip CRISPR-Cas9

Sistem CRISPR-Cas adalah mekanisme pertahanan alami yang ditemukan pada sekitar 50% bakteri dan 90% arkea. Sistem ini berfungsi sebagai semacam "catatan vaksinasi" molekuler, yang memungkinkan sel untuk mengingat dan mempertahankan diri dari serangan virus (bakteriofag) atau plasmid asing di masa depan (Barrangou et al., 2007). Sistem ini terdiri dari dua komponen utama: lokus CRISPR pada genom bakteri dan gen gen yang berasosiasi dengan CRISPR (*Cas genes*), yang mengkode protein Cas. Lokus CRISPR adalah susunan sekuens DNA yang unik, terdiri dari sekuens pengulangan pendek yang identik (*repeats*) yang diselingi oleh sekuens variabel yang

disebut *spacers*. *Spacer* ini ternyata adalah potongan kecil DNA yang diambil dari virus penyerang dari infeksi sebelumnya. Lokus ini berfungsi sebagai "album foto" atau "database" dari penyerang masa lalu. Ketika virus yang sama mencoba menginfeksi lagi, lokus CRISPR ditranskripsi menjadi molekul RNA panjang (pre-crRNA), yang kemudian diproses menjadi beberapa RNA pemandu pendek yang disebut CRISPR RNA (crRNA), di mana setiap crRNA mengandung satu sekuens *spacer* (Brouns et al., 2008).

Setiap crRNA ini kemudian bergabung dengan protein Cas (seperti Cas9) dan molekul RNA lain yang disebut tracrRNA, membentuk sebuah kompleks efektor. crRNA bertindak sebagai pemandu, membawa kompleks tersebut untuk mencari DNA penyerang di dalam sel. Jika crRNA menemukan sekuens DNA pada virus yang cocok (komplementer) dengan sekuens *spacer*-nya, kompleks tersebut akan mengikat DNA virus. Protein Cas9, yang berfungsi sebagai "gunting molekuler", kemudian akan memotong untai ganda DNA virus di lokasi tersebut, secara efektif menghancurkan genom virus dan menggagalkan infeksi (Jinek et al., 2012). Kemampuan sistem ini untuk menggunakan RNA sebagai pemandu untuk menemukan dan memotong sekuens DNA target dengan spesifisitas tinggi inilah yang telah dimanfaatkan oleh para ilmuwan untuk tujuan rekayasa genetika.

Para ilmuwan menyederhanakan sistem alami ini dengan menggabungkan crRNA dan tracrRNA menjadi satu molekul RNA tunggal yang disebut RNA panduan tunggal (*single guide RNA* atau sgRNA). Bagian dari sgRNA ini dapat dirancang di laboratorium agar komplementer dengan hampir semua sekuens DNA target yang diinginkan di dalam genom suatu organisme. Dengan memperkenalkan

protein Cas9 dan sgRNA yang dirancang khusus ke dalam sel (misalnya, sel tanaman), para ilmuwan dapat mengarahkan Cas9 untuk memotong genom sel tersebut di lokasi yang tepat sesuai dengan panduan dari sgRNA (Mali et al., 2013). Ini memberikan alat yang dapat diprogram untuk menciptakan pemotongan untai ganda (*double-strand break*, DSB) yang ditargetkan di hampir semua lokasi di dalam genom.

Analogi: Sistem CRISPR-Cas9 dapat diibaratkan seperti sistem keamanan rudal berpemandu GPS yang sangat canggih. DNA virus adalah pesawat musuh yang masuk. Lokus CRISPR adalah database intelijen yang menyimpan "tanda tangan radar" (*spacer*) dari semua pesawat musuh yang pernah ditemui. Ketika pesawat musuh yang sama terdeteksi lagi, pangkalan akan meluncurkan rudal. Kompleks Cas9-sgRNA adalah rudal tersebut. Protein Cas9 adalah hulu ledak atau misilnya. sgRNA adalah sistem pemandu GPS di dalam rudal tersebut. Koordinat GPS (sekuens pemandu pada sgRNA) telah diprogram untuk menargetkan tanda tangan radar spesifik (sekuens DNA target) dari pesawat musuh. Rudal akan terbang, mencari targetnya, dan ketika koordinatnya cocok, ia akan mengunci dan menghancurkan target (memotong DNA), melindungi kota (sel) dari serangan.

1. Komponen Sistem CRISPR

Sistem CRISPR-Cas9 tipe II dari bakteri *Streptococcus pyogenes*, yang merupakan sistem yang paling banyak dipelajari dan diadaptasi untuk penyuntingan genom, terdiri dari tiga komponen molekuler utama yang diperlukan untuk fungsinya sebagai alat rekayasa genetika. Komponen pertama dan yang paling sentral adalah protein Cas9. Cas9 adalah sejenis enzim endonuklease yang dipandu oleh RNA, yang berarti ia

menggunakan molekul RNA sebagai pemandu untuk menemukan lokasi targetnya di DNA. Protein Cas9 memiliki beberapa domain fungsional, tetapi yang paling penting adalah dua domain nuklease, yaitu HNH dan RuvC, yang masing masing bertanggung jawab untuk memotong satu untai dari heliks ganda DNA (Jinek et al., 2012).

Komponen kedua adalah RNA panduan tunggal (*single guide RNA*, sgRNA atau gRNA). Ini adalah molekul RNA pendek yang dirancang secara artifisial (biasanya sekitar 100 nukleotida) yang memiliki dua bagian fungsional. Bagian pertama adalah sekuens pemandu (*guide sequence*) sepanjang sekitar 20 nukleotida di ujung 5' nya. Sekuens ini dapat disintesis di laboratorium agar komplementer dengan sekuens DNA target yang ingin kita potong di dalam genom. Bagian kedua adalah struktur "perancah" (*scaffold*) yang lebih besar dan lestari, yang berfungsi untuk mengikat protein Cas9. Jadi, gRNA bertindak sebagai jembatan yang menghubungkan enzim Cas9 dengan lokasi DNA target yang spesifik (Cong et al., 2013).

Komponen ketiga adalah sekuens PAM (*Protospacer Adjacent Motif*). PAM adalah sekuens DNA yang sangat pendek (untuk Cas9 dari *S. pyogenes*, sekuensnya adalah 5'-NGG-3', di mana N bisa basa apa saja) yang terletak persis di hilir dari sekuens DNA target pada untai yang tidak komplementer dengan gRNA. Keberadaan sekuens PAM ini mutlak diperlukan agar Cas9 dapat mengikat dan memotong DNA target (Jinek et al., 2012). PAM berfungsi sebagai semacam "tanda pendaratan" atau "sinyal verifikasi" bagi kompleks Cas9-gRNA. Tanpa PAM yang tepat di sebelah target, Cas9 tidak akan memotong, bahkan jika sekuens pemandu gRNA cocok sempurna. Ini adalah mekanisme keamanan bawaan yang digunakan bakteri untuk membedakan antara

DNA asing (yang memiliki PAM) dan DNA dirinya sendiri di lokus CRISPR (yang tidak memiliki PAM). Kebutuhan akan PAM ini menjadi satu satunya batasan utama dalam pemilihan lokasi target untuk penyuntingan CRISPR.

2. Mekanisme Pemotongan DNA

Mekanisme kerja CRISPR-Cas9 untuk penyuntingan genom adalah proses yang terarah. Pertama, protein Cas9 dan gRNA yang dirancang khusus dimasukkan ke dalam sel target. Di dalam inti sel, Cas9 dan gRNA akan bergabung membentuk kompleks ribonukleoprotein (RNP) yang aktif. Kompleks RNP ini kemudian mulai memindai genom sel yang luas untuk mencari lokasi targetnya. Pencarian ini difasilitasi oleh proses difusi dan pengikatan transien di sepanjang DNA. Ketika kompleks RNP menemukan sekuens PAM (misalnya, NGG), ia akan berhenti sejenak dan mencoba untuk "membuka ritsleting" heliks ganda DNA di dekatnya. Ia kemudian akan menguji apakah sekuens DNA pada untai yang terbuka tersebut cocok atau komplementer dengan sekuens pemandu sepanjang 20 nukleotida pada gRNA. Jika ada kecocokan yang sempurna atau hampir sempurna, ikatan hidrogen yang stabil akan terbentuk antara gRNA dan untai DNA target, menciptakan struktur hibrida RNA-DNA yang disebut R-loop (Sternberg et al., 2014).

Pengikatan yang stabil ini memicu perubahan konformasi besar pada protein Cas9, yang mengaktifkan dua domain nukleasenya (HNH dan RuvC). Domain HNH akan memotong untai DNA yang komplementer dengan gRNA (untai target), sementara domain RuvC akan memotong untai yang berlawanan (untai non-target). Kedua pemotongan ini terjadi pada lokasi yang sangat presisi, biasanya 3 hingga

4 pasangan basa di hulu dari sekuens PAM (Jinek et al., 2012). Hasilnya adalah pemotongan untai ganda (*Double-Strand Break*, DSB) yang bersih di lokasi genom yang telah diprogram. Pembuatan DSB yang ditargetkan inilah yang menjadi titik awal untuk semua aplikasi penyuntingan genom.

Setelah DSB dibuat oleh Cas9, nasib dari lokasi yang terpotong tersebut diserahkan kepada mekanisme perbaikan DNA alami sel. Ada dua jalur perbaikan utama. Jalur yang dominan pada sebagian besar sel adalah *Non-Homologous End Joining* (NHEJ). NHEJ adalah jalur perbaikan yang cepat tetapi seringkali tidak akurat, yang pada dasarnya hanya menyambungkan kembali dua ujung DNA yang putus. Proses penyambungan kembali ini seringkali menghasilkan insersi atau delesi (indel) beberapa pasangan basa di lokasi pemotongan. Indel ini dapat menyebabkan pergeseran kerangka baca (*frameshift mutation*) jika terjadi di dalam daerah pengkode gen, yang biasanya menghasilkan protein yang tidak fungsional. Dengan demikian, menargetkan Cas9 ke suatu gen dan membiarkan NHEJ memperbaikinya adalah cara yang sangat efisien untuk menonaktifkan (*knock-out*) gen tersebut. Jalur perbaikan alternatif adalah *Homology-Directed Repair* (HDR), yang akan dibahas lebih lanjut karena kemampuannya untuk melakukan penggantian sekuens yang presisi.

3. Desain gRNA

Keberhasilan dan spesifisitas eksperimen penyuntingan genom CRISPR sangat bergantung pada desain RNA panduan (gRNA) yang baik. Desain gRNA yang cermat bertujuan untuk memaksimalkan aktivitas pemotongan di lokasi target yang diinginkan (*on-target*) sambil

meminimalkan aktivitas pemotongan di lokasi lain yang tidak diinginkan di genom (*off-target*). Proses desain biasanya dimulai dengan mengidentifikasi sekuens gen atau wilayah genom yang ingin ditargetkan menggunakan sekuens genom referensi yang akurat. Langkah pertama adalah mencari semua kemungkinan lokasi target potensial di dalam wilayah tersebut. Lokasi target potensial adalah sekuens sepanjang 20 nukleotida yang terletak persis di hulu dari sekuens PAM yang sesuai (misalnya, NGG untuk SpCas9). Setelah semua lokasi target potensial diidentifikasi, mereka harus dievaluasi berdasarkan dua kriteria utama: potensi efisiensi pemotongan (*on-target activity*) dan potensi efek di luar target (*off-target effects*). Berbagai alat perangkat lunak bioinformatika online (seperti CRISPOR, CHOPCHOP, atau E-CRISP) telah dikembangkan untuk membantu proses ini (Haeussler et al., 2016).

Alat ini menggunakan algoritma yang dilatih pada data eksperimental skala besar untuk memberikan skor prediksi efisiensi untuk setiap gRNA potensial. Algoritma ini mempertimbangkan faktor faktor seperti komposisi nukleotida dari sekuens pemandu dan struktur sekunder potensial dari molekul gRNA. Selain itu, alat desain ini akan melakukan pencarian di seluruh genom untuk menemukan lokasi lain yang memiliki kemiripan sekuens dengan gRNA target. Lokasi potensial di luar target ini diberi skor berdasarkan jumlah dan posisi ketidakcocokan (*mismatches*) antara mereka dan gRNA. Idealnya, seorang peneliti akan memilih gRNA yang memiliki skor efisiensi *on-target* yang tinggi dan jumlah lokasi potensial *off-target* yang signifikan serendah mungkin (Doench, 2018). Biasanya, beberapa gRNA kandidat terbaik dirancang dan diuji secara eksperimental untuk menemukan yang paling efektif dan spesifik untuk aplikasi tertentu.

B. Implementasi CRISPR pada Tanaman

Menerapkan sistem CRISPR-Cas ke dalam sel tanaman untuk tujuan penyuntingan genom melibatkan beberapa langkah kunci, yang menggabungkan prinsip rekayasa genetika dan kultur jaringan. Tantangan utamanya adalah mengirimkan komponen CRISPR (protein Cas9 dan gRNA) ke dalam sel tanaman dan kemudian meregenerasi tanaman utuh dari sel yang telah berhasil diedit. Proses ini sangat mirip dengan proses pembuatan tanaman transgenik yang dibahas di Bab 4, tetapi dengan tujuan akhir yang berbeda, yaitu membuat perubahan kecil yang ditargetkan pada genom asli, bukan menambahkan gen yang sama sekali baru (Zhang et al., 2019). Langkah pertama adalah mengirimkan DNA yang mengkode komponen CRISPR ke dalam sel tanaman. Ini biasanya dilakukan dengan merakit kaset ekspresi untuk protein Cas9 dan gRNA ke dalam vektor biner T-DNA, sama seperti dalam transformasi yang dimediasi *Agrobacterium*. Promotor yang kuat dan konstitutif (seperti CaMV 35S atau promotor ubiquitin jagung) digunakan untuk mendorong ekspresi Cas9 yang tinggi, sementara promotor RNA polimerase III (seperti promotor U6) digunakan untuk mentranskripsi gRNA (Mao et al., 2013). Vektor ini kemudian digunakan untuk mentransformasi jaringan tanaman (seperti kalus, embrio, atau potongan daun) menggunakan metode seperti transformasi yang dimediasi *Agrobacterium* atau *particle bombardment*.

Setelah transformasi, jaringan dikultur pada media seleksi untuk memilih sel yang berhasil menerima DNA CRISPR, dan kemudian diregenerasi menjadi tanaman utuh (tanaman T0) melalui organogenesis atau embriogenesis somatik. Di dalam sel sel tanaman T0 ini, Cas9 dan

gRNA akan diekspresikan, membentuk kompleks RNP yang kemudian akan mencari dan memotong lokasi target di genom. Perbaikan DNA oleh sel akan menghasilkan mutasi yang diinginkan (biasanya indel kecil melalui NHEJ). Karena proses transformasi dan regenerasi dapat menghasilkan mutasi mosaik (beberapa sel diedit, beberapa tidak) atau alel yang berbeda, penting untuk menganalisis generasi berikutnya (T1). Dengan melakukan penyerbukan sendiri pada tanaman T0, mutasi dapat diwariskan dan tanaman T1 yang non-mosaik dan homozigot untuk editan dapat diidentifikasi. Selain itu, pada generasi T1, kaset DNA CRISPR itu sendiri dapat dihilangkan melalui segregasi genetik, menghasilkan tanaman yang telah diedit tetapi tidak lagi mengandung DNA asing (bebas transgen). Ini adalah keuntungan besar dari penyuntingan gen dibandingkan transgenik tradisional (Schaeffer & Nakata, 2015).

Alternatif dari pengiriman DNA adalah dengan mengirimkan kompleks ribonukleoprotein (RNP) Cas9-gRNA yang telah dirakit sebelumnya secara langsung ke dalam sel tanaman, biasanya protoplas. Pendekatan bebas DNA (*DNA-free*) ini menarik karena tidak melibatkan integrasi DNA asing ke dalam genom sama sekali, sehingga berpotensi menghindari klasifikasi sebagai GMO di beberapa yurisdiksi regulasi. Namun, tantangan utama dari pendekatan ini adalah kesulitan dalam meregenerasi tanaman utuh dari protoplas untuk sebagian besar spesies (Woo et al., 2015).

Contoh Kasus: Pengembangan gandum rendah gluten. Penyakit seliak dan sensitivitas gluten adalah masalah kesehatan yang berkembang yang disebabkan oleh reaksi imun terhadap protein gliadin, komponen utama dari gluten gandum. Menggunakan pemuliaan

konvensional untuk menghilangkan semua gliadin hampir tidak mungkin karena ada puluhan hingga ratusan salinan gen gliadin di dalam genom gandum heksaploid yang kompleks. Para peneliti menggunakan CRISPR-Cas9 untuk secara simultan menargetkan dan menonaktifkan banyak anggota dari famili gen α-gliadin. Mereka berhasil mengurangi kandungan gliadin hingga 85% pada galur gandum yang diedit, sambil mempertahankan sifat pemanggangan yang dapat diterima. Proyek ini menunjukkan kekuatan CRISPR untuk memodifikasi sifat poligenik yang kompleks yang sulit ditangani dengan metode lain (Sánchez-León et al., 2018).

1. Target Gen untuk Peningkatan Sifat

Pemilihan gen target yang tepat adalah langkah pertama yang krusial dalam proyek penyuntingan gen. Berkat kemajuan dalam genomik, para ilmuwan sekarang memiliki akses ke sekuens genom lengkap untuk banyak tanaman, memungkinkan identifikasi target dengan presisi tinggi. Target gen dapat dipilih untuk berbagai tujuan perbaikan. Salah satu strategi yang paling umum adalah menonaktifkan (*knock-out*) gen yang memiliki efek negatif. Ini termasuk gen kerentanan (*susceptibility genes*), yaitu gen tanaman yang dieksploitasi oleh patogen untuk memfasilitasi infeksi. Dengan menonaktifkan gen seperti *MLO* pada jelai atau gandum, para ilmuwan telah menciptakan ketahanan spektrum luas yang tahan lama terhadap penyakit embun tepung (*powdery mildew*) (Wang et al., 2014). Target negatif lainnya termasuk gen yang terlibat dalam produksi senyawa antinutrisi atau alergen, atau gen yang membatasi masa simpan. Seperti yang telah disebutkan, menonaktifkan gen polifenol oksidase (PPO) dapat mencegah pencoklatan pada kentang dan apel. Menonaktifkan gen yang terlibat dalam sintesis asam fitat dapat

meningkatkan ketersediaan hayati mineral seperti zat besi dan seng. Strategi penonaktifan gen relatif mudah dicapai dengan CRISPR karena mengandalkan jalur perbaikan NHEJ yang efisien.

Selain menonaktifkan gen, penyuntingan gen juga dapat digunakan untuk memodifikasi fungsi gen dengan cara yang lebih halus. Dengan menggunakan jalur perbaikan HDR dan menyediakan cetakan DNA, dimungkinkan untuk mengubah beberapa basa nukleotida pada gen untuk mengganti alel yang kurang diinginkan dengan alel superior yang diketahui ada pada varietas lain atau kerabat liar. Sebagai contoh, sebuah mutasi titik tunggal pada gen pengatur hasil pada tomat diketahui dapat meningkatkan jumlah cabang pada perbungaan dan secara signifikan meningkatkan hasil. Alel unggul ini dapat secara presisi dimasukkan ke dalam varietas tomat elit menggunakan penyuntingan gen (Rodríguez-Leal et al., 2017). Target lain yang menjanjikan adalah elemen pengatur seperti promotor. Dengan mengedit sekuens promotor, tingkat atau pola ekspresi dari gen yang sudah ada dapat disetel dengan halus untuk mengoptimalkan kinerja tanaman.

2. Transformasi dan Regenerasi

Meskipun tujuan akhir dari penyuntingan gen berbeda dari transgenesis, proses pengiriman komponen CRISPR dan regenerasi tanaman yang diedit sangat bergantung pada metode transformasi dan kultur jaringan yang telah mapan. Metode yang paling umum untuk menghasilkan tanaman yang diedit secara stabil adalah dengan menggunakan transformasi yang dimediasi *Agrobacterium*. Vektor biner dirancang untuk membawa kaset ekspresi untuk Cas9 dan gRNA di dalam T-DNA nya. Vektor ini kemudian digunakan untuk mentransformasi eksplan

tanaman yang sesuai, seperti kalus embriogenik, kotiledon, atau potongan daun (Zhang et al., 2019). Setelah kokultivasi dengan *Agrobacterium*, jaringan tanaman dipindahkan ke media seleksi dan regenerasi. Proses ini seringkali menjadi langkah yang paling membatasi, karena efisiensi transformasi dan regenerasi sangat bervariasi antar spesies dan bahkan antar genotipe dalam satu spesies. Diperlukan protokol kultur jaringan yang dioptimalkan dengan baik untuk mendorong sel sel yang telah ditransformasi untuk beregenerasi menjadi tunas dan akhirnya tanaman utuh. *Particle bombardment* adalah metode transformasi alternatif yang juga umum digunakan, terutama untuk tanaman seperti jagung dan gandum yang secara historis lebih sulit untuk ditransformasi dengan *Agrobacterium*.

Seperti disebutkan sebelumnya, salah satu tujuan penting dalam proses regenerasi adalah untuk akhirnya menghilangkan DNA CRISPR yang terintegrasi dari genom tanaman. Ini biasanya dicapai melalui segregasi Mendel pada generasi berikutnya (T1 atau T2). Tanaman yang beregenerasi (T0) diserbuki sendiri atau disilangkan, dan keturunannya disaring menggunakan PCR untuk mengidentifikasi individu yang telah mewarisi alel yang diedit tetapi tidak lagi membawa kaset T-DNA Cas9/gRNA. Tanaman yang "bebas transgen" ini sangat diinginkan karena mereka hanya mengandung perubahan kecil pada genom asli mereka dan berpotensi untuk menghadapi rintangan regulasi yang lebih ringan di banyak negara (Gao, 2021).

3. Validasi *Editing*

Setelah tanaman putatif yang diedit berhasil diregenerasi, penting untuk memvalidasi secara molekuler bahwa penyuntingan yang diinginkan

benar benar telah terjadi dan untuk mengkarakterisasi sifat dari mutasi yang dihasilkan. Langkah pertama biasanya adalah menyaring sejumlah besar tanaman regeneran untuk mendeteksi keberadaan mutasi di lokasi target. Ini dapat dilakukan dengan mengekstraksi DNA dari setiap tanaman, mengamplifikasi wilayah target menggunakan PCR, dan kemudian menggunakan metode untuk mendeteksi indel kecil. Salah satu metode yang umum adalah analisis peleburan resolusi tinggi (*High Resolution Melting*, HRM) atau penggunaan enzim nuklease (seperti T7E1) yang dapat mengenali dan memotong DNA heterodupleks yang terbentuk ketika alel tipe liar dan alel yang diedit dicampur (Vouillot et al., 2015). Sampel yang menunjukkan adanya mutasi kemudian dianalisis lebih lanjut dengan sekuensing Sanger untuk menentukan sekuens DNA yang tepat dari alel yang diedit. Sekuensing Sanger dapat secara jelas menunjukkan jenis indel (insersi atau delesi) yang telah dibuat oleh perbaikan NHEJ dan apakah mutasi tersebut bersifat homozigot (kedua alel diedit dengan cara yang sama), heterozigot (satu alel diedit, satu tidak), atau bi-alelik (kedua alel diedit, tetapi dengan cara yang berbeda).

Selain memvalidasi editan *on-target*, penting juga untuk menilai potensi editan *off-target*. Meskipun gRNA dirancang untuk spesifik, ada kemungkinan ia dapat mengarahkan Cas9 untuk memotong lokasi lain di genom yang memiliki sekuens yang mirip. Penilaian *off-target* dapat dilakukan dengan pertama tama menggunakan perangkat lunak bioinformatika untuk memprediksi lokasi potensial *off-target* yang paling mungkin. Wilayah wilayah ini kemudian dapat diamplifikasi dengan PCR dan disekuensing untuk mencari mutasi. Pendekatan yang lebih komprehensif dan tidak bias adalah dengan melakukan sekuensing seluruh genom (*Whole Genome Sequencing*, WGS) dari tanaman yang

diedit dan membandingkannya dengan genom tanaman kontrol tipe liar untuk mencari semua mutasi baru yang mungkin terjadi di seluruh genom (Zhang et al., 2018).

C. Keunggulan *Editing* Gen dibanding Transgenik

Teknologi penyuntingan gen seperti CRISPR menawarkan beberapa keunggulan signifikan dibandingkan dengan rekayasa genetika transgenik tradisional, yang membuatnya menjadi alat yang sangat menarik untuk perbaikan tanaman. Perbedaan yang paling fundamental terletak pada sifat perubahan genetik yang dibuat. Transgenesis tradisional melibatkan penyisipan satu atau lebih gen asing (transgen) ke dalam genom tanaman, seringkali di lokasi yang acak. Sebaliknya, penyuntingan gen memungkinkan pembuatan perubahan yang ditargetkan dan presisi pada sekuens DNA asli tanaman itu sendiri, tanpa perlu memasukkan DNA asing secara permanen (Carroll, 2017). Keunggulan utama yang pertama adalah presisi. CRISPR dapat diarahkan untuk memodifikasi gen tertentu atau bahkan satu pasangan basa tunggal di dalam genom yang luas, memberikan tingkat kontrol yang belum pernah terjadi sebelumnya. Hal ini secara signifikan mengurangi kemungkinan mengganggu gen lain atau elemen pengatur di dekat lokasi insersi, yang merupakan risiko dalam transgenesis acak. Presisi ini memungkinkan para ilmuwan untuk secara bersih menonaktifkan gen, mengubah fungsi gen, atau menyetel tingkat ekspresinya.

Keunggulan kedua adalah kemampuan untuk menciptakan perubahan genetik yang tidak dapat dibedakan dari yang terjadi secara alami atau yang diinduksi melalui pemuliaan mutasi konvensional. Dalam banyak kasus, terutama ketika tujuannya adalah penonaktifan gen

melalui indel kecil, produk akhir dari penyuntingan gen tidak mengandung DNA asing. Tanaman yang "bebas transgen" ini secara genetik identik dengan varietas yang bisa saja dihasilkan melalui mutasi alami. Hal ini memiliki implikasi regulasi yang sangat besar. Banyak negara, termasuk Amerika Serikat, Argentina, dan Jepang, telah memutuskan untuk tidak mengatur tanaman yang diedit seperti ini sebagai GMO transgenik, yang berpotensi secara drastis mengurangi waktu dan biaya untuk membawa produk baru ke pasar (Lassoued et al., 2021).

Keunggulan ketiga adalah keserbagunaan dan efisiensinya. Sistem CRISPR relatif mudah untuk dirancang dan diimplementasikan, dan kemampuannya untuk menargetkan beberapa gen secara bersamaan (*multiplexing*) dalam satu eksperimen sangat kuat untuk memodifikasi sifat poligenik yang kompleks atau jalur metabolisme. Hal ini secara dramatis mempercepat laju di mana sifat baru dapat direkayasa dan dievaluasi. Kombinasi presisi, kemampuan untuk menghasilkan produk bebas transgen, dan efisiensi inilah yang menjadikan penyuntingan gen sebagai teknologi yang berpotensi transformatif bagi masa depan pemuliaan tanaman.

Analogi: Jika genom adalah sebuah naskah buku yang sangat panjang, maka rekayasa transgenik tradisional adalah seperti mengambil satu halaman penuh dari buku lain (gen asing) dan menempelkannya secara acak di suatu tempat di dalam naskah Anda. Halaman baru ini mungkin memberikan informasi yang berguna, tetapi penempatannya yang acak bisa saja mengganggu alur cerita di sekitarnya. Penyuntingan gen CRISPR adalah seperti menggunakan fungsi "Cari dan Ganti" yang sangat canggih di perangkat lunak pengolah kata. Anda dapat mencari

satu kata atau bahkan satu huruf spesifik di seluruh naskah dan menggantinya, menghapusnya, atau memperbaikinya tanpa mengubah bagian lain dari teks. Hasil akhirnya adalah naskah yang telah diedit dengan bersih, tanpa ada "halaman tempelan" dari buku lain.

1. Presisi Tinggi dan Minim Off-target

Salah satu keunggulan terbesar dari sistem CRISPR adalah presisinya yang tinggi, yang ditentukan oleh interaksi antara gRNA dan sekuens DNA target. Kecocokan sepanjang 20 nukleotida, dikombinasikan dengan kebutuhan akan sekuens PAM yang berdekatan, memastikan bahwa sistem ini dapat menargetkan lokasi yang unik di dalam genom yang sangat besar (Hsu et al., 2014). Namun, meskipun sangat spesifik, pemotongan di luar target (*off-target*) dapat terjadi jika ada sekuens lain di genom yang sangat mirip dengan sekuens target, biasanya dengan hanya beberapa ketidakcocokan basa.

Meminimalkan efek *off-target* adalah prioritas utama dalam eksperimen penyuntingan gen. Hal ini dicapai melalui beberapa strategi. Pertama, desain gRNA yang cermat menggunakan alat bioinformatika untuk memilih sekuens target yang seunik mungkin di dalam genom. Kedua, penggunaan varian protein Cas9 yang telah direkayasa, seperti Cas9 dengan fidelitas tinggi (*high-fidelity* Cas9 atau HiFi-Cas9) atau Cas9-nickase, yang telah dimodifikasi untuk mengurangi pengikatan non-spesifik atau hanya memotong satu untai DNA pada satu waktu, yang secara signifikan mengurangi frekuensi pemotongan *off-target* (Kleinstiver et al., 2016). Ketiga, membatasi durasi dan jumlah komponen CRISPR di dalam sel, misalnya dengan mengirimkan kompleks RNP secara langsung daripada DNA yang akan diekspresikan secara

terus menerus, dapat mengurangi waktu yang dimiliki Cas9 untuk menemukan dan memotong situs *off-target*. Dengan kombinasi strategi ini, spesifisitas penyuntingan gen dapat mencapai tingkat yang sangat tinggi, membuatnya menjadi alat yang jauh lebih presisi daripada insersi acak pada transgenesis.

2. Penghapusan vs Penambahan Gen

Rekayasa transgenik tradisional pada dasarnya adalah teknologi penambahan gen (*gene addition*), di mana satu atau lebih gen baru dimasukkan ke dalam genom. Sebaliknya, aplikasi yang paling umum dan paling mudah dari CRISPR adalah penghapusan fungsi gen (*gene knockout*) atau penonaktifan gen. Dengan mengarahkan Cas9 untuk memotong di dalam daerah pengkode suatu gen, perbaikan melalui NHEJ yang rawan kesalahan akan menciptakan mutasi indel yang hampir selalu menghasilkan protein yang tidak fungsional. Kemampuan untuk secara bersih dan efisien menonaktifkan gen ini sangat kuat untuk perbaikan tanaman, terutama untuk menghilangkan sifat sifat negatif.

Sementara penonaktifan gen relatif mudah, penggunaan CRISPR untuk penambahan gen yang ditargetkan atau penggantian sekuens yang presisi lebih menantang pada tanaman. Proses ini bergantung pada jalur perbaikan *Homology-Directed Repair* (HDR), yang menggunakan molekul DNA donor sebagai cetakan untuk memperbaiki DSB. HDR secara inheren jauh kurang efisien daripada NHEJ pada sebagian besar sel tanaman (Schiml et al., 2014). Namun, para peneliti terus mengembangkan strategi untuk meningkatkan efisiensi HDR, seperti dengan menekan sementara protein kunci dalam jalur NHEJ atau dengan menyinkronkan pengiriman komponen CRISPR dengan fase siklus sel di

mana HDR paling aktif. Meskipun menantang, keberhasilan dalam penggantian gen yang efisien akan memungkinkan perbaikan yang sangat canggih, seperti memperbaiki alel yang "rusak" atau mengganti promotor asli dengan promotor yang dimodifikasi.

3. Etika dan Penerimaan Publik

Karena penyuntingan gen dapat menciptakan perubahan genetik kecil yang juga dapat terjadi secara alami, teknologi ini telah memicu perdebatan global yang intens tentang bagaimana ia harus diatur dan bagaimana ia diterima oleh publik. Pendukung teknologi ini berpendapat bahwa jika produk akhir dari penyuntingan gen tidak mengandung DNA asing dan perubahan genetiknya dapat terjadi melalui pemuliaan konvensional (meskipun jauh lebih lambat), maka ia tidak boleh diatur dengan kerangka kerja GMO transgenik yang ketat (Huang et al., 2016). Pendekatan ini, yang sering disebut "regulasi berbasis produk", telah diadopsi oleh banyak negara, termasuk AS, Kanada, Argentina, dan Jepang, yang mempercepat jalan menuju pasar untuk produk hasil penyuntingan gen. Di sisi lain, beberapa kelompok masyarakat dan badan pengatur, terutama di Uni Eropa, mengambil pendekatan yang lebih berhati hati. Pada tahun 2018, Mahkamah Eropa memutuskan bahwa semua organisme yang diperoleh melalui teknik mutagenesis baru seperti CRISPR harus tunduk pada peraturan GMO yang ada, yang mencakup evaluasi risiko yang ketat, ketertelusuran, dan pelabelan wajib. Pendekatan "regulasi berbasis proses" ini berargumen bahwa proses penyuntingan gen itu sendiri adalah baru dan berpotensi memiliki risiko yang tidak terduga yang perlu dievaluasi, terlepas dari produk akhirnya (Eriksson et al., 2019). Perbedaan pandangan regulasi ini menciptakan

lanskap global yang terfragmentasi dan merupakan tantangan besar bagi perdagangan dan pengembangan teknologi.

Penerimaan publik terhadap penyuntingan gen masih dalam tahap perkembangan. Beberapa studi menunjukkan bahwa publik mungkin lebih menerima penyuntingan gen daripada transgenesis tradisional, terutama jika teknologinya digunakan untuk tujuan yang dianggap bermanfaat (seperti meningkatkan kesehatan atau keberlanjutan) dan jika produk akhirnya tidak mengandung DNA asing. Namun, transparansi, dialog terbuka, dan tata kelola yang bertanggung jawab akan sangat penting untuk membangun kepercayaan publik terhadap teknologi yang kuat ini (Shew et al., 2018).

D. Aplikasi CRISPR dalam Pertanian

Potensi aplikasi CRISPR-Cas9 untuk perbaikan tanaman pertanian sangat luas dan berkembang dengan cepat. Para peneliti di seluruh dunia sedang menerapkan alat ini untuk meningkatkan berbagai sifat pada berbagai tanaman, mulai dari tanaman komoditas utama hingga tanaman hortikultura dan tanaman yatim. Aplikasi aplikasi ini dapat secara luas dikategorikan menjadi peningkatan ketahanan terhadap stres biotik dan abiotik, peningkatan hasil dan kualitas, serta modifikasi jalur metabolisme. Salah satu area aplikasi yang paling menjanjikan adalah dalam rekayasa ketahanan terhadap penyakit. Seperti yang telah dibahas, menonaktifkan gen kerentanan tanaman (*susceptibility genes*) adalah strategi yang sangat efektif untuk menciptakan ketahanan yang luas dan berpotensi tahan lama. Gen *MLO* (untuk embun tepung), gen *eIF4E* (untuk berbagai virus potyvirus), dan gen lain yang dieksploitasi oleh patogen telah berhasil dinonaktifkan pada berbagai tanaman,

termasuk gandum, padi, tomat, dan mentimun, menghasilkan galur yang sangat resisten (Zaidi et al., 2018). Pendekatan ini dianggap lebih berkelanjutan daripada menggunakan gen resistensi (gen R) tradisional, yang seringkali dapat diatasi oleh evolusi patogen.

Peningkatan hasil adalah tujuan utama lainnya. CRISPR digunakan untuk memodifikasi gen yang mengontrol arsitektur tanaman, waktu berbunga, dan komponen hasil. Dengan menyetel ekspresi atau fungsi gen yang mengatur ukuran buah, jumlah biji, atau tinggi tanaman, para ilmuwan dapat merancang tanaman yang lebih produktif dan lebih sesuai untuk sistem pertanian modern. Selain kuantitas, kualitas juga menjadi target utama. CRISPR telah digunakan untuk mengembangkan kedelai dengan minyak yang lebih sehat, gandum dengan gluten yang dikurangi, tomat dengan masa simpan yang lebih lama, dan padi dengan aroma yang ditingkatkan, menunjukkan kemampuannya untuk menyempurnakan sifat kualitas konsumen (Chen et al., 2019).

Modifikasi jalur metabolisme untuk meningkatkan nilai gizi atau menghilangkan senyawa yang tidak diinginkan adalah area aplikasi penting lainnya. Para peneliti menggunakan *multiplex* CRISPR untuk secara simultan menonaktifkan beberapa gen dalam suatu jalur untuk mengalihkan aliran metabolik ke arah produksi senyawa yang bermanfaat atau untuk menghilangkan produk akhir yang beracun. Seiring dengan semakin matangnya teknologi dan semakin jelasnya jalur regulasi, kita dapat mengharapkan gelombang inovasi produk pertanian berbasis CRISPR yang akan memberikan manfaat nyata bagi petani dan konsumen.

Studi Kasus: Tomat GABA. Tomat adalah salah satu sayuran yang paling banyak dikonsumsi di dunia. Peneliti di Jepang menggunakan CRISPR-Cas9 untuk meningkatkan kandungan Asam Gamma-Aminobutirat (GABA), sebuah asam amino non-protein yang dikenal memiliki efek penurun tekanan darah dan relaksasi pada manusia. Mereka menargetkan dan menonaktifkan domain auto-inhibitor dari enzim kunci dalam jalur biosintesis GABA, yaitu glutamat dekarboksilase. Dengan menghilangkan "rem" internal pada enzim ini, mereka berhasil meningkatkan akumulasi GABA di buah tomat hingga 15 kali lipat. Tomat "Sicilian Rouge High GABA" ini menjadi salah satu produk makanan hasil penyuntingan gen pertama yang dikomersialkan di dunia, diluncurkan di pasar Jepang pada tahun 2021. Kasus ini mencontohkan bagaimana CRISPR dapat digunakan untuk meningkatkan senyawa fungsional yang bermanfaat bagi kesehatan pada tanaman pangan (Nonaka et al., 2017).

1. Tanaman Tahan Penyakit

Rekayasa ketahanan terhadap penyakit adalah salah satu aplikasi CRISPR yang paling menjanjikan dan paling cepat berkembang. Pendekatan tradisional untuk ketahanan penyakit berfokus pada pengenalan gen resistensi (gen R), yang seringkali memicu respons hipersensitif yang cepat untuk menghentikan patogen. Namun, gen R ini seringkali spesifik untuk ras patogen tertentu dan dapat dengan cepat diatasi. CRISPR memungkinkan pendekatan alternatif yang sangat kuat, yaitu dengan menonaktifkan gen kerentanan (*susceptibility* atau *S-genes*) pada tanaman inang (Zaidi et al., 2018). *S-genes* adalah gen tanaman yang secara tidak sengaja membantu patogen selama proses

infeksi, misalnya dengan bertindak sebagai reseptor untuk toksin atau efektor patogen.

Menonaktifkan *S-genes*, tanaman menjadi "tidak ramah" bagi patogen, menciptakan bentuk resistensi yang seringkali bersifat resesif, spektrum luas (efektif terhadap banyak ras patogen), dan berpotensi jauh lebih tahan lama karena patogen tidak berada di bawah tekanan seleksi langsung untuk mengatasi mekanisme pertahanan tanaman. Contoh klasik adalah gen *MLO*. Menonaktifkan gen *MLO* pada berbagai tanaman sereal seperti gandum dan jelai telah terbukti memberikan ketahanan yang hampir lengkap terhadap penyakit embun tepung (Wang et al., 2014). Selain menonaktifkan gen tanaman, CRISPR juga dapat digunakan untuk secara langsung menargetkan genom patogen itu sendiri. Para peneliti sedang mengembangkan strategi di mana tanaman direkayasa untuk mengekspresikan sistem CRISPR-Cas yang dirancang untuk mengenali dan memotong genom virus DNA atau jamur patogen yang menginfeksi tanaman. Pendekatan "imunisasi genetik" ini berpotensi untuk memberikan perlindungan yang sangat spesifik dan kuat terhadap berbagai penyakit (Mahas et al., 2019).

2. Penyuntingan Jalur Metabolik

Jalur metabolisme di dalam tanaman adalah jaringan reaksi biokimia yang kompleks yang bertanggung jawab untuk sintesis ribuan senyawa, dari metabolit primer dasar hingga metabolit sekunder yang beragam. Penyuntingan gen dengan CRISPR memberikan alat yang sangat presisi untuk merekayasa jalur jalur ini untuk tujuan tertentu. Salah satu aplikasinya adalah untuk meningkatkan produksi senyawa yang bermanfaat. Dengan menonaktifkan gen pada jalur yang bersaing atau

dengan mengedit promotor untuk meningkatkan ekspresi gen enzimatik kunci, aliran metabolik dapat diarahkan untuk memaksimalkan akumulasi produk target, seperti vitamin, antioksidan, atau obat obatan (Luo et al., 2020). Aplikasi lain yang penting adalah untuk menghilangkan senyawa yang tidak diinginkan atau beracun. Banyak tanaman pangan secara alami mengandung senyawa antinutrisi (seperti asam fitat) atau toksin. Singkong, misalnya, menghasilkan glikosida sianogenik yang dapat melepaskan sianida beracun jika tidak diolah dengan benar. Para ilmuwan menggunakan CRISPR untuk menonaktifkan gen kunci dalam jalur biosintesis senyawa ini, seperti gen *CYP79D1/D2* pada singkong, untuk menciptakan varietas yang secara inheren lebih aman untuk dikonsumsi (Juma et al., 2022).

Kemampuan *multiplexing* CRISPR, yaitu menargetkan beberapa gen secara bersamaan, sangat kuat untuk rekayasa jalur metabolisme. Seringkali, untuk mencapai perubahan yang signifikan, diperlukan modifikasi pada beberapa langkah enzimatik dalam suatu jalur. Dengan merancang beberapa gRNA dalam satu konstruksi, para ilmuwan dapat secara simultan menonaktifkan atau memodifikasi beberapa gen, memungkinkan rekayasa jalur yang kompleks dengan cara yang jauh lebih efisien daripada pendekatan gen tunggal. Hal ini membuka jalan bagi desain rasional metabolisme tanaman untuk menghasilkan produk baru atau meningkatkan sifat yang ada.

3. Studi Kasus (Tomat, Padi, Jagung)

Selain tomat GABA dan gandum rendah gluten, CRISPR telah berhasil diterapkan pada hampir semua tanaman pertanian utama. Pada tomat, para peneliti telah menggunakan CRISPR untuk merekayasa berbagai

sifat. Untuk meningkatkan hasil, mereka mengedit promotor dari gen yang mengontrol jumlah organ bunga, menghasilkan lebih banyak buah per tandan. Mereka juga menonaktifkan gen yang mengontrol bentuk buah dan ukuran tanaman untuk menciptakan varietas yang lebih kompak dan cocok untuk pertanian perkotaan atau panen mekanis (Rodríguez-Leal et al., 2017). Selain itu, untuk meningkatkan masa simpan, gen yang terlibat dalam pematangan dan biosintesis etilen telah dinonaktifkan.

Padi, fokus utama adalah pada peningkatan hasil dan ketahanan stres. Para ilmuwan telah menggunakan CRISPR untuk secara bersamaan menonaktifkan tiga gen yang diketahui memiliki efek negatif pada hasil (seperti gen yang membatasi ukuran biji dan jumlah anakan), menghasilkan peningkatan hasil yang signifikan pada beberapa varietas (Zhou et al., 2019). Ketahanan terhadap penyakit hawar daun bakteri, salah satu penyakit padi yang paling merusak, telah berhasil ditingkatkan dengan mengedit promotor dari gen kerentanan *SWEET* untuk mencegah patogen membajak transportasi gula dari tanaman.

Jagung, CRISPR digunakan untuk meningkatkan ketahanan terhadap kekeringan dan kualitas nutrisi. Para peneliti telah menonaktifkan gen yang membuat tanaman lebih sensitif terhadap asam absisat (hormon stres), menghasilkan tanaman yang menunjukkan peningkatan toleransi kekeringan. Untuk kualitas, upaya telah difokuskan pada peningkatan kadar provitamin A dengan mengedit gen dalam jalur biosintesis karotenoid dan mengurangi kadar asam fitat untuk meningkatkan ketersediaan mineral. Studi kasus pada tanaman tanaman pokok ini menunjukkan keserbagunaan dan potensi besar dari

penyuntingan gen untuk mengatasi berbagai tantangan dalam pertanian modern.

E. Masa Depan Teknologi *Editing* Gen

Bidang penyuntingan gen berkembang dengan kecepatan yang luar biasa. Meskipun CRISPR-Cas9 telah menjadi sistem yang paling populer, para ilmuwan terus menemukan dan merekayasa sistem CRISPR baru dengan karakteristik yang berbeda dan berpotensi lebih unggul. Sistem CRISPR-Cas12a (sebelumnya dikenal sebagai Cpf1), misalnya, memiliki beberapa perbedaan yang menarik. Ia mengenali sekuens PAM yang berbeda (kaya akan T), yang memperluas jangkauan lokasi target yang dapat diedit. Ia juga menghasilkan potongan "lengket" (*staggered cut*) yang berbeda dari potongan "tumpul" (*blunt cut*) Cas9, yang mungkin lebih menguntungkan untuk beberapa aplikasi HDR (Zetsche et al., 2015). Berbagai protein Cas lainnya dengan ukuran, spesifisitas, dan fungsi yang berbeda terus ditemukan dari alam, menyediakan "kotak perkakas" penyuntingan gen yang semakin beragam.

Selain menemukan sistem baru, terobosan besar datang dari rekayasa sistem yang sudah ada untuk menciptakan fungsi yang sama sekali baru, melampaui sekadar memotong DNA. Dua inovasi yang paling signifikan adalah *base editing* (penyuntingan basa) dan *prime editing* (penyuntingan utama). *Base editing* adalah teknologi yang memungkinkan perubahan satu huruf DNA (misalnya, mengubah C menjadi T, atau A menjadi G) secara langsung di lokasi target tanpa membuat pemotongan untai ganda (Komor et al., 2016). Ini dicapai dengan menggabungkan versi Cas9 yang "mati" secara katalitik (dCas9), yang masih dapat mengikat DNA target tetapi tidak dapat

memotongnya, dengan enzim deaminase yang dapat mengubah satu basa menjadi basa lain. Karena tidak ada DSB yang dibuat, *base editing* jauh lebih efisien daripada HDR untuk membuat perubahan titik yang presisi dan memiliki frekuensi indel yang jauh lebih rendah.

Prime editing adalah teknologi yang lebih baru dan lebih serbaguna lagi. Ia juga menggunakan Cas9 yang dimodifikasi (nickase, yang hanya memotong satu untai) yang digabungkan dengan enzim *reverse transcriptase*. Sistem ini menggunakan RNA panduan yang diperpanjang (pegRNA) yang tidak hanya menentukan lokasi target tetapi juga membawa cetakan RNA untuk editan baru yang diinginkan. Setelah mengikat target, *prime editor* akan memotong satu untai DNA dan kemudian menggunakan cetakan RNA untuk secara langsung mensintesis untai DNA baru dengan editan tersebut. *Prime editing* secara teoritis dapat melakukan semua jenis substitusi basa, serta insersi dan delesi kecil, dengan presisi tinggi dan produk sampingan yang minimal (Anzalone et al., 2019). Teknologi teknologi canggih ini menjanjikan tingkat kontrol yang lebih tinggi lagi atas genom, membuka kemungkinan baru untuk perbaikan tanaman dan terapi gen.

Arah riset dan komersialisasi di masa depan akan berfokus pada peningkatan efisiensi pengiriman komponen penyuntingan gen ke tanaman (terutama untuk pendekatan bebas DNA), meningkatkan efisiensi HDR, dan menerapkan teknologi ini pada lebih banyak spesies tanaman, terutama tanaman yatim yang penting secara lokal. Mengatasi hambatan regulasi dan memastikan penerimaan publik melalui transparansi dan keterlibatan juga akan menjadi kunci untuk mewujudkan potensi penuh dari revolusi penyuntingan gen ini bagi pertanian global.

Analogi: Jika CRISPR-Cas9 adalah seperti fungsi "Cari dan Hapus" pada pengolah kata, maka teknologi masa depan adalah sebagai berikut. Sistem CRISPR varian baru adalah seperti memiliki berbagai merek pengolah kata (Microsoft Word, Google Docs), masing masing dengan fitur dan pintasan uniknya sendiri. *Base editing* adalah seperti menggunakan kursor untuk pergi ke satu huruf yang salah ketik (misalnya, 'e') dan secara langsung mengetik huruf yang benar ('a') di atasnya tanpa harus menghapus dan mengetik ulang seluruh kata. Ini sangat presisi dan efisien untuk perbaikan kecil. *Prime editing* adalah seperti fungsi "Cari dan Ganti" yang sangat canggih yang tidak hanya dapat mengganti satu kata dengan kata lain, tetapi juga dapat menyisipkan kata baru di tengah kalimat atau menghapus beberapa kata dengan rapi. Ini adalah alat pengeditan yang paling serbaguna dan canggih dalam kotak perkakas editor genom.

1. CRISPR-Cas Varian Baru

Penemuan sistem CRISPR-Cas tidak berhenti pada Cas9 dari *Streptococcus pyogenes*. Para ilmuwan telah menjelajahi keanekaragaman mikroba yang luas dan menemukan berbagai protein Cas lain dengan sifat yang unik, memperluas "kotak perkakas" penyuntingan genom. Salah satu varian yang penting adalah Cas12a (sebelumnya Cpf1). Cas12a berbeda dari Cas9 dalam beberapa hal: ia hanya memerlukan satu crRNA (tidak perlu tracrRNA), ia mengenali sekuens PAM yang kaya akan T (TTTV), dan ia menghasilkan potongan untai ganda yang "lengket" atau tidak rata, yang dapat berguna untuk penyisipan gen melalui HDR (Zetsche et al., 2015).

Varian lain yang menarik adalah Cas13, yang secara unik menargetkan RNA, bukan DNA. Sistem CRISPR-Cas13 dapat diprogram untuk mengenali dan memotong molekul RNA spesifik di dalam sel (Abudayyeh et al., 2017). Ini membuka berbagai kemungkinan aplikasi, seperti menekan ekspresi gen secara transien tanpa mengubah genom secara permanen (mirip RNAi tetapi berpotensi lebih spesifik), mengedit RNA untuk memperbaiki transkrip yang salah, dan sebagai alat diagnostik yang sangat sensitif untuk mendeteksi virus RNA seperti SARS-CoV-2.

Selain itu, para peneliti terus menemukan protein Cas yang lebih kecil, seperti Cas12f (sebelumnya Cas14) atau CasΦ, yang ukurannya jauh lebih kecil dari Cas9. Ukuran yang kecil ini merupakan keuntungan besar untuk pengiriman ke dalam sel, terutama untuk aplikasi terapi gen pada manusia di mana vektor virus memiliki kapasitas muatan yang terbatas (Harrington et al., 2018). Penemuan dan rekayasa varian Cas baru ini secara terus menerus memperluas fleksibilitas dan jangkauan teknologi penyuntingan genom.

2. *Prime Editing* dan *Base Editing*

Base editing dan *prime editing* adalah dua penyempurnaan dari sistem CRISPR yang memungkinkan perubahan DNA yang sangat presisi tanpa perlu membuat pemotongan untai ganda (DSB) yang berisiko. *Base editor* adalah mesin molekuler fusi yang terdiri dari tiga bagian: (1) protein Cas yang "mati" secara katalitik (dCas9) atau "nickase" (nCas9) yang berfungsi untuk mengikat DNA target, (2) enzim deaminase yang dapat mengubah satu basa menjadi basa lain (misalnya, sitidin deaminase mengubah C menjadi U, yang kemudian diperbaiki oleh sel

menjadi T), dan (3) inhibitor urasil glikosilase (UGI) yang melindungi basa U yang baru terbentuk dari mekanisme perbaikan sel (Komor et al., 2016). Ada dua kelas utama *base editor*: sitosin *base editor* (CBE) yang mengubah pasangan C•G menjadi T•A, dan adenin *base editor* (ABE) yang mengubah pasangan A•T menjadi G•C (Gaudelli et al., 2017). Karena tidak ada DSB, *base editing* menghasilkan frekuensi indel yang sangat rendah dan sangat efisien untuk membuat mutasi titik yang ditargetkan.

Prime editing adalah teknologi yang lebih canggih lagi, yang digambarkan sebagai "mesin tik molekuler" atau "cari dan ganti" untuk DNA. Sistem ini menggunakan nCas9 yang digabungkan dengan enzim *reverse transcriptase* (enzim yang dapat membuat DNA dari cetakan RNA). Komponen kuncinya adalah RNA panduan yang diperpanjang yang disebut *prime editing guide RNA* (pegRNA). pegRNA ini tidak hanya mengarahkan editor ke lokasi target, tetapi juga mengandung sekuens cetakan RNA yang membawa informasi genetik baru yang ingin dituliskan ke dalam genom (Anzalone et al., 2019). Prosesnya adalah sebagai berikut: nCas9 memotong satu untai DNA, ujung untai yang terpotong ini kemudian digunakan sebagai primer bagi *reverse transcriptase* untuk menyalin informasi dari cetakan pegRNA langsung ke untai DNA tersebut. *Prime editing* secara teoritis dapat melakukan semua 12 kemungkinan substitusi basa-ke-basa, serta insersi dan delesi kecil, menjadikannya alat yang sangat serbaguna dan presisi.

3. Arah Riset dan Komersialisasi

Arah riset di bidang penyuntingan gen tanaman bergerak di beberapa front. Salah satu fokus utama adalah meningkatkan efisiensi

penyuntingan, terutama untuk HDR yang masih menjadi tantangan. Strategi baru untuk meningkatkan HDR, seperti menggunakan penghambat jalur NHEJ atau mengoptimalkan desain cetakan donor, terus dieksplorasi. Fokus lain adalah memperluas penerapan teknologi ini ke lebih banyak spesies tanaman, terutama tanaman poliploid yang kompleks dan tanaman yatim piatu yang secara historis terabaikan oleh penelitian.

Riset juga berfokus pada peningkatan kemampuan *multiplexing*, yaitu mengedit banyak gen secara bersamaan dengan efisiensi tinggi. Ini sangat penting untuk merekayasa sifat kuantitatif yang kompleks atau seluruh jalur metabolisme. Di sisi komersialisasi, beberapa produk tanaman hasil penyuntingan gen pertama telah mulai memasuki pasar, terutama di negara negara dengan jalur regulasi yang lebih jelas. Ini termasuk kedelai tinggi oleat, jamur yang tidak mudah coklat, dan tomat GABA. Kecepatan komersialisasi akan sangat bergantung pada evolusi kerangka kerja regulasi di seluruh dunia, terutama di pasar besar seperti Uni Eropa dan Cina.

Penerimaan publik dan sosial juga akan menjadi faktor penentu. Komunikasi yang jelas tentang perbedaan antara penyuntingan gen dan transgenesis tradisional, serta manfaat nyata dari produk bagi konsumen dan lingkungan, akan sangat penting. Ke depan, kita mungkin akan melihat lebih banyak produk yang berfokus pada peningkatan gizi, kesehatan, dan keberlanjutan. Selain itu, ada minat yang besar dalam menggunakan penyuntingan gen untuk "de-domestikasi" atau domestikasi ulang kerabat liar dari tanaman budidaya, sebuah pendekatan untuk secara cepat menciptakan tanaman baru yang

menggabungkan ketahanan dari kerabat liar dengan produktivitas dari tanaman modern (Zsögön et al., 2017).

F. Rangkuman Bab

- Sistem CRISPR-Cas9 adalah alat penyuntingan genom yang diadaptasi dari sistem kekebalan bakteri, yang menggunakan RNA panduan (gRNA) untuk mengarahkan enzim nuklease Cas9 agar memotong DNA di lokasi target yang spesifik.
- Komponen kunci sistem ini adalah protein Cas9 (gunting molekuler), gRNA (pemandu GPS), dan sekuens PAM (sinyal pendaratan) yang diperlukan untuk pengenalan target.
- Implementasi pada tanaman biasanya melibatkan pengiriman komponen CRISPR melalui *Agrobacterium* atau *particle bombardment*, diikuti oleh regenerasi melalui kultur jaringan dan seringkali segregasi untuk menghilangkan DNA CRISPR pada generasi berikutnya.
- Penyuntingan gen lebih presisi daripada transgenesis tradisional, dapat menciptakan perubahan genetik tanpa memasukkan DNA asing (bebas transgen), dan lebih efisien untuk menonaktifkan gen atau menargetkan banyak gen sekaligus.
- Aplikasi utama di bidang pertanian meliputi pengembangan tanaman tahan penyakit (dengan menonaktifkan gen kerentanan), modifikasi jalur metabolisme (untuk meningkatkan gizi atau menghilangkan toksin), dan peningkatan hasil.
- Masa depan teknologi ini terletak pada pengembangan sistem varian baru (seperti Cas12a, Cas13) dan teknologi yang lebih presisi seperti

base editing (mengubah satu huruf DNA) dan *prime editing* (melakukan "cari dan ganti" pada DNA) tanpa membuat pemotongan untai ganda.

G. Latihan Mahasiswa

Soal Esai

1. Jelaskan tiga komponen utama dari sistem CRISPR-Cas9 (Cas9, gRNA, PAM) dan uraikan peran masing masing dalam mekanisme pemotongan DNA yang ditargetkan.
2. Bandingkan dan kontraskan rekayasa genetika menggunakan transgenesis tradisional dengan penyuntingan genom menggunakan CRISPR. Jelaskan tiga keunggulan utama dari CRISPR.
3. Anda ingin menciptakan varietas kentang yang tidak mengalami pencoklatan enzimatik setelah dipotong. Jelaskan strategi penyuntingan gen yang akan Anda gunakan. Sebutkan gen target potensial dan jelaskan mengapa menonaktifkannya akan mencapai tujuan Anda.
4. Perdebatan regulasi tentang tanaman hasil penyuntingan gen sangat intens. Jelaskan dua pendekatan regulasi utama yang berbeda di dunia (berbasis produk vs berbasis proses) dan diskusikan implikasi dari setiap pendekatan terhadap inovasi dan perdagangan.
5. Apa perbedaan fundamental antara *base editing* dan *prime editing* dibandingkan dengan sistem CRISPR-Cas9 standar? Jelaskan mengapa kedua teknologi baru ini dianggap sebagai kemajuan besar dalam presisi penyuntingan genom.

Soal Pilihan Ganda

1. Dalam sistem CRISPR-Cas9, molekul yang berfungsi sebagai pemandu untuk membawa enzim Cas9 ke lokasi DNA target yang spesifik adalah...

   A. Protein Cas9

   B. Sekuens PAM

   C. RNA panduan (gRNA) -V-

   D. DNA donor

2. Jalur perbaikan DNA yang dominan setelah pemotongan oleh Cas9 dan seringkali menghasilkan mutasi indel kecil yang menonaktifkan gen adalah...

   A. *Homology-Directed Repair* (HDR)

   B. *Non-Homologous End Joining* (NHEJ) -V-

   C. Rekombinasi Homolog

   D. Transkripsi Balik

3. Salah satu keuntungan utama dari penyuntingan gen dibandingkan transgenesis adalah kemampuannya untuk...

   A. Memasukkan gen dari spesies yang sangat berbeda

   B. Menciptakan perubahan genetik tanpa perlu memasukkan DNA asing secara permanen -V-

   C. Selalu meningkatkan hasil panen secara signifikan

   D. Bekerja tanpa memerlukan kultur jaringan

4. Menonaktifkan gen *MLO* pada tanaman gandum menggunakan CRISPR adalah strategi untuk menciptakan...

   A. Ketahanan terhadap kekeringan

   B. Ketahanan terhadap penyakit embun tepung -V-

   C. Kandungan gluten yang lebih tinggi

   D. Masa simpan yang lebih lama

5. Teknologi penyuntingan gen yang memungkinkan perubahan satu pasangan basa (misalnya, C ke T) tanpa membuat pemotongan untai ganda adalah...

   A. *Prime Editing*

   B. CRISPR-Cas12a

   C. *Base Editing* -V-

   D. Transgenesis

6. Sekuens DNA pendek (seperti NGG) yang terletak di dekat lokasi target dan mutlak diperlukan untuk pengikatan dan pemotongan oleh Cas9 disebut...

   A. gRNA

   B. T-DNA

   C. PAM -V-

   D. UTR

7. Pendekatan "bebas transgen" yang paling diinginkan dalam penyuntingan gen tanaman biasanya dicapai dengan...

A. Menggunakan *Agrobacterium* untuk transformasi

B. Menghilangkan kaset DNA CRISPR melalui segregasi genetik pada generasi berikutnya -V-

C. Menggunakan promotor yang lemah

D. Hanya menargetkan genom kloroplas

Studi Kasus atau Tugas Kontekstual

Penyakit busuk batang yang disebabkan oleh jamur *Sclerotinia sclerotiorum* adalah masalah besar pada tanaman kedelai yang menyebabkan kerugian hasil yang signifikan. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa sebuah gen pada kedelai yang disebut *GmSusc1* (Gen Kerentanan Kedelai 1) dieksploitasi oleh jamur tersebut untuk memulai infeksi.

Anda adalah seorang ilmuwan di sebuah perusahaan benih yang ingin mengembangkan varietas kedelai elit tahan busuk batang menggunakan teknologi CRISPR.

1. Strategi Penyuntingan: Jelaskan secara spesifik strategi CRISPR apa yang akan Anda gunakan untuk gen *GmSusc1* dan mengapa.
2. Desain gRNA: Bagaimana Anda akan mendesain gRNA yang efisien dan spesifik untuk menargetkan gen *GmSusc1*? Sebutkan setidaknya dua kriteria penting yang akan Anda pertimbangkan dalam desain tersebut.
3. Manfaat dan Regulasi: Jelaskan mengapa pendekatan CRISPR ini mungkin lebih disukai daripada mencoba membuat kedelai transgenik yang mengekspresikan gen antijamur. Diskusikan secara

singkat bagaimana produk akhir Anda mungkin akan diatur di Amerika Serikat dibandingkan dengan di Uni Eropa.

GLOSARIUM BAB 9

- CRISPR (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*): Wilayah pada genom bakteri yang mengandung sekuens DNA dari virus masa lalu, bagian dari sistem kekebalan adaptif.
- Cas9: Enzim endonuklease (gunting DNA) yang dipandu oleh RNA, komponen utama dari sistem penyuntingan gen CRISPR yang paling umum.
- gRNA (*guide* RNA): Molekul RNA rekayasa yang memandu protein Cas9 ke lokasi DNA target yang spesifik.
- PAM (*Protospacer Adjacent* Motif): Sekuens DNA pendek yang harus ada di dekat lokasi target agar Cas9 dapat memotong.
- DSB (*Double-Strand Break*): Pemotongan pada kedua untai heliks ganda DNA, yang memicu mekanisme perbaikan sel.
- NHEJ (*Non-Homologous End Joining*): Jalur perbaikan DNA utama yang seringkali tidak akurat dan menghasilkan indel, efektif untuk menonaktifkan gen.
- HDR (*Homology-Directed Repair*): Jalur perbaikan DNA yang lebih presisi yang menggunakan cetakan DNA donor, memungkinkan penggantian atau penyisipan sekuens.
- Penyuntingan Gen (*Genome Editing):* Teknologi untuk membuat perubahan yang tepat dan ditargetkan pada sekuens DNA suatu organisme.

- *Base Editing:* Teknologi turunan CRISPR yang dapat mengubah satu basa DNA menjadi basa lain tanpa membuat DSB.
- *Prime Editing*: Teknologi turunan CRISPR yang menggunakan mekanisme "cari dan ganti" untuk melakukan berbagai jenis editan kecil dengan presisi tinggi tanpa DSB.
- *Off-target*: Efek pemotongan atau pengeditan yang tidak diinginkan yang terjadi di lokasi selain lokasi target yang dimaksud.
- *Multiplexing*: Kemampuan untuk menargetkan dan mengedit beberapa gen atau lokasi genom secara bersamaan dalam satu eksperimen.

BAB 10
BIOTEKNOLOGI MIKROBIAL DALAM PERTANIAN

Tujuan Pembelajaran

Setelah mempelajari bab ini, mahasiswa diharapkan mampu:

1. Mengidentifikasi kelompok kelompok utama mikroba tanah yang menguntungkan, termasuk penambat nitrogen, pelarut fosfat, dan PGPR.
2. Menjelaskan proses produksi dan formulasi biofertilizer dan biopestisida berbasis mikroba.
3. Memahami potensi dan strategi rekayasa genetika mikroba tanah untuk meningkatkan fungsinya dalam mendukung pertumbuhan tanaman.
4. Menganalisis peran mikroba dalam proses bioremediasi tanah dan air yang terkontaminasi polutan.
5. Menguraikan aplikasi bioteknologi mikrobial dalam pengolahan pascapanen dan biokonversi limbah agrikultur.
6. Mengevaluasi pentingnya interaksi mikroba-tanaman dalam membangun sistem pertanian yang sehat dan berkelanjutan.

Pendahuluan

Pandangan tentang pertanian seringkali terbatas pada apa yang terlihat di atas tanah, yaitu tanaman itu sendiri. Namun, di bawah permukaan, di dalam segenggam tanah yang subur, terdapat sebuah alam semesta yang penuh dengan kehidupan, yaitu dunia mikroorganisme. Tanah bukanlah materi inert, melainkan ekosistem yang hidup dan dinamis, yang menjadi rumah bagi miliaran bakteri, jamur, arkea, dan protozoa. Komunitas mikroba tanah ini, yang secara kolektif disebut mikrobioma tanah, memainkan peran yang sangat fundamental dalam menentukan kesehatan tanah, siklus nutrisi, dan pada akhirnya, produktivitas tanaman. Selama bertahun-tahun, banyak dari mikroba ini dianggap sebagai musuh (patogen), semakin menyadari bahwa sebagian besar dari mikroorganisme adalah sekutu yang tak ternilai bagi pertanian.

Bioteknologi mikrobial adalah cabang ilmu yang berfokus pada pemanfaatan dan rekayasa mikroorganisme untuk berbagai aplikasi yang bermanfaat, termasuk di bidang pertanian. Alih alih hanya mengandalkan input kimia, bioteknologi mikrobial menawarkan pendekatan ekologis untuk meningkatkan kesuburan tanah dan melindungi tanaman. Ini adalah tentang bekerja sama dengan alam, bukan melawannya. Dengan memahami dan memanfaatkan kekuatan dari "pasukan tak terlihat" di dalam tanah ini, dapat menciptakan sistem pertanian yang lebih berkelanjutan, lebih tangguh, dan tidak terlalu bergantung pada sumber daya yang tidak terbarukan.

Dalam bab ini, akan menyelami dunia bioteknologi mikrobial pertanian. Kita akan mulai dengan berkenalan dengan para pemain utamanya, yaitu berbagai kelompok mikroba tanah yang

menguntungkan, dari bakteri penambat nitrogen yang menyediakan "pupuk gratis" dari udara, hingga jamur mikoriza yang berfungsi sebagai perpanjangan sistem perakaran tanaman. Selanjutnya, kita akan mempelajari bagaimana mikroba mikroba ini diproduksi secara massal melalui teknologi fermentasi (seperti yang dibahas di Bab 6) untuk menciptakan produk komersial seperti biofertilizer dan biopestisida. Menjelajahi garis depan dari bidang ini, yaitu bagaimana rekayasa genetika (seperti yang dibahas di Bab 4 dan 9) dapat digunakan untuk lebih meningkatkan kemampuan mikroba ini, misalnya dengan membuat mereka lebih efisien dalam menyediakan nutrisi atau lebih kuat dalam menghadapi stres lingkungan. Lebih jauh lagi, akan melihat peran mikroba sebagai "petugas kebersihan" lingkungan, yang mampu mendegradasi polutan dan mereklamasi tanah yang terkontaminasi. Akhirnya, membahas bagaimana kekuatan mikroba juga dapat dimanfaatkan setelah panen, untuk mengawetkan produk dan mengubah limbah menjadi sumber daya yang berharga. Bab ini akan membahas pentingnya dunia mikroba dalam membangun masa depan pertanian yang sehat dan produktif.

A. Mikroba Tanah yang Menguntungkan

Tanah yang sehat penuh dengan kehidupan mikroba yang beragam. Interaksi antara komunitas mikroba ini dengan akar tanaman di zona yang disebut rizosfer sangat penting untuk kesehatan dan produktivitas tanaman. Mikroorganisme tanah yang menguntungkan dapat dikelompokkan berdasarkan fungsi utamanya dalam mendukung pertumbuhan tanaman. Kelompok ini secara kolektif sering disebut sebagai *Plant Growth-Promoting Microorganisms* (PGPM). Mereka

memberikan manfaat melalui berbagai mekanisme, baik secara langsung dengan memfasilitasi penyerapan nutrisi, maupun secara tidak langsung dengan menekan patogen tanaman (Lugtenberg & Kamilova, 2009). Salah satu kelompok yang paling penting adalah mikroba penambat nitrogen. Meskipun atmosfer bumi terdiri dari sekitar 78% gas nitrogen (N2), tanaman tidak dapat menggunakannya secara langsung. Bakteri penambat nitrogen memiliki kemampuan unik untuk mengubah N2 dari udara menjadi amonia (NH3), suatu bentuk nitrogen yang dapat diserap tanaman, melalui proses yang disebut fiksasi nitrogen biologis. Kelompok ini mencakup bakteri simbiotik seperti *Rhizobium*, yang membentuk nodul pada akar tanaman legum (kacang-kacangan), dan bakteri yang hidup bebas atau berasosiasi seperti *Azospirillum* dan *Azotobacter* yang hidup di sekitar akar tanaman sereal (Vessey, 2003).

Kelompok penting lainnya adalah mikroba pelarut hara, terutama pelarut fosfat. Fosfor (P) adalah makronutrien esensial, tetapi sebagian besar P di tanah terikat dalam bentuk mineral atau organik yang tidak larut dan tidak tersedia bagi tanaman. Mikroba Pelarut Fosfat (*Phosphate Solubilizing Microbes*, PSM), yang mencakup banyak spesies bakteri (*Pseudomonas*, *Bacillus*) dan jamur (*Aspergillus*, *Penicillium*), mengeluarkan asam organik dan enzim fosfatase yang dapat melarutkan P yang tidak tersedia ini menjadi bentuk ion fosfat yang dapat diserap oleh akar tanaman (Alori et al., 2017). Selain penyediaan nutrisi, banyak mikroba tanah yang menguntungkan juga berfungsi sebagai agen biokontrol, yang secara tidak langsung mendorong pertumbuhan dengan cara melindungi tanaman dari patogen. Mereka dapat menghasilkan berbagai senyawa antimikroba atau antibiotik, bersaing dengan patogen untuk mendapatkan ruang dan nutrisi, atau menginduksi resistensi

sistemik pada tanaman inang, sebuah fenomena di mana kolonisasi oleh mikroba non-patogenik dapat "mempersenjatai" sistem kekebalan seluruh tanaman untuk melawan serangan patogen di masa depan (Compant et al., 2005). Memahami dan memanfaatkan keragaman fungsional dari mikroba tanah yang menguntungkan ini adalah inti dari pengembangan produk biofertilizer dan biopestisida.

Analogi: Jika tanaman adalah sebuah kerajaan, maka mikroba tanah yang menguntungkan adalah berbagai departemen dan badan pendukung yang memastikan kerajaan tersebut makmur dan aman. Bakteri penambat nitrogen adalah seperti Departemen Perdagangan yang mampu mengimpor makanan (nitrogen) dari negara lain (atmosfer) dan mengubahnya menjadi mata uang yang dapat digunakan di dalam kerajaan. Mikroba pelarut fosfat adalah seperti Departemen Pertambangan yang memiliki teknologi canggih untuk menambang mineral berharga (fosfat) yang terkunci di dalam bebatuan di wilayah kerajaan. Jamur mikoriza adalah Departemen Pekerjaan Umum yang membangun jaringan jalan raya (hifa) yang luas untuk memperluas jangkauan perdagangan dan pasokan air. PGPR yang menghasilkan hormon adalah seperti Departemen Ekonomi yang memberikan stimulus untuk mendorong pertumbuhan. Mikroba biokontrol adalah Departemen Pertahanan yang menjaga perbatasan, melawan penjajah (patogen), dan melatih tentara kerajaan (menginduksi resistensi sistemik).

1. Rhizobium, Azospirillum, dan Azotobacter

Rhizobium dan genera terkait (secara kolektif disebut rhizobia) adalah contoh simbiosis mikroba-tanaman yang paling terkenal dan paling penting secara agronomis. Bakteri ini memiliki kemampuan untuk

membentuk hubungan simbiosis yang sangat spesifik dengan akar tanaman legum, seperti kedelai, kacang tanah, dan alfalfa. Interaksi ini mengarah pada pembentukan struktur khusus pada akar yang disebut nodul atau bintil akar. Di dalam lingkungan mikroaerobik (oksigen rendah) yang terlindungi di dalam nodul, rhizobia akan berdiferensiasi menjadi bentuk bakteroid dan mengekspresikan enzim nitrogenase, yang mengkatalisis konversi N2 atmosfer menjadi amonia (Oldroyd et al., 2011). Sebagai imbalannya, tanaman menyediakan sumber karbon (gula dari fotosintesis) bagi bakteri. Simbiosis ini sangat efisien dan dapat memenuhi sebagian besar atau bahkan seluruh kebutuhan nitrogen tanaman legum, mengurangi atau menghilangkan kebutuhan akan pupuk nitrogen sintetis.

Azospirillum adalah genus bakteri yang hidup bebas di tanah tetapi seringkali membentuk asosiasi erat dengan permukaan akar berbagai tanaman non-legum, terutama rumput-rumputan dan sereal seperti jagung, gandum, dan padi. Meskipun mereka juga dapat melakukan fiksasi nitrogen, kontribusi mereka terhadap total nitrogen tanaman biasanya jauh lebih kecil dibandingkan dengan simbiosis rhizobia-legum. Manfaat utama *Azospirillum* bagi tanaman seringkali dikaitkan dengan mekanisme pendorong pertumbuhan lainnya. Bakteri ini dikenal sebagai produsen hormon tanaman atau fitohormon yang signifikan, terutama auksin. Produksi auksin oleh *Azospirillum* di rizosfer merangsang proliferasi dan pemanjangan rambut akar, yang secara signifikan meningkatkan luas permukaan sistem perakaran tanaman. Akar yang lebih besar ini memungkinkan tanaman untuk menyerap air dan nutrisi dari volume tanah yang lebih besar, yang pada akhirnya

mendorong pertumbuhan tanaman secara keseluruhan (Okon & Labandera-Gonzalez, 1994).

Azotobacter adalah genus lain dari bakteri tanah penambat nitrogen yang hidup bebas (non-simbiotik) dan bersifat aerobik. Seperti *Azospirillum*, mereka ditemukan di rizosfer berbagai tanaman. Selain kemampuannya untuk menambat nitrogen, *Azotobacter* juga dikenal karena menghasilkan berbagai senyawa yang mendorong pertumbuhan tanaman lainnya. Mereka dapat menghasilkan fitohormon (auksin, giberelin, sitokinin), vitamin, dan beberapa juga mampu melarutkan fosfat. Selain itu, beberapa galur *Azotobacter* menghasilkan pigmen atau kapsul polisakarida yang dapat membantu melindungi tanaman dari patogen atau meningkatkan struktur tanah (Wani et al., 2016). Karena sifatnya yang multifungsi ini, *Azospirillum* dan *Azotobacter* adalah kandidat yang populer untuk pengembangan biofertilizer untuk tanaman sereal dan hortikultura.

2. Mikoriza dan Pelarut Fosfat

Mikoriza adalah hubungan simbiosis mutualistik yang sangat umum antara jamur tanah tertentu dan akar dari sebagian besar tanaman darat (lebih dari 80%). Dalam simbiosis ini, jamur mengkolonisasi akar tanaman. Hifa jamur, yang merupakan filamen yang sangat halus, tumbuh keluar dari akar dan menjelajahi volume tanah yang jauh lebih besar daripada yang dapat dijangkau oleh akar tanaman itu sendiri, secara efektif bertindak sebagai perpanjangan dari sistem perakaran. Jaringan hifa yang luas ini sangat efisien dalam menyerap air dan nutrisi, terutama nutrisi yang tidak mobile di tanah seperti fosfor, dan mentransfernya ke tanaman inang. Sebagai imbalannya, tanaman

menyediakan karbon (gula) hasil fotosintesis kepada jamur (Smith & Read, 2008).

Ada dua jenis utama mikoriza. Ektomikoriza membentuk selubung hifa yang padat di sekitar ujung akar dan tumbuh di antara sel sel korteks akar, dan umumnya ditemukan pada pohon hutan. Endomikoriza, atau yang lebih umum disebut jamur mikoriza arbuskula (AMF), menembus ke dalam sel korteks akar dan membentuk struktur percabangan seperti pohon kecil yang disebut arbuskula, yang merupakan situs utama pertukaran nutrisi. AMF adalah jenis yang paling umum dan membentuk asosiasi dengan sebagian besar tanaman pertanian dan hortikultura. Selain meningkatkan penyerapan nutrisi, mikoriza juga terbukti dapat meningkatkan toleransi tanaman terhadap kekeringan dan salinitas, serta melindungi tanaman dari patogen tular tanah (Augé, 2001).

Seperti yang telah disebutkan, Mikroba Pelarut Fosfat (MPF) adalah kelompok fungsional penting lainnya yang meningkatkan ketersediaan P bagi tanaman. Tanah seringkali mengandung P dalam jumlah besar, tetapi sebagian besar terikat dalam bentuk yang tidak larut. MPF, yang mencakup bakteri (seperti *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Pantoea*) dan jamur (seperti *Aspergillus*, *Penicillium*), mengatasi masalah ini dengan mengeluarkan berbagai asam organik (seperti asam glukonat, sitrat) dan enzim (seperti fosfatase). Asam organik ini dapat mengkelat kation yang mengikat fosfat, melepaskannya ke dalam larutan tanah, sementara enzim fosfatase dapat memecah fosfat organik menjadi bentuk anorganik yang dapat diserap tanaman (Richardson & Simpson, 2011). Seringkali, ada sinergi antara MPF dan mikoriza, di mana MPF

melarutkan P dan mikoriza membantu menyerapnya dan membawanya ke tanaman.

3. Endofit dan PGPR

Endofit adalah mikroorganisme (bakteri atau jamur) yang hidup di dalam jaringan tanaman yang sehat (daun, batang, akar) setidaknya untuk sebagian dari siklus hidup mereka tanpa menyebabkan gejala penyakit yang nyata. Hubungan antara endofit dan tanaman inangnya dapat berkisar dari mutualistik hingga komensalistik. Banyak endofit telah terbukti memberikan manfaat yang signifikan bagi tanaman inangnya, menjadikannya sumber daya yang menarik untuk bioteknologi pertanian (Ryan et al., 2008). Manfaat ini dapat mencakup peningkatan pertumbuhan, peningkatan toleransi terhadap stres abiotik (kekeringan, salinitas), dan perlindungan terhadap hama dan penyakit. Mekanisme di balik manfaat ini sangat beragam. Beberapa endofit dapat menghasilkan fitohormon yang mendorong pertumbuhan. Yang lain dapat membantu dalam penyerapan nutrisi, termasuk fiksasi nitrogen. Salah satu peran yang paling banyak dipelajari adalah dalam biokontrol. Endofit dapat menghasilkan berbagai macam senyawa antimikroba atau antibiotik yang menekan pertumbuhan patogen. Mereka juga dapat bersaing dengan patogen untuk mendapatkan ruang dan nutrisi di dalam jaringan tanaman, atau mereka dapat menginduksi resistensi sistemik pada tanaman inang (Santoyo et al., 2016). Sebagai contoh, jamur endofit dari genus *Neotyphodium* yang hidup di beberapa spesies rumput diketahui menghasilkan alkaloid yang beracun bagi serangga herbivora, memberikan perlindungan yang efektif bagi rumput tersebut.

Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) adalah istilah yang lebih luas yang mencakup bakteri yang hidup di rizosfer (permukaan akar) dan secara menguntungkan mempengaruhi pertumbuhan tanaman. Istilah ini sering tumpang tindih dengan kategori lain, karena banyak mikroba penambat nitrogen, pelarut fosfat, dan agen biokontrol termasuk dalam definisi PGPR. Mekanisme kerja PGPR dapat dibagi menjadi langsung dan tidak langsung. Mekanisme langsung secara langsung memfasilitasi pertumbuhan tanaman, seperti fiksasi nitrogen, pelarutan fosfat, dan produksi fitohormon (auksin, giberelin, sitokinin). Mekanisme lain yang menarik adalah produksi enzim ACC deaminase, yang dapat memecah prekursor etilen (hormon stres), sehingga mengurangi efek negatif dari berbagai stres pada tanaman (Glick, 2012). Mekanisme tidak langsung melibatkan penekanan patogen tanaman, seperti yang telah dijelaskan sebelumnya. Karena keragaman mekanismenya, PGPR dari genera seperti *Pseudomonas*, *Bacillus*, dan *Azospirillum* adalah komponen inti dari banyak produk biofertilizer dan biostimulan komersial.

B. Produksi Biofertilizer dan Biopestisida

Transformasi dari penemuan galur mikroba yang menjanjikan di laboratorium menjadi produk komersial yang dapat digunakan oleh petani adalah proses yang kompleks yang melibatkan produksi massal, formulasi, dan kontrol kualitas. Tujuan dari proses produksi adalah untuk menumbuhkan mikroba yang dipilih hingga mencapai kepadatan yang sangat tinggi, sementara tujuan dari formulasi adalah untuk menjaga agar mikroba tersebut tetap hidup dan aktif selama penyimpanan dan setelah aplikasi di lapangan, serta untuk membuatnya mudah untuk

ditangani dan diaplikasikan oleh pengguna akhir (Arora et al., 2020). Produksi massal, seperti yang dibahas di Bab 6, biasanya dilakukan melalui fermentasi cair atau padat. Pilihan metode bergantung pada mikroorganisme target. Bakteri seperti *Rhizobium*, *Azotobacter*, dan *Bacillus* hampir selalu diproduksi menggunakan fermentasi cair (SmF) dalam bioreaktor besar. Untuk jamur, terutama yang diinginkan adalah sporanya (seperti *Trichoderma* atau *Metarhizium*), fermentasi padat (SSF) pada substrat sereal seringkali lebih disukai karena menghasilkan spora yang lebih banyak dan lebih tahan stres (Mascarin & Jaronski, 2016). Apapun metodenya, menjaga kemurnian kultur selama proses produksi massal sangat penting untuk mencegah kontaminasi oleh mikroba yang tidak diinginkan.

Setelah massa sel atau spora dipanen dari fermentor, langkah yang paling kritis adalah formulasi. Formulasi yang buruk adalah alasan utama kegagalan banyak produk hayati di pasar. Formulasi yang baik harus menyediakan lingkungan fisik dan kimia yang melindungi mikroba dari stres lingkungan seperti kekeringan, suhu ekstrem, dan radiasi UV. Ia juga harus mengandung nutrisi yang dapat mendukung kelangsungan hidup mikroba selama penyimpanan dan pada tahap awal setelah aplikasi. Bahan pembawa (*carrier*) adalah komponen utama dari banyak formulasi. Bahan pembawa padat yang umum termasuk gambut, lignit, tanah liat, atau biochar, sementara formulasi cair modern menggunakan polimer, minyak, atau emulsi (Malusá et al., 2012). Produk akhir harus melalui serangkaian uji kontrol kualitas untuk memastikan ia memenuhi standar untuk jumlah sel hidup (CFU), kemurnian, dan efikasi.

Analogi: Proses produksi produk hayati mirip dengan memproduksi dan mendistribusikan pasukan tentara elit. Fermentasi

adalah kamp pelatihan militer, di mana tentara (mikroba) dilatih dan diperbanyak hingga mencapai jumlah yang besar. Formulasi adalah seperti menyediakan seragam, rompi anti peluru, ransum, dan kendaraan transportasi untuk pasukan ini. Tanpa peralatan yang tepat (formulasi), tentara akan cepat kelelahan dan tidak efektif ketika dikirim ke medan perang (lapangan). Bahan pembawa adalah seperti kendaraan angkut personel lapis baja yang melindungi mereka selama perjalanan. Uji kontrol kualitas adalah seperti inspeksi akhir sebelum misi, memastikan setiap tentara sehat, senjatanya berfungsi, dan jumlah pasukannya sesuai dengan yang diperintahkan.

1. Formulasi dan Formulasi Ulang

Formulasi adalah seni dan ilmu mengubah biomassa mikroba aktif menjadi produk komersial yang stabil, efektif, dan ramah pengguna. Tujuan utama formulasi adalah untuk memperpanjang umur simpan produk dan untuk melindungi mikroba dari kondisi lingkungan yang keras setelah aplikasi. Ada dua kategori utama formulasi, yaitu formulasi berbasis pembawa padat dan formulasi cair. Formulasi padat tradisional menggunakan bahan pembawa organik (seperti gambut, kompos, dedak) atau anorganik (seperti tanah liat, vermikulit) yang disterilkan. Kaldu mikroba pekat dicampur dengan bahan pembawa ini untuk menghasilkan produk bubuk atau granul (Bashan, 1998). Gambut telah menjadi bahan pembawa standar selama bertahun-tahun karena porositasnya yang tinggi dan kandungan bahan organiknya, tetapi ketersediaannya terbatas dan pengambilannya tidak berkelanjutan.

Formulasi cair menawarkan beberapa keuntungan dibandingkan formulasi padat, termasuk kemudahan aplikasi melalui sistem irigasi,

konsentrasi sel yang lebih tinggi, dan tidak adanya debu. Namun, menjaga viabilitas mikroba dalam suspensi cair untuk waktu yang lama merupakan tantangan. Formulasi cair modern seringkali mengandung berbagai aditif pelindung atau *cell protectants*. Ini termasuk polimer seperti polivinil pirolidon (PVP) atau gom arab yang membentuk lapisan pelindung di sekitar sel, humektan seperti gliserol untuk mempertahankan kelembaban, dan sumber nutrisi untuk mendukung metabolisme selama penyimpanan (Arora et al., 2020).

Formulasi ulang (*re-formulation*) adalah proses yang penting ketika produk yang ada perlu ditingkatkan atau disesuaikan untuk pasar atau aplikasi baru. Ini mungkin melibatkan penggantian bahan pembawa dengan yang lebih murah atau lebih ramah lingkungan, menambahkan aditif baru untuk meningkatkan umur simpan atau kinerja di lapangan (misalnya, pelindung UV untuk biopestisida semprot), atau mengubah bentuk fisik produk (misalnya, dari bubuk menjadi granul yang dapat disebar) untuk membuatnya lebih kompatibel dengan peralatan pertanian yang ada. Inovasi dalam ilmu formulasi sangat penting untuk keberhasilan komersial produk hayati.

2. Karakterisasi dan Uji Efikasi

Sebelum produk biofertilizer atau biopestisida dapat didaftarkan dan dijual, ia harus melalui proses karakterisasi dan pengujian efikasi yang ketat. Karakterisasi melibatkan identifikasi yang akurat dari galur mikroba aktif menggunakan metode molekuler (seperti sekuensing gen 16S rRNA untuk bakteri) dan fenotipik. Sifat sifat kunci yang relevan dengan mekanisme kerjanya juga harus dikarakterisasi di laboratorium. Untuk biofertilizer, ini mungkin termasuk mengukur tingkat fiksasi

nitrogen, kemampuan melarutkan fosfat, atau produksi fitohormon. Untuk biopestisida, ini mungkin melibatkan pengukuran produksi senyawa antimikroba atau pengujian virulensinya terhadap serangga target dalam bioassay laboratorium (Montesinos, 2003). Uji efikasi adalah evaluasi kinerja produk dalam kondisi yang lebih realistis, pertama di rumah kaca dan kemudian di lapangan. Uji coba di rumah kaca dilakukan di bawah kondisi terkontrol untuk mengkonfirmasi bahwa produk tersebut dapat secara konsisten mendorong pertumbuhan tanaman atau mengendalikan hama/penyakit pada spesies tanaman target. Uji coba ini juga digunakan untuk mengoptimalkan dosis aplikasi, waktu, dan metode aplikasi.

Langkah terakhir dan yang paling penting adalah uji coba lapangan multi lokasi. Uji coba ini dilakukan di beberapa lokasi geografis yang berbeda dan selama beberapa musim tanam untuk mengevaluasi kinerja produk di berbagai jenis tanah, kondisi iklim, dan sistem pertanaman. Kinerja produk hayati dibandingkan dengan perlakuan kontrol (tanpa perlakuan) dan seringkali dengan standar komersial (pupuk kimia atau pestisida kimia). Data yang dikumpulkan meliputi parameter pertumbuhan tanaman, hasil panen, tingkat insidensi penyakit, atau populasi hama. Hanya produk yang secara konsisten menunjukkan efikasi yang signifikan dan andal di berbagai kondisi lapangan yang akan berhasil secara komersial dan mendapatkan persetujuan dari badan pengatur (Bardin et al., 2015).

3. Standarisasi Produk Hayati

Kurangnya standarisasi dan kontrol kualitas telah menjadi salah satu hambatan terbesar bagi adopsi luas produk hayati di masa lalu. Produk

dengan kualitas yang tidak konsisten atau mengandung jumlah mikroba hidup yang rendah dapat menyebabkan kinerja yang buruk di lapangan, yang merusak kepercayaan petani. Oleh karena itu, penerapan protokol standarisasi yang ketat sangat penting untuk industri produk hayati (Malusá & Vassilev, 2014). Standarisasi dimulai dengan galur mikroba itu sendiri. Produsen harus menggunakan galur yang terdefinisi dengan baik dan menyimpannya dalam bank sel induk (*master cell bank*) untuk memastikan bahwa galur yang digunakan untuk produksi dari waktu ke waktu tetap sama dan tidak mengalami mutasi atau kehilangan sifat yang diinginkan. Proses produksi itu sendiri, dari media hingga kondisi fermentasi, harus distandarisasi dan didokumentasikan dalam Prosedur Operasional Standar (SOP) untuk memastikan konsistensi dari batch ke batch.

Produk akhir harus memenuhi serangkaian spesifikasi kualitas yang telah ditetapkan sebelum dirilis ke pasar. Parameter utama yang diuji adalah jumlah populasi mikroba aktif (biasanya dilaporkan sebagai CFU/g atau CFU/mL), yang harus berada di atas ambang batas minimum yang ditetapkan. Pengujian kemurnian dilakukan untuk memastikan tidak adanya mikroba kontaminan di atas tingkat yang dapat diterima. Parameter fisikokimia seperti pH dan kadar air juga diukur. Akhirnya, setiap batch produk harus diberi label dengan jelas, yang mencakup nama mikroorganisme, jumlah CFU minimum, tanggal kedaluwarsa, dan instruksi penyimpanan serta penggunaan yang benar. Badan pengatur di banyak negara sekarang memberlakukan persyaratan pendaftaran dan kontrol kualitas yang ketat untuk produk biofertilizer dan biopestisida untuk melindungi petani dari produk di bawah standar.

C. Rekayasa Genetik Mikroba Tanah

Meskipun alam menyediakan keanekaragaman mikroba tanah yang luar biasa dengan banyak fungsi yang bermanfaat, ada potensi untuk lebih meningkatkan kinerja mereka melalui rekayasa genetika. Dengan menggunakan alat bioteknologi molekuler, para ilmuwan dapat memodifikasi mikroba tanah untuk meningkatkan efisiensi proses yang sudah ada, memberikan kemampuan baru, atau membuat mereka lebih kuat dalam menghadapi kondisi lapangan yang penuh tekanan (Bloemberg & Lugtenberg, 2001). Pendekatan ini bertujuan untuk menciptakan "super-mikroba" yang dirancang khusus untuk aplikasi pertanian tertentu. Salah satu target utama rekayasa adalah meningkatkan efisiensi penyediaan nutrisi. Misalnya, para ilmuwan telah mencoba merekayasa *Rhizobium* untuk mengekspresikan gen nitrogenase yang lebih efisien atau untuk mengatasi inhibisi umpan balik oleh nitrogen, dengan harapan dapat meningkatkan jumlah nitrogen yang ditambat. Upaya lain berfokus pada rekayasa bakteri pelarut fosfat untuk mengeluarkan asam organik dalam jumlah yang lebih besar atau untuk mengekspresikan enzim fitase yang dapat memecah fitat, bentuk utama fosfat organik di banyak tanah (Richardson & Simpson, 2011).

Target penting lainnya adalah meningkatkan ketahanan mikroba terhadap stres lingkungan. Salah satu alasan utama kegagalan inokulan di lapangan adalah karena mikroba yang diperkenalkan tidak dapat bertahan hidup atau bersaing dengan baik di bawah kondisi stres seperti kekeringan, salinitas, atau pH tanah yang ekstrem. Mikroba dapat direkayasa untuk memiliki toleransi stres yang lebih baik, misalnya dengan memasukkan gen untuk sintesis osmolit pelindung atau protein

penstabil membran (Vriezen et al., 2007). Meningkatkan kemampuan kompetitif mikroba, misalnya dengan membuatnya menghasilkan antibiotik spesifik yang dapat menekan pesaing lokal, juga merupakan strategi yang sedang dieksplorasi.

Selain meningkatkan fungsi yang ada, rekayasa genetika dapat digunakan untuk memberikan kemampuan yang sama sekali baru. Sebagai contoh, bakteri PGPR yang efisien dalam mengkolonisasi akar dapat direkayasa untuk juga menghasilkan toksin Bt, menggabungkan kemampuan pendorong pertumbuhan dan biopestisida dalam satu mikroorganisme. Namun, seperti yang dibahas di Bab 6, pengembangan dan terutama pelepasan mikroba hasil modifikasi genetika (GMM) ke lingkungan menghadapi rintangan regulasi yang sangat tinggi karena kekhawatiran tentang potensi dampak ekologis yang tidak terduga. Oleh karena itu, sebagian besar penelitian di bidang ini masih terbatas pada skala laboratorium dan rumah kaca (Vílchez et al., 2016).

Analogi: Rekayasa genetika mikroba tanah adalah seperti melakukan "upgrade" pada pasukan tentara elit. Meningkatkan fiksasi nitrogen adalah seperti memberikan senapan yang lebih canggih dan akurat kepada setiap tentara. Meningkatkan ketahanan terhadap stres adalah seperti memberi mereka rompi anti peluru yang lebih kuat dan sepatu bot yang lebih nyaman untuk medan yang sulit. Memberikan kemampuan baru, seperti menghasilkan toksin Bt, adalah seperti melatih pasukan infanteri untuk juga menjadi ahli demolisi. Tujuannya adalah untuk menciptakan "pasukan khusus" mikroba yang lebih efisien, lebih tangguh, dan lebih multifungsi daripada pasukan reguler. Namun, karena mereka adalah pasukan super, pengerahan mereka di luar pangkalan

(laboratorium) memerlukan izin dan pengawasan yang sangat ketat dari komando tertinggi (badan pengatur).

1. Enhancing Nutrient Fixation

Meningkatkan fiksasi dan penyediaan nutrisi adalah tujuan utama dari rekayasa genetika mikroba tanah. Untuk fiksasi nitrogen, sebagian besar upaya difokuskan pada manipulasi klaster gen *nif*, yang mengkode enzim nitrogenase dan protein regulatornya. Salah satu tantangannya adalah bahwa ekspresi gen *nif* dan aktivitas enzim nitrogenase sangat sensitif terhadap kehadiran nitrogen terikat (seperti amonia atau nitrat) di lingkungan. Para ilmuwan telah mencoba untuk merekayasa protein regulator untuk menghilangkan inhibisi ini, memungkinkan bakteri untuk terus menambat nitrogen bahkan ketika ada pupuk nitrogen di dalam tanah (Dixon & Kahn, 2004). Upaya lain berfokus pada peningkatan efisiensi energi dari proses fiksasi. Beberapa rhizobia memiliki sistem *uptake hydrogenase* (gen *hup*), yaitu enzim yang dapat "mendaur ulang" gas hidrogen (H2) yang merupakan produk sampingan yang tidak dapat dihindari dari reaksi nitrogenase. Dengan mendaur ulang H2, bakteri dapat memulihkan sebagian energi yang hilang, membuat proses fiksasi secara keseluruhan lebih efisien. Memindahkan gen *hup* ke galur rhizobia yang tidak memilikinya telah terbukti dapat meningkatkan biomassa tanaman dan fiksasi nitrogen dalam beberapa kasus (Maier & Triplett, 1996).

Penyediaan fosfor, strategi rekayasa berfokus pada peningkatan kemampuan pelarutan fosfat. Ini dapat dicapai dengan merekayasa mikroba untuk mengekspresikan secara berlebihan gen gen yang terlibat dalam produksi asam organik (seperti asam glukonat) atau dengan

memasukkan gen untuk enzim fosfatase yang lebih efisien. Misalnya, gen fitase dari jamur telah diekspresikan pada bakteri untuk meningkatkan kemampuannya dalam memecah asam fitat, bentuk utama fosfor organik di banyak tanah (Richardson & Hadobas, 1997). Pendekatan ini menjanjikan cara untuk "membuka" cadangan fosfor yang sangat besar yang ada di banyak tanah pertanian tetapi saat ini tidak tersedia bagi tanaman.

2. Ketahanan terhadap Stress Lingkungan

Agar efektif di lapangan, mikroba inokulan harus mampu bertahan dari berbagai cekaman abiotik dalam tanah, termasuk kekeringan, salinitas, suhu ekstrem, dan keberadaan polutan seperti pestisida atau logam berat. Rekayasa genetika dapat digunakan untuk meningkatkan ketahanan mikroba terhadap stres ini. Salah satu pendekatan yang umum adalah dengan merekayasa mikroba untuk mengakumulasi senyawa kompatibel atau osmolit, seperti prolin, glisin betain, atau trehalosa. Senyawa ini membantu menstabilkan protein dan membran sel serta mempertahankan keseimbangan osmotik di bawah stres kekeringan atau salinitas (Vriezen et al., 2007).

Pendekatan lain adalah dengan meningkatkan kapasitas antioksidan mikroba. Stres lingkungan seringkali menyebabkan produksi spesies oksigen reaktif (ROS) yang merusak sel. Dengan mengekspresikan secara berlebihan gen untuk enzim pendetoksifikasi ROS, seperti superoksida dismutase (SOD) dan katalase, kelangsungan hidup mikroba di bawah stres dapat ditingkatkan. Selain itu, mikroba dapat direkayasa untuk memiliki ketahanan terhadap herbisida atau fungisida yang umum digunakan dalam pertanian, memungkinkan produk

hayati ini untuk digunakan secara terintegrasi dengan praktik manajemen konvensional (Jaiswal et al., 2021). Peningkatan ketahanan terhadap stres tidak hanya meningkatkan kelangsungan hidup inokulan tetapi juga memperluas jangkauan aplikasinya ke lahan lahan pertanian yang lebih marjinal.

3. Biosintesis Senyawa Bioaktif

Mikroorganisme tanah adalah sumber yang sangat kaya akan senyawa bioaktif dengan berbagai aktivitas, termasuk antibiotik, antijamur, dan fitohormon. Bioteknologi dapat digunakan untuk memanfaatkan dan meningkatkan produksi senyawa ini. Melalui rekayasa metabolik, jalur biosintesis untuk senyawa yang diinginkan dapat dioptimalkan. Ini dapat melibatkan peningkatan ekspresi gen enzimatik kunci dalam jalur tersebut, menghilangkan jalur metabolisme yang bersaing, atau menghilangkan mekanisme regulasi umpan balik negatif (Pham et al., 2019). Selain itu, rekayasa genetika dapat digunakan untuk menghasilkan senyawa baru. Banyak senyawa bioaktif, seperti antibiotik poliketida, disintesis oleh kompleks enzim besar yang disebut sintase poliketida (PKS). Enzim ini memiliki struktur modular, di mana setiap modul bertanggung jawab untuk menambahkan unit pembangun tertentu ke rantai poliketida yang sedang tumbuh. Dengan merekayasa dan mengkombinasikan ulang modul dari PKS yang berbeda, para ilmuwan dapat menciptakan jalur biosintesis hibrida untuk menghasilkan senyawa "tidak alami" dengan aktivitas biologis yang berpotensi baru, sebuah pendekatan yang dikenal sebagai "biosintesis kombinatorial" (Kittilä et al., 2016). Dengan merekayasa PGPR untuk menghasilkan spektrum senyawa biokontrol yang lebih luas atau lebih kuat, efektivitasnya sebagai biopestisida dapat ditingkatkan secara signifikan.

D. Bioremediasi oleh Mikroba

Bioremediasi adalah pendekatan berbasis biologi untuk membersihkan lingkungan yang terkontaminasi dengan memanfaatkan kemampuan katabolik mikroorganisme untuk mendegradasi atau mengubah polutan menjadi bentuk yang kurang beracun. Ini adalah alternatif yang menarik dan seringkali lebih hemat biaya serta ramah lingkungan dibandingkan dengan metode remediasi fisik atau kimia (seperti pengerukan atau insinerasi tanah). Bioremediasi dapat terjadi secara intrinsik (mengandalkan populasi mikroba asli di lokasi) atau dapat ditingkatkan melalui biostimulasi (menambahkan nutrisi untuk merangsang mikroba asli) atau bioaugmentasi (menambahkan kultur mikroba spesialis yang telah diisolasi) (Tyagi et al., 2011). Mikroorganisme telah berevolusi untuk mendegradasi berbagai macam senyawa organik dan menggunakannya sebagai sumber energi. Kemampuan ini sangat relevan untuk membersihkan lokasi yang terkontaminasi oleh tumpahan minyak (hidrokarbon), pelarut industri, dan beberapa jenis pestisida. Bakteri dari genus *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, dan *Alcanivorax* dikenal karena kemampuan mereka yang luar biasa dalam mendegradasi hidrokarbon. Untuk polutan yang lebih sulit terurai dan persisten, seperti senyawa terklorinasi (misalnya, PCB dan TCE), seringkali diperlukan proses dehalogenasi anaerobik oleh konsorsium mikroba yang bekerja sama (Azubuike et al., 2016).

Polutan anorganik seperti logam berat, mekanismenya berbeda. Mikroba tidak dapat mendegradasi logam, tetapi mereka dapat mengubah keadaan oksidasinya, yang seringkali mengubah kelarutan dan toksisitasnya. Misalnya, beberapa bakteri dapat mereduksi Kromium(VI)

yang sangat beracun dan larut menjadi Kromium(III) yang kurang beracun dan tidak larut, sehingga mengendapkannya dari air tanah. Mikroba lain dapat mengakumulasi logam berat di dalam selnya atau mengikatnya di permukaannya (bioakumulasi/biosorpsi), yang berpotensi untuk pemulihan logam dari limbah industri (Gadd, 2004).

Contoh Kasus: Tumpahan Minyak Deepwater Horizon. Setelah tumpahan minyak masif Deepwater Horizon di Teluk Meksiko pada tahun 2010, para ilmuwan mengamati respons mikroba yang luar biasa cepat. Komunitas mikroba laut dalam yang secara alami ada di teluk tersebut, terutama bakteri dari genus *Colwellia*, *Cycloclasticus*, dan *Oceanospirillales*, mulai berkembang biak dengan cepat, memakan komponen hidrokarbon dari minyak. Studi genomik dan transkriptomik menunjukkan bahwa bakteri ini memiliki dan mengaktifkan seluruh rangkaian gen untuk degradasi alkana, sikloalkana, dan hidrokarbon aromatik. Respons cepat dari komunitas mikroba asli ini, yang merupakan contoh bioremediasi intrinsik skala besar, memainkan peran utama dalam menghilangkan sebagian besar minyak dari kolom air, jauh lebih cepat dari yang diperkirakan (Hazen et al., 2010; Redmond & Valentine, 2012).

1. Mikroba Pengurai Polutan

Banyak mikroorganisme di alam memiliki kemampuan enzimatik untuk mendegradasi berbagai macam senyawa xenobiotik (buatan manusia). Kunci dari kemampuan ini adalah enzim oksigenase, yang dapat memasukkan atom oksigen ke dalam molekul organik yang stabil, menjadikannya langkah pertama yang penting dalam pemecahan cincin aromatik dan senyawa lainnya (Juhasz & Naidu, 2000). Bakteri seringkali

membawa gen untuk jalur degradasi ini pada plasmid, yang dapat ditransfer antar spesies, memungkinkan adaptasi yang cepat terhadap polutan baru.

Sebagai contoh, bakteri *Pseudomonas putida* telah dipelajari secara ekstensif karena kemampuannya untuk mendegradasi berbagai hidrokarbon aromatik seperti toluena dan naftalena. Untuk polutan yang lebih persisten seperti *Polychlorinated Biphenyls* (PCB), degradasi seringkali memerlukan kerja sama antara mikroba aerobik dan anaerobik. Mikroba anaerobik pertama tama akan menghilangkan atom klorin (dehalogenasi reduktif), dan kemudian mikroba aerobik akan memecah cincin bifenil yang dihasilkan. Jamur pelapuk putih, seperti *Phanerochaete chrysosporium*, juga merupakan pendegradasi polutan yang sangat kuat. Mereka menghasilkan sistem enzim ekstraseluler yang tidak spesifik, terutama lignin peroksidase dan mangan peroksidase, yang dirancang untuk mendegradasi lignin yang kompleks. Karena ketidakspesifikannya, sistem enzimatik ini juga dapat mendegradasi berbagai polutan organik yang sulit terurai, termasuk PCB, dioksin, dan pewarna industri (Pointing, 2001).

2. Konsorsium Biodegradasi

Kebanyakan kasus di alam, degradasi lengkap dari polutan yang kompleks tidak dilakukan oleh satu spesies mikroba tunggal, melainkan oleh sebuah konsorsium mikroba yang bekerja sama. Dalam sebuah konsorsium, setiap anggota melakukan satu atau beberapa langkah dalam jalur degradasi, dan produk dari satu mikroba menjadi substrat untuk mikroba berikutnya, sebuah fenomena yang dikenal sebagai komplementasi metabolik atau *metabolic hand-offs* (Brenner et al.,

2008). Pendekatan berbasis konsorsium ini seringkali lebih kuat dan lebih efisien daripada menggunakan kultur murni tunggal.

Konsorsium lebih tahan terhadap fluktuasi lingkungan dan keberadaan inhibitor karena keanekaragaman fungsionalnya. Jika satu anggota terhambat, anggota lain mungkin dapat mengambil alih fungsinya. Selain itu, pembagian kerja metabolik dapat mengatasi masalah akumulasi zat antara yang beracun yang mungkin terjadi jika satu mikroba mencoba melakukan seluruh jalur sendirian. Sebagai contoh, dalam pencernaan anaerobik untuk produksi biogas, ada setidaknya empat kelompok mikroba yang berbeda (hidrolitik, asidogenik, asetogenik, dan metanogenik) yang harus bekerja secara berurutan untuk mengubah biomassa kompleks menjadi metana (Manyi-Loh et al., 2013).

Mengembangkan dan memelihara konsorsium mikroba yang stabil dan fungsional untuk bioremediasi adalah tantangan yang signifikan. Ini memerlukan pemahaman yang mendalam tentang interaksi ekologis dan metabolik antar anggota. Para ilmuwan menggunakan pendekatan "omik" (seperti metagenomik dan metatranskriptomik) untuk mempelajari komposisi dan fungsi dari konsorsium yang efektif dari alam. Di masa depan, biologi sintetik dapat digunakan untuk secara rasional merancang dan membangun konsorsium mikroba buatan dengan fungsi degradasi yang ditentukan dan interaksi yang stabil untuk aplikasi bioremediasi yang ditargetkan (Johns et al., 2016).

3. Bioreaktor Skala Lapang

Aplikasi bioremediasi *ex situ* (di mana tanah atau air yang terkontaminasi dipindahkan untuk diolah), bioreaktor digunakan untuk

menciptakan lingkungan yang terkontrol dan optimal bagi aktivitas mikroba pendegradasi. Desain bioreaktor untuk bioremediasi dapat bervariasi tergantung pada jenis kontaminan dan matriksnya (tanah atau air). Untuk pengolahan air limbah, bioreaktor yang umum digunakan termasuk sistem lumpur aktif (*activated sludge*), di mana biomassa mikroba dijaga dalam suspensi di tangki yang diaerasi, dan bioreaktor biofilm, di mana mikroba tumbuh sebagai lapisan tipis (biofilm) pada bahan pendukung padat (Nicolella et al., 2000).

Remediasi tanah, teknik yang umum adalah *landfarming*, di mana tanah yang terkontaminasi disebar dalam lapisan tipis dan dibajak secara berkala untuk meningkatkan aerasi. Biostimulasi (penambahan nutrisi dan air) sering diterapkan untuk mendorong aktivitas mikroba asli. Teknik lain yang lebih terkontrol adalah *biopile* atau *composting*, di mana tanah yang terkontaminasi dicampur dengan bahan pembenah (seperti serpihan kayu) dan ditumpuk, dengan sistem perpipaan untuk aerasi dan pengumpulan lindi. Untuk tanah yang sangat terkontaminasi, bioreaktor *slurry-phase* dapat digunakan. Dalam sistem ini, tanah dicampur dengan air untuk membentuk lumpur (*slurry*) di dalam tangki reaktor, yang memungkinkan pencampuran, aerasi, dan kontrol proses yang jauh lebih baik (Elektorowicz & Habibi, 2005). Pemilihan teknologi bioreaktor yang tepat sangat penting untuk mencapai tujuan pembersihan secara efisien dan hemat biaya.

E. Mikroba dalam Bioteknologi Pasca Panen

Peran mikroba dalam pertanian tidak berhenti saat tanaman dipanen. Bioteknologi mikrobial juga menawarkan berbagai solusi penting dalam tahap pascapanen, yang bertujuan untuk mengawetkan hasil panen,

meningkatkan nilainya, dan memanfaatkan limbah yang dihasilkan. Proses proses ini seringkali memanfaatkan kekuatan fermentasi dan aktivitas enzimatik dari mikroorganisme yang dipilih dengan cermat. Salah satu aplikasi yang paling kuno dan paling penting adalah pengawetan makanan melalui fermentasi. Fermentasi oleh bakteri asam laktat (misalnya, pada acar, kimchi, atau silase pakan ternak) atau ragi (misalnya, pada adonan asam) menghasilkan asam organik dan/atau alkohol. Penurunan pH dan adanya senyawa antimikroba ini secara efektif menghambat pertumbuhan mikroba pembusuk dan patogen, sehingga secara signifikan memperpanjang masa simpan produk. Selain pengawetan, fermentasi juga seringkali meningkatkan nilai gizi (misalnya, dengan sintesis vitamin) dan daya cerna makanan, serta menghasilkan rasa dan aroma yang unik dan diinginkan (Marco et al., 2017).

Aplikasi modern dari bioteknologi mikrobial pascapanen berfokus pada penggunaan mikroba antagonis sebagai agen biokontrol untuk mencegah penyakit pascapanen pada buah dan sayuran. Banyak buah dan sayuran yang rentan terhadap pembusukan oleh jamur patogen selama penyimpanan. Daripada menggunakan fungisida kimia pascapanen, mikroorganisme seperti ragi (*Candida oleophila*) atau bakteri (*Bacillus subtilis*) yang tidak berbahaya dapat diaplikasikan pada permukaan buah. Mikroba antagonis ini akan mengkolonisasi permukaan dan melindungi buah dengan cara bersaing dengan patogen untuk mendapatkan nutrisi dan ruang, atau dengan menghasilkan senyawa antijamur (Sharma et al., 2009).

Selain itu, seperti yang telah dibahas, biokonversi limbah agrikultur menjadi produk bernilai tambah adalah aplikasi pascapanen yang sangat penting. Limbah dari pabrik pengolahan makanan, seperti

kulit buah, ampas, atau air limbah, kaya akan bahan organik yang dapat menjadi substrat untuk fermentasi. Limbah ini dapat diubah menjadi bioenergi (biogas, bioetanol), pakan ternak, enzim industri, atau bahan kimia bio lainnya, mengubah masalah limbah menjadi peluang ekonomi dan mendukung pendekatan ekonomi sirkular dalam sektor pertanian.

Contoh Kasus: Produksi Asam Laktat dari Air Limbah Whey Keju. Industri keju menghasilkan volume besar air limbah yang disebut whey, yang kaya akan laktosa (gula susu). Pembuangan whey secara langsung ke lingkungan dapat menyebabkan polusi air yang serius karena *Biological Oxygen Demand* (BOD) yang tinggi. Bioteknologi mikrobial menawarkan solusi untuk mengubah limbah ini menjadi produk bernilai tinggi, yaitu asam laktat. Bakteri asam laktat, seperti dari genus *Lactobacillus*, dapat difermentasi pada substrat whey. Bakteri ini akan mengkonsumsi laktosa dan mengubahnya menjadi asam laktat melalui fermentasi. Asam laktat yang dihasilkan kemudian dapat dipanen dan dimurnikan. Asam laktat memiliki banyak aplikasi industri, termasuk sebagai pengawet makanan, bahan baku untuk produksi bioplastik yang dapat terurai (Poli Laktat atau PLA), dan dalam industri farmasi (Panesar et al., 2007).

1. Pengawetan Hasil Panen

Pengawetan makanan melalui fermentasi adalah teknik kuno yang memanfaatkan metabolisme mikroba untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme pembusuk dan patogen. Proses yang paling umum adalah fermentasi asam laktat, yang dilakukan oleh Bakteri Asam Laktat (BAL). Dalam pembuatan produk seperti sauerkraut (kubis fermentasi) atau kimchi, bakteri BAL yang secara alami ada di permukaan sayuran

akan memfermentasi gula yang ada, menghasilkan asam laktat dalam jumlah besar. Akumulasi asam laktat ini dengan cepat menurunkan pH lingkungan di bawah tingkat di mana sebagian besar bakteri pembusuk dan patogen dapat tumbuh (Marco et al., 2017). Selain asam, BAL juga menghasilkan senyawa antimikroba lain seperti bakteriosin (misalnya, nisin), yang selanjutnya meningkatkan efek pengawetan.

Selain pengawetan, fermentasi juga dapat meningkatkan keamanan pangan dengan cara mendegradasi senyawa antinutrisi atau toksin alami. Misalnya, fermentasi singkong untuk membuat produk seperti gari atau fufu secara signifikan mengurangi kandungan glikosida sianogenik yang berpotensi beracun (Amoa-Awua et al., 2006). Dalam bioteknologi modern, kultur starter BAL yang terdefinisi dengan baik dan memiliki sifat pengawetan dan fungsional yang unggul (misalnya, produksi bakteriosin tinggi) dikembangkan dan digunakan untuk mengontrol proses fermentasi, memastikan produk akhir yang lebih konsisten dan aman dibandingkan dengan fermentasi spontan.

Aplikasi lain yang lebih baru adalah penggunaan mikroba antagonis sebagai agen biokontrol untuk penyakit pascapanen. Daripada mengandalkan fungisida kimia, buah atau sayuran setelah panen dapat disemprot dengan suspensi mikroba non-patogenik seperti ragi *Candida oleophila*. Ragi ini akan dengan cepat mengkolonisasi luka kecil di permukaan buah, secara efektif "menduduki" ceruk ekologis dan menghabiskan nutrisi yang jika tidak akan digunakan oleh spora jamur patogen (seperti *Botrytis* atau *Penicillium*) untuk berkecambah dan memulai infeksi. Mekanisme kompetisi ini adalah strategi biokontrol yang efektif dan ramah lingkungan untuk memperpanjang masa simpan produk segar (Droby et al., 2009).

2. Biokonversi Limbah Agrikultur

Industri pertanian dan pengolahan makanan menghasilkan sejumlah besar limbah dan produk sampingan setiap tahun. Limbah ini, jika tidak dikelola dengan baik, dapat menjadi sumber polusi lingkungan yang signifikan. Namun, dari perspektif bioteknologi, limbah ini adalah sumber daya yang berharga, yaitu bahan baku berbiaya rendah yang kaya akan karbon dan nutrisi. Biokonversi mikrobial adalah proses memanfaatkan limbah ini sebagai substrat untuk menghasilkan produk bernilai tambah (Sadh et al., 2018). Salah satu aplikasi yang paling umum adalah produksi pakan ternak. Limbah seperti ampas tebu, kulit kopi, atau ampas singkong memiliki kandungan serat yang tinggi tetapi protein yang rendah, sehingga nilai gizinya sebagai pakan terbatas. Melalui fermentasi padat (SSF) dengan menggunakan jamur seperti *Aspergillus* atau ragi, kandungan protein dari limbah ini dapat ditingkatkan secara signifikan karena pertumbuhan biomassa mikroba itu sendiri kaya akan protein. Selain itu, enzim yang dihasilkan oleh jamur selama fermentasi dapat memecah serat kompleks, meningkatkan daya cerna pakan secara keseluruhan (Pandey et al., 2000).

Aplikasi lain yang penting adalah produksi kompos. Pengomposan adalah proses dekomposisi aerobik yang dikendalikan oleh konsorsium mikroba yang beragam (bakteri, aktinomiset, jamur) yang mengubah limbah organik pertanian menjadi kompos, yaitu pembenah tanah yang stabil, kaya akan bahan organik dan nutrisi. Proses ini tidak hanya mengurangi volume limbah tetapi juga mengubahnya menjadi produk yang dapat meningkatkan kesuburan dan kesehatan tanah (Zeng et al., 2011). Inokulan mikroba komersial terkadang ditambahkan untuk mempercepat proses pengomposan.

3. Produksi Enzim dan Bioenergi

Limbah agrikultur, terutama biomassa lignoselulosa, adalah substrat yang ideal untuk produksi enzim industri dan bioenergi. Banyak mikroorganisme, terutama jamur, menghasilkan enzim pendegradasi polimer (seperti selulase, xilanase, amilase, protease) secara ekstraseluler ketika ditumbuhkan pada substrat yang mengandung polimer tersebut. Dengan menggunakan limbah pertanian sebagai substrat dalam fermentasi (terutama SSF), enzim industri dapat diproduksi dengan biaya yang jauh lebih rendah dibandingkan dengan menggunakan media murni (Sukumaran et al., 2005). Enzim yang dihasilkan kemudian dapat dipanen dan digunakan dalam berbagai aplikasi, termasuk industri makanan, tekstil, dan pakan. Produksi bioenergi adalah bidang aplikasi lain yang sangat besar. Biogas, yang terutama terdiri dari metana (CH4), diproduksi dari berbagai limbah organik (kotoran ternak, sisa makanan, limbah tanaman) melalui proses pencernaan anaerobik. Ini adalah proses berbasis konsorsium mikroba yang menghasilkan sumber energi terbarukan yang dapat digunakan untuk memasak, pemanasan, atau pembangkit listrik, serta menghasilkan pupuk organik sebagai produk sampingan (Weiland, 2010).

Bioetanol juga dapat diproduksi dari limbah pertanian. Untuk limbah yang kaya akan pati atau gula (seperti limbah pengolahan kentang atau buah), prosesnya relatif sederhana, melibatkan fermentasi gula menjadi etanol oleh ragi. Untuk limbah lignoselulosa yang lebih kompleks, diperlukan proses yang lebih rumit, yaitu pra-perlakuan untuk memecah struktur lignoselulosa, diikuti oleh hidrolisis enzimatik untuk mengubah selulosa dan hemiselulosa menjadi gula sederhana, dan akhirnya fermentasi gula tersebut menjadi etanol. Meskipun

teknologinya lebih menantang, produksi etanol selulosik dari limbah adalah tujuan utama untuk bioekonomi yang berkelanjutan karena tidak bersaing dengan produksi pangan (Hahn-Hägerdal et al., 2006).

F. Rangkuman Bab

- Mikroba tanah yang menguntungkan, seperti penambat nitrogen (*Rhizobium*, *Azotobacter*), pelarut fosfat (MPF), dan jamur mikoriza, memainkan peran krusial dalam siklus nutrisi dan kesehatan tanaman.
- Endofit dan *Plant Growth-Promoting Rhizobacteria* (PGPR) mendorong pertumbuhan tanaman melalui berbagai mekanisme, termasuk produksi fitohormon dan biokontrol terhadap patogen.
- Bioteknologi mikrobial digunakan untuk memproduksi massal biofertilizer dan biopestisida melalui teknologi fermentasi (cair atau padat), diikuti dengan formulasi yang cermat untuk memastikan stabilitas dan efikasi produk.
- Rekayasa genetika dapat digunakan untuk lebih meningkatkan fungsi mikroba tanah, seperti meningkatkan efisiensi fiksasi nutrisi, ketahanan terhadap stres lingkungan, atau untuk menghasilkan senyawa bioaktif baru.
- Mikroorganisme adalah agen bioremediasi yang kuat, mampu mendegradasi berbagai polutan organik dan mengimobilisasi logam berat, seringkali bekerja dalam konsorsium mikroba yang kompleks.
- Dalam bioteknologi pascapanen, mikroba digunakan untuk pengawetan hasil panen (fermentasi asam laktat, agen biokontrol)

dan untuk biokonversi limbah agrikultur menjadi produk bernilai tambah seperti pakan ternak, enzim, dan bioenergi.

G. Latihan Mahasiswa

Soal Esai

1. Jelaskan tiga kelompok utama mikroba tanah yang menguntungkan dan uraikan mekanisme bagaimana masing masing kelompok tersebut membantu pertumbuhan tanaman.
2. Anda ingin mengembangkan produk biopestisida berbasis jamur *Trichoderma* untuk mengendalikan penyakit layu Fusarium pada tanaman tomat. Jelaskan alur kerja produksi Anda, mulai dari pemilihan metode fermentasi hingga pertimbangan formulasi.
3. Apa potensi dan tantangan dari penggunaan rekayasa genetika untuk meningkatkan kinerja mikroba biofertilizer? Berikan satu contoh spesifik bagaimana rekayasa genetika dapat diterapkan.
4. Jelaskan perbedaan antara biostimulasi dan bioaugmentasi dalam konteks bioremediasi. Mengapa pendekatan berbasis konsorsium mikroba seringkali lebih efektif untuk mendegradasi polutan yang kompleks?
5. Diskusikan tiga aplikasi berbeda dari bioteknologi mikrobial dalam tahap pascapanen. Bagaimana aplikasi ini dapat berkontribusi pada sistem pangan yang lebih berkelanjutan?

Soal Pilihan Ganda

1. Bakteri yang membentuk hubungan simbiosis dengan akar tanaman legum untuk menambat nitrogen dari atmosfer adalah...

A. *Azotobacter*

B. *Pseudomonas*

C. *Rhizobium* -V-

D. *Lactobacillus*

2. Teknologi fermentasi yang paling cocok untuk produksi spora jamur dalam jumlah besar dan sering menggunakan limbah pertanian sebagai substrat adalah...

A. Fermentasi Cair (SmF)

B. Fermentasi Padat (SSF) -V-

C. Fermentasi Kontinu

D. Fermentasi Anaerobik

3. Rekayasa genetika pada ragi untuk menghasilkan prekursor obat antimalaria artemisinin adalah contoh dari...

A. Bioremediasi

B. Produksi Biofertilizer

C. Rekayasa Metabolik untuk senyawa bioaktif -V-

D. Biokontrol

4. Penggunaan tanaman dan mikroba terkait untuk membersihkan lingkungan yang terkontaminasi polutan disebut...

A. Biofortifikasi

B. Bioremediasi -V-

C. Bioaugmentasi

D. Biostimulasi (Catatan: Bioaugmentasi dan Biostimulasi adalah bagian dari Bioremediasi, tetapi Bioremediasi adalah istilah yang lebih umum).

5. Mikroorganisme yang hidup di dalam jaringan tanaman yang sehat tanpa menyebabkan penyakit disebut...

   A. Patogen

   B. Epifit

   C. Endofit -V-

   D. Rizobakteri

6. Dalam proses produksi biogas, metana terutama dihasilkan oleh kelompok mikroba yang disebut...

   A. Bakteri asidogenik

   B. Bakteri hidrolitik

   C. Metanogen -V-

   D. Bakteri asetogenik

7. Penggunaan ragi *Candida oleophila* untuk disemprotkan pada buah apel pascapanen guna mencegah pertumbuhan jamur pembusuk adalah contoh dari...

   A. Pengawetan melalui fermentasi

   B. Biokonversi limbah

   C. Biokontrol pascapanen -V-

   D. Produksi enzim

Studi Kasus atau Tugas Kontekstual

Sebuah pabrik kelapa sawit menghasilkan limbah padat berupa tandan kosong kelapa sawit (TKS) dalam jumlah yang sangat besar. TKS ini kaya akan lignoselulosa tetapi sulit terurai dan menjadi masalah lingkungan. Sebuah perusahaan rintisan bioteknologi ingin mengembangkan solusi untuk masalah ini.

Sebagai konsultan bioproses, Anda diminta untuk memberikan dua proposal pendekatan yang berbeda untuk memanfaatkan limbah TKS ini menggunakan bioteknologi mikrobial. Untuk setiap pendekatan:

1. Sebutkan produk akhir yang ingin dihasilkan.
2. Jelaskan secara singkat proses bioteknologi mikrobial yang akan digunakan (misalnya, jenis fermentasi, jenis mikroba).
3. Uraikan potensi manfaat ekonomi dan lingkungan dari pendekatan tersebut.
   (Contoh pendekatan bisa berupa produksi kompos, pakan ternak, enzim, atau bioenergi).

GLOSARIUM BAB 10

- Rizosfer: Zona tanah yang secara langsung dipengaruhi oleh akar tanaman dan sekresinya.
- PGPM (Plant Growth-Promoting Microorganisms): Mikroorganisme yang dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman.
- Fiksasi Nitrogen Biologis: Proses konversi gas nitrogen atmosfer (N2) menjadi amonia (NH3) oleh mikroorganisme.

- Mikoriza: Hubungan simbiosis mutualistik antara jamur dan akar tanaman.
- Endofit: Mikroorganisme yang hidup di dalam jaringan tanaman tanpa menyebabkan penyakit.
- Biofertilizer: Produk yang mengandung mikroorganisme hidup untuk meningkatkan kesuburan tanah atau ketersediaan hara.
- Biopestisida: Pestisida yang berasal dari bahan alami, termasuk mikroorganisme, untuk mengendalikan hama.
- Formulasi: Proses mengubah biomassa mikroba menjadi produk komersial yang stabil dan efektif.
- Biokonversi: Penggunaan proses biologis untuk mengubah bahan baku (seringkali limbah) menjadi produk yang lebih bernilai.
- Bioremediasi: Penggunaan organisme, terutama mikroba, untuk membersihkan lingkungan yang terkontaminasi.
- Biostimulasi: Modifikasi lingkungan untuk merangsang mikroba pendegradasi asli.
- Bioaugmentasi: Penambahan kultur mikroba spesialis ke lokasi yang terkontaminasi.
- Konsorsium Mikroba: Komunitas dari beberapa spesies mikroba yang bekerja sama.

BAB 11
REGULASI, KEBIJAKAN, DAN ETIKA BIOTEKNOLOGI

Tujuan Pembelajaran

Setelah mempelajari bab ini, mahasiswa diharapkan mampu:

1. Membandingkan kerangka kerja regulasi bioteknologi di tingkat nasional dan internasional, termasuk Protokol Cartagena.
2. Menjelaskan komponen komponen kunci dalam proses penilaian keamanan hayati (*biosafety*) untuk produk rekayasa genetika.
3. Menganalisis isu isu etika yang melingkupi rekayasa genetika, termasuk kepemilikan intelektual dan paten atas organisme hidup.
4. Mengevaluasi dampak sosial dan ekonomi dari adopsi teknologi bioteknologi, termasuk isu akses dan kontroversi publik.
5. Memahami berbagai perspektif global terhadap bioteknologi dan pentingnya tata kelola yang bertanggung jawab.
6. Merumuskan rekomendasi untuk pengembangan bioteknologi yang etis dan berkelanjutan.

Pendahuluan

Bab ini membahas lanskap ilmiah bioteknologi pertanian yang menakjubkan. Bab sebelumnya telah dibahas bagaimana memanipulasi

DNA, meregenerasi tanaman di dalam botol, merakit tanaman transgenik, dan memanfaatkan kekuatan mikroba. Namun, ilmu pengetahuan tidak beroperasi dalam ruang hampa. Setiap inovasi teknologi, terutama yang sekuat dan se-transformatif bioteknologi, pasti akan berbenturan dengan struktur sosial, nilai nilai budaya, kepentingan ekonomi, dan kerangka hukum masyarakat. Oleh karena itu, memahami dimensi non teknis dari bioteknologi sama pentingnya dengan memahami ilmu di baliknya. Bab ini akan membahas ke dalam arena perdebatan kebijakan, dilema etika, dan kontroversi publik yang telah membentuk dan terus membentuk lintasan perkembangan bioteknologi. Jika bab sebelumnya adalah tentang "apa yang bisa dilakukan" dengan bioteknologi, maka bab ini adalah tentang "apa yang seharusnya dilakukan" dan "bagaimana harus melakukannya". Pertanyaan pertanyaan ini tidak memiliki jawaban yang mudah dan seringkali melibatkan pertimbangan yang kompleks antara potensi manfaat dan potensi risiko, antara kemajuan ilmiah dan nilai nilai kemanusiaan.

Memulai dengan menavigasi lanskap regulasi yang rumit yang mengatur pengembangan dan pelepasan organisme hasil rekayasa genetika (GMO). Kita akan melihat bagaimana berbagai negara dan badan internasional telah membangun sistem untuk mengevaluasi keamanan produk bioteknologi, dari Protokol Cartagena di tingkat global hingga peraturan spesifik di tingkat nasional. Selanjutnya, akan menyelami lebih dalam isu isu etika yang mendasar. Haruskah mematenkan bentuk kehidupan? Siapa yang memiliki gen? Apakah memiliki hak untuk melintasi batas batas alamiah antar spesies? Ini adalah pertanyaan pertanyaan filosofis yang memicu perdebatan sengit. Bab ini akan mengkaji dampak sosial dan ekonomi dari adopsi

bioteknologi. Siapa yang benar benar diuntungkan dari teknologi ini? Apakah ia memperlebar atau mempersempit kesenjangan antara petani kaya dan miskin? Bagaimana menyeimbangkan hak kekayaan intelektual perusahaan dengan hak petani untuk menyimpan benih? Terakhir, kita akan membandingkan berbagai perspektif global terhadap bioteknologi, mencoba memahami mengapa beberapa masyarakat menyambutnya dengan tangan terbuka sementara yang lain menolaknya dengan keras. Memahami kompleksitas ini sangat penting bagi setiap calon ilmuwan, pembuat kebijakan, atau warga negara yang peduli, untuk dapat berpartisipasi secara konstruktif dalam membentuk masa depan bioteknologi yang bertanggung jawab, adil, dan bermanfaat bagi seluruh umat manusia.

A. Regulasi Nasional dan Internasional

Pengembangan dan komersialisasi produk bioteknologi, terutama organisme hasil modifikasi genetika (GMO) atau Produk Rekayasa Genetika (PRG), diatur secara ketat di hampir semua negara di dunia. Tujuan utama dari regulasi ini adalah untuk memastikan bahwa produk produk baru ini aman bagi kesehatan manusia, kesehatan hewan, dan kelestarian lingkungan, sambil tetap memungkinkan inovasi yang bermanfaat. Kerangka kerja regulasi ini beroperasi di berbagai tingkatan, dari perjanjian internasional hingga undang-undang dan peraturan spesifik di tingkat nasional (Smyth et al., 2015).

Di tingkat internasional, perjanjian yang paling penting yang secara khusus mengatur pergerakan lintas batas GMO adalah Protokol Cartagena tentang Keamanan Hayati. Protokol ini merupakan perjanjian tambahan dari Konvensi Keanekaragaman Hayati (CBD) dan mulai

berlaku pada tahun 2003. Prinsip inti dari Protokol Cartagena adalah pendekatan kehati-hatian (*precautionary approach*), yang menyatakan bahwa ketiadaan kepastian ilmiah yang penuh tidak boleh digunakan sebagai alasan untuk menunda tindakan pencegahan yang efektif biaya untuk mencegah kerusakan serius atau tidak dapat dipulihkan terhadap lingkungan (Mackenzie et al., 2003). Protokol ini menetapkan prosedur Persetujuan Berdasarkan Informasi di Awal (*Advance Informed Agreement*, AIA) untuk impor GMO yang akan dilepas ke lingkungan, memberikan hak kepada negara pengimpor untuk melakukan penilaian risiko dan membuat keputusan berdasarkan informasi. Protokol ini juga membentuk *Biosafety Clearing-House* (BCH), sebuah mekanisme pertukaran informasi online tentang GMO.

Di tingkat internasional lainnya, *Codex Alimentarius Commission*, sebuah badan gabungan FAO/WHO, mengembangkan standar dan pedoman keamanan pangan internasional, termasuk untuk makanan yang berasal dari bioteknologi. Pedoman Codex menyediakan kerangka kerja berbasis sains yang diakui secara global untuk penilaian keamanan pangan GMO, yang sering menjadi rujukan dalam kesepakatan perdagangan di bawah Organisasi Perdagangan Dunia (WTO) (Codex Alimentarius, 2009). Perbedaan dalam bagaimana negara negara menafsirkan dan menerapkan prinsip kehati hatian dan pedoman Codex ini telah menyebabkan keragaman pendekatan regulasi di seluruh dunia.

Di tingkat nasional, setiap negara mengembangkan sistem regulasinya sendiri, yang mencerminkan prioritas, kapasitas, dan nilai nilai sosialnya. Di Indonesia, regulasi keamanan hayati untuk PRG diatur oleh Undang-Undang No. 21 Tahun 2004 tentang Pengesahan Protokol Cartagena dan diperkuat oleh Peraturan Pemerintah No. 21 Tahun 2005

tentang Keamanan Hayati Produk Rekayasa Genetika. Regulasi ini menetapkan pembentukan Komisi Keamanan Hayati Produk Rekayasa Genetika (KKH-PRG) dan tim teknisnya (TTKH) yang bertanggung jawab untuk melakukan kajian dan memberikan rekomendasi ilmiah mengenai keamanan pangan, pakan, dan lingkungan dari setiap PRG sebelum dapat dilepas atau diedarkan. Pendekatan ini, seperti di banyak negara lain, didasarkan pada analisis risiko kasus per kasus yang komprehensif.

Analogi: Sistem regulasi bioteknologi dapat diibaratkan seperti sistem pengaturan lalu lintas udara. Protokol Cartagena adalah seperti aturan penerbangan internasional yang ditetapkan oleh ICAO (Organisasi Penerbangan Sipil Internasional), yang mengatur bagaimana pesawat (GMO) dapat terbang melintasi perbatasan antar negara dan memastikan negara tujuan memberikan izin pendaratan (*AIA*). Codex Alimentarius adalah seperti manual standar keselamatan dan pemeliharaan pesawat yang dikeluarkan oleh pabrikan seperti Boeing atau Airbus, yang menjadi rujukan global untuk keamanan. Regulasi nasional adalah seperti menara kontrol lalu lintas udara (ATC) di setiap bandara (negara). Setiap menara kontrol menerapkan aturan internasional, tetapi juga memiliki prosedur lokalnya sendiri, dan bertanggung jawab untuk memberikan izin akhir bagi setiap pesawat untuk lepas landas atau mendarat di wilayah udaranya setelah melakukan pemeriksaan keamanan yang menyeluruh.

1. Peraturan Pemerintah dan Lembaga Terkait

Di Indonesia, kerangka kerja hukum dan kelembagaan untuk regulasi Produk Rekayasa Genetika (PRG) telah dibangun secara bertahap.

Landasan utamanya adalah UU No. 21 Tahun 2004, yang merupakan ratifikasi Indonesia terhadap Protokol Cartagena, dan dijabarkan lebih lanjut dalam PP No. 21 Tahun 2005. Peraturan ini mengamanatkan pendekatan kehati-hatian dan penilaian risiko berbasis ilmiah untuk setiap PRG sebelum dapat dimanfaatkan. Struktur kelembagaan yang dibentuk untuk melaksanakan mandat ini bersifat multi-sektoral, melibatkan beberapa kementerian dan lembaga. Pusat dari sistem ini adalah Komisi Keamanan Hayati Produk Rekayasa Genetika (KKH-PRG). KKH adalah badan non-struktural yang diketuai oleh Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan dan beranggotakan perwakilan dari berbagai kementerian (seperti Pertanian, Kesehatan, Kelautan dan Perikanan, Perindustrian) serta pakar dari berbagai disiplin ilmu. Tugas utama KKH adalah memberikan rekomendasi kepada menteri yang berwenang tentang persetujuan atau penolakan permohonan pelepasan dan peredaran PRG, berdasarkan kajian keamanan yang komprehensif (Suryandono, 2011).

Membantu tugasnya, KKH dibantu oleh beberapa Tim Teknis Keamanan Hayati (TTKH) yang bertanggung jawab untuk melakukan kajian ilmiah yang mendalam. Ada TTKH Keamanan Lingkungan, TTKH Keamanan Pangan, dan TTKH Keamanan Pakan. Anggota TTKH adalah para ilmuwan dan ahli dari universitas dan lembaga penelitian yang memiliki keahlian relevan. Ketika seorang pengembang (misalnya, perusahaan atau lembaga penelitian) ingin melepaskan PRG, mereka harus mengajukan permohonan yang berisi dossier data yang sangat lengkap kepada kementerian terkait. TTKH kemudian akan mengevaluasi data tersebut, melakukan analisis risiko, dan memberikan rekomendasi

teknis kepada KKH. Proses ini memastikan bahwa keputusan didasarkan pada evaluasi ilmiah yang independen dan kredibel.

2. Cartagena Protocol dan Codex Alimentarius

Protokol Cartagena tentang Keamanan Hayati adalah pilar utama dari tata kelola bioteknologi global, terutama yang berkaitan dengan dampak lingkungan dan keanekaragaman hayati. Tujuan utama protokol ini adalah untuk memastikan tingkat perlindungan yang memadai dalam hal transfer, penanganan, dan penggunaan Organisme Hasil Modifikasi Genetika (LMO) yang dapat memiliki efek merugikan terhadap konservasi dan pemanfaatan berkelanjutan keanekaragaman hayati, dengan mempertimbangkan juga risiko terhadap kesehatan manusia (CBD, 2000).

Fitur operasional utama dari protokol ini adalah prosedur Persetujuan Berdasarkan Informasi di Awal (*Advance Informed Agreement*, AIA). Prosedur AIA berlaku untuk pergerakan lintas batas pertama dari LMO yang ditujukan untuk sengaja dilepas ke lingkungan negara pengimpor (misalnya, benih untuk ditanam). Pihak eksportir harus memberitahu negara pengimpor terlebih dahulu dan memberikan informasi rinci tentang LMO dan penilaian risikonya. Negara pengimpor kemudian memiliki waktu untuk membuat keputusan apakah akan menyetujui atau menolak impor tersebut. Protokol ini secara eksplisit mengizinkan negara untuk membuat keputusan berdasarkan prinsip kehati-hatian jika tidak ada kepastian ilmiah yang memadai (Mackenzie et al., 2003). Untuk LMO yang ditujukan langsung untuk makanan, pakan, atau pengolahan (LMO-FFP), prosedurnya lebih sederhana dan

terutama mengandalkan pertukaran informasi melalui *Biosafety Clearing-House* (BCH).

Sementara Protokol Cartagena berfokus pada keamanan lingkungan, *Codex Alimentarius Commission* berfokus secara eksklusif pada keamanan pangan. Codex mengembangkan standar, pedoman, dan kode praktik internasional untuk memastikan perdagangan pangan yang adil dan melindungi kesehatan konsumen. Dokumen-dokumen Codex tentang makanan yang berasal dari bioteknologi modern menyediakan kerangka kerja yang diterima secara luas untuk melakukan penilaian keamanan pangan (Codex Alimentarius, 2009). Pedoman ini mencakup prinsip-prinsip untuk analisis risiko, penilaian kesetaraan substansial, penilaian alergenisitas, dan pertimbangan pasca-pasar. Meskipun standar Codex tidak mengikat secara hukum, mereka sering dijadikan rujukan oleh Organisasi Perdagangan Dunia (WTO) dalam menyelesaikan sengketa perdagangan, memberikan bobot yang signifikan pada pedoman tersebut dalam kebijakan pangan global.

3. Regulasi Produk GMO

Regulasi produk GMO di seluruh dunia secara umum dapat diklasifikasikan ke dalam dua filosofi yang berbeda, yaitu regulasi berbasis proses dan regulasi berbasis produk. Perbedaan fundamental ini telah membentuk lanskap kebijakan yang sangat beragam secara global. Uni Eropa adalah contoh utama dari pendekatan berbasis proses. Dalam sistem ini, pemicu untuk regulasi yang ketat adalah metode atau proses yang digunakan untuk membuat organisme tersebut. Setiap organisme yang dihasilkan melalui teknik rekayasa genetika modern secara otomatis dianggap sebagai GMO dan harus melalui jalur persetujuan yang panjang

dan rumit, terlepas dari karakteristik produk akhirnya (Eriksson, 2019). Pendekatan ini didasarkan pada prinsip kehati-hatian yang kuat dan juga memungkinkan pertimbangan faktor sosial ekonomi dalam pengambilan keputusan. Hasilnya adalah proses persetujuan yang sangat lambat di Eropa dan persyaratan pelabelan wajib yang ketat untuk semua produk yang mengandung bahan GMO di atas ambang batas 0.9%.

Sebaliknya, Amerika Serikat, Kanada, Argentina, dan beberapa negara lain mengadopsi pendekatan berbasis produk. Dalam sistem ini, regulasi difokuskan pada karakteristik dan risiko dari produk akhir, bukan pada proses pembuatannya. Logikanya adalah bahwa risiko (atau ketiadaan risiko) terkait dengan sifat baru dari tanaman, bukan dengan metode yang digunakan untuk menciptakannya. Oleh karena an itu, tanaman rekayasa genetika dievaluasi berdasarkan apakah ia menimbulkan risiko baru dibandingkan dengan tanaman konvensional padanannya (McHughen, 2016). Jika produk tersebut dianggap secara substansial setara dan tidak menimbulkan risiko baru, maka ia akan diatur dengan cara yang sama seperti produk pertanian lainnya. Pendekatan ini telah memfasilitasi adopsi yang lebih cepat dan lebih luas dari tanaman GMO.

Lanskap regulasi ini menjadi semakin kompleks dengan munculnya teknologi penyuntingan gen seperti CRISPR. Tanaman yang diedit yang tidak mengandung DNA asing menimbulkan pertanyaan mendasar bagi kerangka regulasi yang ada. Negara dengan pendekatan berbasis produk, seperti AS, cenderung untuk tidak mengatur tanaman semacam ini sebagai GMO, dengan alasan produk akhirnya dapat terjadi secara alami. Sebaliknya, Mahkamah Eropa telah memutuskan bahwa semua organisme hasil mutagenesis baru (termasuk CRISPR) tunduk pada

regulasi GMO yang ketat. Perbedaan yang semakin melebar ini menciptakan ketidakpastian yang signifikan bagi para pengembang teknologi dan potensi hambatan baru dalam perdagangan pertanian internasional (Lassoued et al., 2021).

B. Penilaian Keamanan Hayati

Penilaian keamanan hayati atau *biosafety assessment* adalah proses ilmiah inti yang mendasari semua keputusan regulasi tentang produk rekayasa genetika. Ini adalah evaluasi yang sistematis dan komparatif yang bertujuan untuk mengidentifikasi, mengevaluasi, dan mengelola potensi risiko yang mungkin terkait dengan GMO bagi kesehatan manusia dan lingkungan. Prinsip perbandingan adalah fundamental dalam proses ini; GMO dan produk turunannya dibandingkan dengan pembanding konvensional yang sesuai (misalnya, varietas induk non-transgenik) yang memiliki sejarah penggunaan yang aman (Kok & Kuiper, 2003). Tujuannya adalah untuk mengidentifikasi bahaya baru atau perubahan tingkat risiko yang mungkin timbul sebagai akibat dari modifikasi genetik.

Proses penilaian ini bersifat kasus per kasus, yang berarti bahwa setiap GMO baru dievaluasi secara individual berdasarkan tanaman inang, sifat yang dimasukkan, dan lingkungan penerima yang dimaksudkan. Tidak ada asumsi umum yang dibuat tentang keamanan semua GMO. Prosesnya dimulai dengan karakterisasi molekuler yang mendalam. Pengembang harus memberikan data rinci tentang DNA yang disisipkan, termasuk sekuens lengkapnya, lokasi insersi di dalam genom tanaman, jumlah salinan, dan stabilitasnya dari generasi ke generasi. Mereka juga harus menunjukkan bahwa tidak ada protein yang tidak

diinginkan atau tidak terduga yang diproduksi sebagai hasil dari insersi (FAO/WHO, 2000).

Setelah karakterisasi molekuler, penilaian beralih ke analisis risiko yang sebenarnya. Ini melibatkan beberapa langkah: (1) identifikasi bahaya, yaitu mengidentifikasi potensi efek merugikan (misalnya, toksisitas, alergenisitas, kegulmaan); (2) karakterisasi bahaya, yaitu mengevaluasi sifat dan tingkat keparahan dari efek merugikan tersebut; (3) penilaian paparan, yaitu memperkirakan kemungkinan dan tingkat paparan manusia atau lingkungan terhadap bahaya tersebut; dan (4) karakterisasi risiko, yaitu mengintegrasikan semua informasi ini untuk memperkirakan risiko keseluruhan dan ketidakpastian yang terkait (EFSA, 2010). Proses yang komprehensif dan berbasis data ini dirancang untuk memastikan bahwa hanya produk yang telah terbukti aman yang diizinkan untuk dilepas.

Analogi: Proses penilaian keamanan hayati mirip dengan proses sertifikasi kelayakan terbang untuk jenis pesawat baru. Karakterisasi molekuler adalah seperti para insinyur yang menyerahkan cetak biru desain yang sangat rinci dari setiap komponen mesin dan badan pesawat kepada otoritas penerbangan. Analisis risiko adalah serangkaian uji coba yang sangat ketat. Uji alergenisitas dan toksisitas adalah seperti menguji material baru di badan pesawat untuk memastikan tidak beracun atau mudah terbakar. Penilaian dampak lingkungan adalah seperti melakukan simulasi di terowongan angin untuk melihat bagaimana pesawat baru akan mempengaruhi aliran udara dan kebisingan di sekitar bandara, serta mengevaluasi apa yang akan terjadi jika pesawat tersebut jatuh di area sensitif. Hanya setelah pesawat lulus semua tes dengan standar

keamanan tertinggi, ia akan diberikan sertifikat untuk terbang secara komersial.

1. Analisis Risiko Genetik

Analisis risiko genetik adalah bagian dari penilaian keamanan hayati yang berfokus pada aspek molekuler dari modifikasi genetik itu sendiri. Tujuannya adalah untuk memastikan bahwa DNA yang disisipkan (transgen) telah terkarakterisasi dengan baik, stabil, dan tidak menyebabkan efek genetik yang tidak diinginkan pada tanaman inang. Langkah pertama adalah karakterisasi molekuler yang lengkap dari konstruksi DNA yang digunakan untuk transformasi dan DNA yang sebenarnya terintegrasi ke dalam genom tanaman. Ini melibatkan sekuensing DNA untuk memverifikasi identitas dan integritas semua elemen genetik (promotor, gen, terminator) dan untuk memastikan tidak ada sekuens vektor yang tidak diinginkan yang ikut terintegrasi (Holst-Jensen et al., 2003). Selanjutnya, *Southern blot* digunakan untuk menentukan jumlah lokasi insersi di dalam genom dan untuk mengkonfirmasi integritas dari DNA yang disisipkan. Idealnya, insersi tunggal dari salinan utuh T-DNA lebih disukai karena lebih mudah dikarakterisasi dan lebih stabil secara genetik. Analisis sekuens dari daerah persimpangan antara DNA yang disisipkan dan genom tanaman juga sering dilakukan untuk memeriksa apakah insersi tersebut telah mengganggu gen tanaman endogen yang penting.

Kekhawatiran teoritis lain yang dievaluasi adalah stabilitas genetik dari transgen dari generasi ke generasi. Analisis segregasi dilakukan pada keturunan untuk memastikan bahwa transgen diwariskan sesuai dengan hukum Mendel yang dapat diprediksi. Stabilitas ekspresi juga dipantau

untuk memastikan tidak terjadi fenomena *gene silencing* (pembungkaman gen) pada generasi selanjutnya. Selain itu, penilaian risiko juga mempertimbangkan potensi transfer gen horizontal (HGT) dari tanaman transgenik ke mikroorganisme tanah atau usus. Meskipun HGT dari tanaman ke bakteri dianggap sebagai peristiwa yang sangat jarang terjadi di alam, potensinya, terutama untuk gen resistensi antibiotik, tetap dievaluasi sebagai bagian dari pendekatan kehati-hatian (Nielsen et al., 2000).

2. Uji Alergenisitas dan Toksisitas

Penilaian keamanan pangan dari setiap protein baru yang diekspresikan dalam tanaman transgenik adalah komponen penting dari evaluasi keamanan hayati. Karena protein adalah penyebab utama alergi makanan, setiap protein baru harus dievaluasi secara cermat untuk potensi alergenisitasnya. Karena tidak ada satu tes tunggal yang dapat secara definitif memprediksi alergenisitas, Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) dan FAO telah merekomendasikan strategi penilaian berdasarkan pohon keputusan (*decision tree*) yang mempertimbangkan beberapa baris bukti (FAO/WHO, 2001).

Langkah pertama adalah membandingkan sekuens asam amino dari protein baru dengan basis data semua alergen yang diketahui (misalnya, database AllergenOnline). Kesamaan sekuens yang signifikan dengan alergen yang dikenal dapat mengindikasikan potensi reaktivitas silang. Langkah kedua adalah menguji stabilitas protein dalam sistem pencernaan simulasi *in vitro* (menggunakan enzim pepsin pada pH rendah). Sebagian besar protein makanan yang aman cepat terdegradasi, sedangkan banyak alergen protein yang utama cenderung resisten

terhadap pencernaan, memungkinkan mereka untuk mencapai usus dalam keadaan utuh dan berinteraksi dengan sistem kekebalan tubuh. Langkah ketiga adalah menguji reaktivitas silang imunologis menggunakan serum darah dari individu yang alergi terhadap sumber yang berkerabat secara taksonomi.

Selain alergenisitas, potensi toksisitas dari protein baru juga harus dievaluasi. Karena protein transgenik yang diekspresikan biasanya memiliki fungsi biologis yang sangat spesifik dan diekspresikan pada tingkat yang sangat rendah, mereka umumnya dianggap memiliki potensi toksisitas yang rendah. Namun, sebagai bagian dari pendekatan kehati-hatian, uji toksisitas akut pada hewan pengerat (tikus atau mencit) sering dilakukan. Dalam uji ini, hewan diberi dosis tunggal yang sangat tinggi dari protein baru yang telah dimurnikan (biasanya ribuan kali lebih tinggi dari perkiraan paparan manusia tertinggi) dan dipantau untuk tanda-tanda efek merugikan. Ketiadaan efek toksik pada dosis tinggi ini memberikan tingkat kepercayaan yang tinggi terhadap keamanan protein tersebut (Hammond et al., 2004).

3. Persyaratan Labeling

Pelabelan makanan yang mengandung bahan hasil rekayasa genetika adalah salah satu isu kebijakan yang paling diperdebatkan dan bervariasi secara global. Kebijakan pelabelan mencerminkan filosofi regulasi yang berbeda dan berbagai pandangan tentang hak konsumen dan tujuan dari pelabelan makanan. Ada dua pendekatan utama untuk pelabelan: pelabelan wajib dan pelabelan sukarela. Pelabelan wajib, seperti yang diterapkan di lebih dari 60 negara termasuk Uni Eropa, Australia, Jepang, dan Indonesia, mengharuskan semua makanan yang mengandung bahan

GMO di atas ambang batas tertentu untuk diberi label. Di Uni Eropa, ambang batasnya adalah 0.9% untuk keberadaan GMO yang tidak disengaja atau tidak dapat dihindari secara teknis (European Commission, 2003). Argumen utama di balik pelabelan wajib adalah hak konsumen untuk tahu (*right to know*), yang memungkinkan konsumen untuk membuat pilihan berdasarkan informasi sesuai dengan preferensi pribadi, etis, atau agama mereka, terlepas dari apakah ada perbedaan keamanan atau nutrisi. Pendukung juga berpendapat bahwa pelabelan wajib meningkatkan transparansi dalam rantai makanan.

Sebaliknya, negara negara seperti Amerika Serikat dan Kanada secara historis mengadopsi pendekatan pelabelan sukarela. Argumen di balik pendekatan ini adalah bahwa pelabelan makanan wajib secara tradisional dicadangkan untuk informasi yang berkaitan dengan keamanan (misalnya, keberadaan alergen) atau perbedaan nutrisi yang signifikan. Karena badan pengatur telah menetapkan bahwa makanan GMO yang disetujui sama amannya dan secara nutrisi setara dengan makanan konvensional, pelabelan wajib dianggap tidak perlu dan berpotensi menyesatkan konsumen dengan secara keliru menyiratkan adanya risiko (McHughen, 2013). Namun, sebagai tanggapan terhadap tekanan konsumen, AS baru-baru ini menerapkan standar "Pengungkapan Makanan Bioengineered" nasional, yang mengharuskan pengungkapan melalui teks, simbol, atau kode QR, sebuah pendekatan hibrida. Perdebatan tentang pelabelan ini menyoroti persimpangan yang kompleks antara sains, perdagangan, hak konsumen, dan persepsi publik.

C. Etika dan Hak Kekayaan Intelektual

Diskusi tentang bioteknologi seringkali melampaui data ilmiah dan memasuki ranah etika, yaitu pertanyaan tentang apa yang benar dan salah, baik dan buruk. Isu etika dalam rekayasa genetika bersifat kompleks dan berakar pada pandangan dunia, nilai nilai budaya, dan keyakinan agama yang berbeda. Perdebatan ini tidak hanya tentang keamanan, tetapi tentang makna dan implikasi dari memodifikasi kehidupan pada tingkat yang paling fundamental (Thompson, 2017). Salah satu argumen etis yang paling sering diajukan adalah argumen "ketidakalamian". Beberapa orang berpendapat bahwa melintasi batas spesies secara artifisial, misalnya dengan memasukkan gen ikan ke dalam stroberi, secara inheren salah karena melanggar tatanan alam atau "bermain Tuhan". Argumen ini sering didasarkan pada pandangan bahwa alam memiliki nilai intrinsik yang harus dihormati dan tidak boleh dimanipulasi untuk tujuan manusia semata. Namun, penentang argumen ini menunjukkan bahwa hampir semua pertanian modern pada dasarnya "tidak alami" dan bahwa manusia telah secara dramatis mengubah organisme melalui pemuliaan selektif selama ribuan tahun. Perdebatan ini menyoroti perbedaan filosofis yang mendalam tentang hubungan antara manusia dan alam.

Isu etika besar lainnya berkaitan dengan hak kekayaan intelektual (HKI), terutama paten. Di banyak negara, gen, sel, dan organisme hasil rekayasa genetika yang baru dan bermanfaat dapat dipatenkan. Paten memberikan hak eksklusif kepada penemu untuk menggunakan dan menjual penemuan mereka selama periode tertentu (biasanya 20 tahun). Sistem paten dirancang untuk mendorong inovasi dengan

memungkinkan penemu untuk mendapatkan kembali investasi riset dan pengembangan mereka yang besar. Namun, penerapan paten pada bentuk kehidupan telah menimbulkan kontroversi etis dan sosial yang signifikan (Enriquez, 1998).

Banyak yang berpendapat secara etis bahwa kehidupan, bahkan pada tingkat gen, tidak seharusnya menjadi milik pribadi atau dikomodifikasi. Ada juga kekhawatiran tentang keadilan dan akses. Sistem paten telah menyebabkan konsolidasi industri benih di tangan beberapa perusahaan multinasional, yang menimbulkan kekhawatiran tentang berkurangnya persaingan dan meningkatnya harga benih. Kontrak penggunaan teknologi yang menyertai benih yang dipatenkan seringkali melarang petani untuk menyimpan benih dari panen mereka, yang bertentangan dengan praktik pertanian tradisional dan dapat meningkatkan ketergantungan petani. Menyeimbangkan kebutuhan untuk mendorong inovasi melalui HKI dengan kebutuhan untuk memastikan akses yang adil terhadap teknologi dan perlindungan hak petani adalah salah satu tantangan etika dan kebijakan yang paling sulit dalam bioteknologi pertanian.

Analogi: Perdebatan etika tentang paten gen mirip dengan perdebatan fiktif tentang mematenkan kata kata dalam bahasa. Bayangkan jika sebuah perusahaan besar berhasil mematenkan kata "harapan". Argumen pendukung paten adalah bahwa perusahaan tersebut telah menghabiskan miliaran dolar untuk meneliti dan membuktikan bahwa penggunaan kata "harapan" dalam novel dapat secara signifikan meningkatkan penjualan dan kebahagiaan pembaca, sehingga mereka berhak mendapatkan hak eksklusif untuk menggunakannya selama 20 tahun untuk mendapatkan kembali investasi

mereka. Argumen penentang etis adalah bahwa kata kata adalah milik bersama umat manusia dan tidak seorang pun boleh memilikinya. Argumen keadilan adalah bahwa jika hanya satu perusahaan yang dapat menggunakan kata "harapan", maka hanya penulis kaya yang mampu membayar lisensi yang dapat menulis cerita yang penuh harapan, sementara penulis lain yang lebih miskin akan terpaksa menulis cerita yang suram, sehingga menciptakan ketidakadilan dalam dunia sastra.

1. Etika Rekayasa Genetik

Perdebatan etis tentang rekayasa genetika seringkali berpusat pada beberapa tema utama. Di luar argumen ketidakalamian, ada kekhawatiran tentang konsekuensi yang tidak diinginkan dan potensi arogansi manusia. Prinsip kehati-hatian (*precautionary principle*) sering diajukan sebagai kerangka etis untuk menanggapi ketidakpastian ini. Prinsip ini, dalam bentuknya yang kuat, menyatakan bahwa jika ada ancaman kerusakan yang serius atau tidak dapat dipulihkan, ketiadaan kepastian ilmiah yang penuh tidak boleh digunakan sebagai alasan untuk menunda tindakan pencegahan. Para pendukungnya berargumen bahwa karena kita tidak dapat sepenuhnya memprediksi semua konsekuensi jangka panjang dari pelepasan GMO ke ekosistem, kita harus bertindak dengan sangat hati hati, bahkan jika risiko spesifik belum terbukti (Renn, 2007).

Isu keadilan distributif juga merupakan perhatian etis yang sentral. Siapa yang menanggung risiko dan siapa yang menuai manfaat dari teknologi ini? Ada kekhawatiran bahwa manfaat bioteknologi pertanian, seperti peningkatan keuntungan, sebagian besar mengalir ke perusahaan benih besar dan petani skala industri di negara maju, sementara

risikonya (seperti potensi dampak lingkungan atau erosi keanekaragaman hayati) mungkin ditanggung secara tidak proporsional oleh petani kecil dan masyarakat di negara berkembang (Glover, 2010). Kerangka kerja etis yang berfokus pada keadilan menuntut agar pengembangan dan penyebaran bioteknologi harus secara eksplisit bertujuan untuk menguntungkan mereka yang paling membutuhkan dan rentan.

Selain itu, ada pertimbangan etis yang berkaitan dengan kesejahteraan hewan, terutama dalam konteks rekayasa genetika hewan untuk tujuan pertanian. Pertanyaan muncul tentang apakah modifikasi genetik dapat menyebabkan penderitaan atau masalah kesehatan yang tidak terduga pada hewan. Oleh karena itu, kerangka etis untuk penelitian hewan menuntut penerapan prinsip 3R: *Replacement* (mengganti hewan dengan alternatif jika memungkinkan), *Reduction* (mengurangi jumlah hewan yang digunakan), dan *Refinement* (menyempurnakan prosedur untuk meminimalkan rasa sakit dan penderitaan) (Russell & Burch, 1959). Isu isu etika ini menyoroti kebutuhan akan pengawasan publik, komite etika yang independen, dan dialog yang inklusif dalam tata kelola bioteknologi.

2. Paten Gen dan Organisme Transgenik

Sistem paten dirancang untuk memberikan hak eksklusif terbatas waktu kepada penemu sebagai imbalan atas pengungkapan penemuan mereka kepada publik. Tujuannya adalah untuk menstimulasi inovasi teknologi. Di banyak negara, termasuk Amerika Serikat, penemuan yang melibatkan materi biologis, termasuk gen yang diisolasi, konstruksi DNA rekombinan, sel yang dimodifikasi, dan organisme transgenik, dapat

dipatenkan asalkan memenuhi kriteria standar kebaruan, langkah inventif, dan kegunaan industri (Bostyn, 2004). Pemberian paten pada gen dan organisme hidup telah menjadi sumber kontroversi yang signifikan. Dari perspektif hukum, argumennya adalah bahwa gen yang telah diisolasi dari lingkungan alaminya dan dikarakterisasi fungsinya bukanlah produk alam semata, melainkan penemuan manusia yang layak mendapatkan perlindungan paten. Namun, dari perspektif etis dan sosial, banyak yang menentang komodifikasi bentuk kehidupan. Keputusan Mahkamah Agung AS pada tahun 2013 dalam kasus *Association for Molecular Pathology v. Myriad Genetics* memberikan nuansa pada perdebatan ini, dengan memutuskan bahwa DNA genomik alami tidak dapat dipatenkan, tetapi DNA komplementer (cDNA) yang dibuat secara sintetis dapat dipatenkan (Kesselheim et al., 2013).

Dampak ekonomi dari paten dalam bioteknologi pertanian sangat besar. Paten memberikan kekuatan pasar yang signifikan kepada perusahaan pemegang paten, yang dapat mengarah pada harga benih yang lebih tinggi dan persyaratan lisensi yang ketat bagi petani. Ada juga kekhawatiran bahwa "belantara paten" (*patent thicket*), di mana banyak paten yang tumpang tindih dimiliki oleh berbagai pihak untuk satu produk, dapat menghambat penelitian dan inovasi lebih lanjut, terutama di sektor publik dan perusahaan kecil yang mungkin tidak mampu membayar biaya lisensi atau menghadapi litigasi paten yang mahal (Graff et al., 2003).

3. Perlindungan Petani dan Varietas Lokal

Dalam konteks HKI dan bioteknologi, ada ketegangan yang melekat antara perlindungan inovasi formal (paten) dan perlindungan sistem

inovasi informal petani dan komunitas lokal. Selama ribuan tahun, petani telah secara bebas menyimpan, menukar, dan memuliakan benih, yang mengarah pada pengembangan ribuan varietas lokal atau *landraces* yang sangat adaptif terhadap kondisi setempat dan merupakan fondasi dari keanekaragaman hayati pertanian. Namun, sistem HKI modern, terutama paten dan rezim Perlindungan Varietas Tanaman (PVT) di bawah UPOV 1991, dapat membatasi praktik praktik ini (Kloppenburg, 2010).

Kontrak yang menyertai benih yang dipatenkan seringkali secara eksplisit melarang petani menyimpan benih untuk penanaman kembali, memaksa mereka untuk membeli benih baru setiap tahun. Hal ini dapat menjadi beban ekonomi bagi petani kecil. Sebagai respons terhadap kekhawatiran ini, beberapa perjanjian internasional dan undang-undang nasional telah mencoba untuk menyeimbangkan hak pemulia dengan hak petani. Perjanjian Internasional tentang Sumber Daya Genetik Tanaman untuk Pangan dan Pertanian (ITPGRFA) secara eksplisit mengakui kontribusi petani terhadap konservasi dan pengembangan sumber daya genetik dan mendukung implementasi Hak Petani (*Farmers' Rights*) (FAO, 2009).

Hak Petani mencakup hak untuk berpartisipasi dalam pengambilan keputusan tentang sumber daya genetik, hak untuk mendapatkan bagian yang adil dan merata dari manfaat yang timbul dari pemanfaatan sumber daya genetik, dan hak untuk menyimpan, menggunakan, menukar, dan menjual benih yang dipanen dari pertanian mereka (tergantung pada hukum nasional). Melindungi varietas lokal dan sistem pengetahuan tradisional yang terkait dengannya tidak hanya merupakan masalah keadilan tetapi juga penting untuk ketahanan pangan di masa depan, karena varietas ini adalah sumber daya genetik yang sangat berharga

untuk adaptasi terhadap perubahan iklim dan tantangan lainnya. Menciptakan sistem HKI yang menghargai dan melindungi baik inovasi formal maupun informal tetap menjadi tantangan kebijakan global yang besar.

D. Isu Sosial dan Ekonomi

Adopsi teknologi bioteknologi pertanian tidak terjadi dalam vakum sosial atau ekonomi. Ia berinteraksi dengan dan dibentuk oleh struktur sosial, hubungan kekuasaan, dan dinamika pasar yang ada. Oleh karena itu, analisis dampak dari teknologi ini harus melampaui sekadar evaluasi agronomis dan mencakup pertimbangan sosial dan ekonomi yang lebih luas. Isu isu ini seringkali menjadi inti dari kontroversi publik seputar GMO dan dapat sangat mempengaruhi lintasan pengembangan dan adopsi teknologi. Salah satu isu utama adalah ketimpangan akses terhadap teknologi dan manfaatnya. Ada kekhawatiran bahwa bioteknologi pertanian, yang sebagian besar dikembangkan dan dikendalikan oleh perusahaan multinasional besar dari negara maju, mungkin tidak dirancang untuk mengatasi masalah prioritas dari petani miskin dan miskin sumber daya di negara berkembang (Stone, 2010). Fokus pada tanaman komoditas utama seperti jagung, kedelai, dan kapas, serta sifat sifat seperti toleransi herbisida yang lebih sesuai untuk pertanian skala besar dan mekanis, dapat memperlebar kesenjangan antara petani komersial dan petani subsisten. Memastikan bahwa penelitian dan pengembangan bioteknologi juga berfokus pada tanaman yatim piatu dan sifat sifat yang relevan bagi petani kecil (seperti toleransi kekeringan atau efisiensi penggunaan nutrisi) sangat penting untuk distribusi manfaat yang lebih adil.

Kontroversi publik seputar GMO itu sendiri adalah fenomena sosial yang signifikan. Persepsi risiko publik seringkali berbeda dari penilaian risiko oleh para ahli ilmiah. Psikolog dan sosiolog telah menunjukkan bahwa persepsi risiko dipengaruhi oleh banyak faktor di luar probabilitas ilmiah, termasuk rasa takut terhadap yang tidak diketahui, kurangnya kepercayaan pada institusi (pemerintah dan perusahaan), kekhawatiran tentang kontrol dan keadilan, serta nilai nilai moral dan etis (Slovic, 1999). Kegagalan para ilmuwan dan pembuat kebijakan untuk memahami dan terlibat secara hormat dengan kekhawatiran publik ini telah berkontribusi pada polarisasi perdebatan.

Peran organisasi non-pemerintah (LSM) dan masyarakat sipil juga sangat penting dalam membentuk diskursus sosial dan politik seputar bioteknologi. Kelompok kelompok ini memainkan peran ganda. Di satu sisi, mereka dapat bertindak sebagai "anjing penjaga" yang penting, mengangkat isu isu kritis tentang dampak lingkungan, konsolidasi perusahaan, dan keadilan sosial yang mungkin diabaikan. Di sisi lain, beberapa kelompok dituduh menyebarkan disinformasi dan menakut nakuti publik tanpa dasar ilmiah yang kuat, yang dapat menghambat adopsi teknologi yang berpotensi bermanfaat (Paarlberg, 2008). Menavigasi arena sosial dan ekonomi yang kompleks ini memerlukan pendekatan yang transparan, partisipatif, dan berbasis bukti dari semua pemangku kepentingan.

Analogi: Pengenalan mobil otonom (self-driving) ke masyarakat menghadirkan isu sosial dan ekonomi yang serupa dengan bioteknologi. Ketimpangan akses: Awalnya, hanya orang kaya yang mampu membeli mobil otonom, sementara supir taksi dan truk (petani kecil) berisiko kehilangan pekerjaan mereka, memperlebar kesenjangan ekonomi.

Kontroversi publik: Meskipun para insinyur mengklaim mobil otonom lebih aman, banyak orang merasa tidak nyaman dan tidak percaya menyerahkan kontrol kepada mesin, takut akan kegagalan yang tidak terduga atau peretasan. Peran LSM: Kelompok advokasi keselamatan jalan raya mungkin menyuarakan kekhawatiran yang sah tentang pengujian dan regulasi, sementara kelompok lain mungkin memicu ketakutan irasional tentang "pemberontakan mobil". Mengelola transisi ini memerlukan lebih dari sekadar teknologi yang hebat; ia memerlukan kebijakan publik yang cermat, dialog sosial, dan kerangka kerja etis untuk mengatasi dampak sosial ekonominya.

1. Ketimpangan Akses Teknologi

Akses terhadap manfaat bioteknologi pertanian tidak merata secara global dan di dalam negara. Sebagian besar lahan tanaman transgenik komersial terkonsentrasi di beberapa negara, terutama AS, Brasil, Argentina, Kanada, dan India. Banyak negara, terutama di Afrika dan Eropa, memiliki adopsi yang sangat terbatas atau tidak ada sama sekali, seringkali karena hambatan regulasi atau politik (James, 2017). Ketimpangan ini berarti bahwa petani di beberapa bagian dunia tidak dapat mengakses alat yang berpotensi meningkatkan produktivitas dan pendapatan mereka.

Bahkan di dalam negara yang mengadopsi GMO, mungkin ada ketimpangan akses antara petani skala besar dan kecil. Biaya benih transgenik yang lebih tinggi dan kebutuhan akan input komplementer atau akses ke pasar tertentu dapat menjadi penghalang bagi petani kecil. Namun, banyak penelitian juga menunjukkan bahwa ketika teknologinya sesuai dan dapat diakses, petani kecil bisa mendapatkan manfaat yang

signifikan, seperti yang ditunjukkan oleh kasus kapas Bt di India dan Afrika Selatan (Qaim, 2009). Oleh karena itu, kunci untuk mengatasi ketimpangan akses adalah pengembangan dan penyebaran teknologi yang secara eksplisit disesuaikan dengan kebutuhan dan konteks petani kecil, serta kebijakan yang mendukung akses mereka terhadap benih, kredit, dan pasar. Kemitraan publik-swasta dan peran lembaga penelitian publik menjadi sangat penting dalam mengembangkan produk bioteknologi "pro-poor" (pro-orang miskin).

2. Kontroversi Publik tentang GMO

Kontroversi publik seputar organisme hasil modifikasi genetika (GMO) adalah salah satu contoh paling menonjol dari kesenjangan antara penilaian risiko ilmiah dan persepsi risiko publik. Mayoritas lembaga ilmiah dan badan pengatur di seluruh dunia telah menyimpulkan bahwa makanan GMO yang saat ini ada di pasar aman untuk dikonsumsi dan tidak menimbulkan risiko yang lebih besar daripada makanan konvensional. Namun, sebagian besar publik di banyak negara tetap skeptis atau menentang (Frewer et al., 2013). Kesenjangan ini dapat dijelaskan oleh beberapa faktor. Pertama, kurangnya kepercayaan pada sumber informasi. Publik seringkali lebih tidak percaya pada informasi yang berasal dari industri atau pemerintah dibandingkan dengan yang berasal dari kelompok aktivis atau media. Kedua, framing media. Media seringkali lebih fokus pada kontroversi dan potensi risiko daripada pada konsensus ilmiah, yang dapat membentuk persepsi publik. Ketiga, heuristik psikologis. Orang cenderung menilai risiko berdasarkan faktor faktor seperti "rasa takut" atau "ketidakalamian" daripada probabilitas statistik. Gagasan tentang transfer gen antar spesies terasa "tidak

alami" bagi banyak orang, yang memicu respons emosional negatif terlepas dari bukti keamanannya (Blancke et al., 2015).

Keempat, kontroversi GMO seringkali bukan hanya tentang sains, tetapi juga merupakan "proksi" untuk kekhawatiran yang lebih luas tentang sistem pangan industri, globalisasi, dan kekuatan perusahaan. Bagi banyak orang, menentang GMO adalah cara untuk menyuarakan penolakan terhadap model pertanian yang mereka anggap tidak berkelanjutan atau tidak adil. Mengatasi kontroversi ini memerlukan lebih dari sekadar "mendidik" publik tentang sains; ia memerlukan dialog dua arah yang tulus, pengakuan terhadap nilai nilai dan kekhawatiran yang mendasari, serta peningkatan transparansi dan akuntabilitas dalam tata kelola teknologi.

3. Peran LSM dan Masyarakat Sipil

Organisasi non-pemerintah (LSM) dan kelompok masyarakat sipil lainnya telah memainkan peran yang sangat berpengaruh dalam membentuk perdebatan dan kebijakan bioteknologi global. Mereka beroperasi di berbagai tingkatan, dari advokasi kebijakan di tingkat internasional hingga pengorganisasian di tingkat akar rumput. Peran mereka sangat beragam dan seringkali terpolarisasi. Di satu sisi, banyak LSM, seperti Greenpeace, Friends of the Earth, dan Third World Network, telah menjadi kritikus vokal terhadap bioteknologi pertanian. Mereka telah berhasil meningkatkan kesadaran publik tentang potensi risiko lingkungan, dampak sosial ekonomi pada petani kecil, dan isu konsolidasi perusahaan. Mereka seringkali mengadvokasi penerapan prinsip kehati-hatian yang ketat, moratorium terhadap pelepasan GMO, dan pelabelan wajib. Kampanye mereka yang terorganisir dengan baik

telah sangat efektif dalam mempengaruhi opini publik dan kebijakan pemerintah, terutama di Eropa (Schurman & Munro, 2010).

Di sisi lain, ada juga LSM dan yayasan yang mendukung pemanfaatan bioteknologi yang bertanggung jawab untuk tujuan kemanusiaan. Yayasan Bill & Melinda Gates, misalnya, adalah salah satu pendana terbesar penelitian bioteknologi pertanian yang berfokus pada peningkatan hasil dan gizi tanaman pokok untuk petani kecil di Afrika dan Asia Selatan. Kelompok lain, seperti International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications (ISAAA), berfokus pada penyebaran informasi dan transfer teknologi bioteknologi ke negara berkembang. Peran masyarakat sipil ini menyoroti bahwa tidak ada pandangan monolitik tentang bioteknologi; sebaliknya, ini adalah arena pertarungan nilai dan kepentingan yang beragam. Keterlibatan masyarakat sipil yang konstruktif dan berbasis bukti sangat penting untuk tata kelola teknologi yang demokratis dan akuntabel.

E. Perspektif Global terhadap Bioteknologi

Pandangan dan kebijakan terhadap bioteknologi pertanian, khususnya tanaman transgenik, sangat bervariasi di seluruh dunia. Lanskap global dapat secara kasar dibagi menjadi beberapa blok dengan pendekatan yang berbeda, yang mencerminkan perbedaan dalam sistem regulasi, opini publik, struktur pertanian, dan kepentingan perdagangan. Perbedaan ini telah menciptakan tantangan yang signifikan bagi harmonisasi kebijakan dan perdagangan produk pertanian global. Blok pertama, yang dipimpin oleh Amerika Serikat, Argentina, Brasil, dan Kanada, adalah negara negara yang mengadopsi bioteknologi secara luas. Negara negara ini memiliki kerangka kerja regulasi berbasis produk yang

relatif efisien dan merupakan produsen dan eksportir utama tanaman GMO komoditas seperti jagung, kedelai, dan kapas. Di negara negara ini, adopsi oleh petani sangat tinggi dan perdebatan publik relatif lebih tenang dibandingkan di tempat lain. Pertanian di negara negara ini seringkali berskala besar, mekanis, dan berorientasi ekspor, di mana manfaat efisiensi dari teknologi GMO sangat dihargai (James, 2017).

Blok kedua adalah Uni Eropa (UE), yang mewakili pendekatan yang paling berhati hati. Didorong oleh opini publik yang skeptis dan serangkaian krisis keamanan pangan di masa lalu (meskipun tidak terkait dengan GMO), UE telah menerapkan kerangka kerja regulasi berbasis proses yang sangat ketat dan persyaratan pelabelan wajib. Akibatnya, budidaya tanaman GMO di UE sangat terbatas (hanya jagung Bt di Spanyol dan Portugal), meskipun impor sejumlah besar pakan ternak GMO (terutama kedelai) diizinkan (Eriksson et al., 2019). Pendekatan UE yang ketat ini telah sangat mempengaruhi kebijakan di banyak negara lain, terutama di Afrika.

Blok ketiga adalah Asia, yang menunjukkan gambaran yang lebih beragam. Negara negara seperti India dan Pakistan telah mengadopsi kapas Bt secara luas dengan keberhasilan yang signifikan. Cina adalah investor besar dalam penelitian bioteknologi tetapi bergerak dengan hati hati dalam hal komersialisasi tanaman pangan GMO, meskipun telah mengadopsi kapas Bt. Filipina adalah salah satu negara pertama di Asia yang mengadopsi jagung Bt dan baru-baru ini menyetujui *Golden Rice* untuk dibudidayakan. Negara lain, seperti Jepang dan Korea Selatan, mengizinkan impor produk GMO tetapi memiliki persyaratan pelabelan yang ketat dan belum menyetujui budidaya komersial yang signifikan.

Blok keempat adalah Afrika, benua yang paling beragam dan kompleks dalam hal ini. Afrika Selatan adalah satu-satunya negara di benua itu yang telah mengadopsi tanaman pangan GMO (jagung, kedelai) dan kapas secara luas. Beberapa negara lain, seperti Sudan, Nigeria, dan Ethiopia, telah mulai menyetujui budidaya kapas Bt. Namun, banyak negara Afrika lainnya masih memiliki moratorium atau kerangka kerja regulasi yang sangat lambat, sebagian besar dipengaruhi oleh pendekatan kehati-hatian UE dan kekhawatiran tentang kehilangan akses ke pasar ekspor Eropa (Adenle et al., 2013). Perdebatan di Afrika sangat intens, dengan pertimbangan ketahanan pangan, kedaulatan, dan kebutuhan untuk meningkatkan produktivitas pertanian menjadi pusatnya.

Analogi: Perspektif global terhadap bioteknologi mirip dengan sikap berbagai negara terhadap energi nuklir. Blok AS/Amerika adalah seperti negara negara yang secara luas menggunakan tenaga nuklir sebagai sumber energi utama, dengan keyakinan pada sistem keamanan dan regulasi mereka untuk mengelola risikonya. Uni Eropa adalah seperti Jerman, yang setelah bencana Fukushima, memutuskan untuk secara bertahap menghentikan semua pembangkit listrik tenaga nuklirnya karena kekhawatiran publik yang mendalam tentang keselamatan, meskipun para ahli mungkin berpendapat risikonya dapat dikelola. Blok Asia adalah seperti Prancis dan Jepang; Prancis sangat bergantung pada tenaga nuklir, sementara Jepang menggunakan nuklir tetapi dengan tingkat pengawasan publik dan kehati-hatian yang sangat tinggi setelah mengalami insiden. Blok Afrika adalah seperti negara berkembang yang sedang mempertimbangkan apakah akan membangun pembangkit listrik tenaga nuklir pertamanya; mereka melihat potensi manfaat energi yang

besar tetapi juga menghadapi tekanan dari kelompok anti-nuklir global dan khawatir tentang biaya dan kapasitas untuk mengelola teknologi yang kompleks tersebut dengan aman.

1. Perbandingan Kebijakan Regional

Perbandingan kebijakan bioteknologi antara Amerika Utara dan Uni Eropa menyoroti perbedaan filosofis yang paling mendasar. Kebijakan AS, yang diatur oleh tiga badan (USDA, FDA, EPA), didasarkan pada *Coordinated Framework for Regulation of Biotechnology* tahun 1986. Kerangka kerja ini menegaskan bahwa regulasi harus difokuskan pada produk dan risikonya, bukan pada proses yang digunakan untuk membuatnya. Oleh karena itu, tanaman rekayasa genetika pada dasarnya diatur di bawah undang-undang yang ada untuk hama tanaman, pestisida, dan aditif makanan (McHughen, 2016). Pendekatan ini secara umum menganggap GMO tidak secara inheren lebih berisiko daripada tanaman hasil pemuliaan konvensional.

Sebaliknya, kebijakan UE secara eksplisit didasarkan pada prinsip kehati-hatian dan pendekatan berbasis proses. Arahan UE 2001/18/EC mendefinisikan GMO berdasarkan teknik rekayasa genetika yang digunakan. Akibatnya, semua GMO, terlepas dari sifatnya, harus melalui proses otorisasi terpusat yang mencakup penilaian risiko lingkungan dan keamanan pangan yang komprehensif oleh Otoritas Keamanan Pangan Eropa (EFSA), serta pemungutan suara oleh negara-negara anggota. Proses ini juga memungkinkan pertimbangan "faktor sah lainnya," termasuk isu sosial ekonomi dan etis, dan memberlakukan persyaratan ketertelusuran dan pelabelan yang ketat di seluruh rantai pasokan (Tagliabue, 2016). Perbedaan ini menciptakan sistem di mana produk

yang sama dapat dianggap sebagai produk pertanian biasa di satu sisi Atlantik dan sebagai produk yang sangat diatur di sisi lain.

Kebijakan di negara berkembang seringkali merupakan campuran dari kedua pengaruh ini. Banyak negara di Amerika Latin telah mengadopsi model yang lebih mirip dengan AS, yang memfasilitasi adopsi cepat tanaman komoditas GMO. Sebaliknya, banyak negara di Afrika telah mengadopsi kerangka kerja yang dimodelkan setelah UE, yang seringkali menghasilkan proses regulasi yang lambat dan menghambat penelitian dan pengembangan lokal.

2. Diplomasi Bioteknologi

Perbedaan kebijakan yang tajam ini telah menjadikan bioteknologi sebagai arena diplomasi internasional, negosiasi perdagangan, dan bahkan konflik. "Perang dagang" GMO antara AS dan UE adalah contoh yang paling menonjol. Pada akhir 1990-an, UE memberlakukan moratorium de facto terhadap persetujuan GMO baru, yang secara efektif memblokir impor banyak produk jagung dan kedelai dari AS. AS, bersama dengan Argentina dan Kanada, menggugat UE di Organisasi Perdagangan Dunia (WTO) pada tahun 2003, dengan alasan bahwa moratorium UE adalah hambatan perdagangan ilegal yang tidak didasarkan pada bukti ilmiah yang kuat. Panel WTO akhirnya memutuskan mendukung AS, tetapi perselisihan tersebut menyoroti bagaimana perbedaan regulasi dapat menjadi sumber utama ketegangan perdagangan (Isaac, 2003).

Bantuan pangan juga telah menjadi arena diplomasi bioteknologi. Selama krisis kelaparan di Afrika bagian selatan pada awal tahun 2000 an, beberapa negara, seperti Zambia, menolak bantuan pangan dari AS

karena mengandung jagung GMO yang belum disetujui, karena khawatir benih tersebut dapat "mencemari" keanekaragaman hayati lokal mereka atau membahayakan status ekspor mereka ke Eropa. Insiden ini memicu perdebatan sengit tentang etika menahan bantuan pangan karena alasan bioteknologi (Zerbe, 2004). Diplomasi bioteknologi juga terjadi melalui forum internasional seperti Protokol Cartagena, di mana negara negara menegosiasikan aturan untuk perdagangan dan penanganan GMO. Negara negara berkembang seringkali mencoba untuk menavigasi antara tekanan dari blok pro-bioteknologi yang menekankan manfaat perdagangan dan ekonomi, dan blok yang lebih berhati hati yang menekankan kedaulatan, keamanan hayati, dan perlindungan pasar. Kapasitas teknis dan kelembagaan suatu negara untuk mengelola bioteknologi seringkali menjadi faktor kunci dalam posisi negosiasi mereka.

3. Rekomendasi Pengembangan Etis

Menavigasi kompleksitas bioteknologi, banyak sarjana dan komite etika telah mengusulkan kerangka kerja untuk pengembangan dan tata kelola yang etis. Rekomendasi ini seringkali melampaui sekadar penilaian keamanan teknis dan mencoba untuk memasukkan pertimbangan nilai yang lebih luas. Salah satu rekomendasi utama adalah perlunya transparansi dan keterlibatan publik yang lebih besar dalam proses pengambilan keputusan. Ini berarti bergerak melampaui model "defisit informasi" (di mana para ahli hanya "mendidik" publik) menuju model dialog dua arah yang sesungguhnya, di mana kekhawatiran dan nilai nilai publik didengar dan dipertimbangkan secara serius dalam proses regulasi (Nuffield Council on Bioethics, 1999).

Rekomendasi kedua adalah fokus yang lebih besar pada keadilan distributif. Pengembangan bioteknologi di masa depan harus secara eksplisit bertujuan untuk mengatasi masalah orang miskin dan terpinggirkan. Ini menyerukan peningkatan investasi publik dalam penelitian bioteknologi untuk tanaman yatim piatu dan sifat sifat yang relevan bagi petani kecil. Ini juga menuntut pengembangan model bisnis dan lisensi HKI yang inovatif (seperti kemitraan publik-swasta dan lisensi kemanusiaan) yang dapat memastikan bahwa teknologi dapat diakses dan terjangkau oleh mereka yang paling membutuhkannya (Commission on Intellectual Property Rights, 2002).

Rekomendasi ketiga adalah komitmen terhadap pengawasan pasca-pasar dan pemantauan jangka panjang. Bahkan setelah produk disetujui, penting untuk terus memantau dampak agronomis, lingkungan, dan sosial ekonominya di dunia nyata. Ini memungkinkan pembelajaran adaptif dan penyesuaian kebijakan jika dampak yang tidak terduga muncul. Secara keseluruhan, pengembangan etis menuntut pendekatan yang lebih holistik, partisipatif, dan bertanggung jawab secara sosial, yang menyeimbangkan kemajuan teknologi dengan kesejahteraan manusia dan kelestarian planet.

F. Rangkuman Bab

- Regulasi bioteknologi beroperasi di tingkat internasional (Protokol Cartagena, Codex Alimentarius) dan nasional, dengan tujuan memastikan keamanan hayati bagi manusia dan lingkungan.
- Penilaian keamanan hayati adalah proses evaluasi ilmiah kasus per kasus yang komprehensif, mencakup karakterisasi molekuler, analisis risiko genetik, serta uji toksisitas dan alergenisitas.

- Sistem regulasi global terbagi antara pendekatan berbasis proses (seperti di UE, lebih ketat dan berhati hati) dan berbasis produk (seperti di AS, lebih fokus pada karakteristik produk akhir).
- Isu etika utama dalam bioteknologi meliputi perdebatan tentang "ketidakalamian", konsekuensi yang tidak diinginkan, keadilan distributif, dan kontroversi seputar paten atas gen dan organisme hidup.
- Hak kekayaan intelektual (HKI) bertujuan mendorong inovasi tetapi menimbulkan kekhawatiran tentang konsolidasi industri, akses teknologi, dan dampaknya terhadap hak petani untuk menyimpan benih.
- Isu sosial ekonomi mencakup ketimpangan akses terhadap teknologi, kontroversi publik yang dipengaruhi oleh kepercayaan dan nilai, serta peran penting LSM dalam membentuk diskursus kebijakan.
- Pengembangan bioteknologi yang etis di masa depan menuntut transparansi, keterlibatan publik, fokus pada keadilan, dan pengawasan pasca-pasar yang bertanggung jawab.

G. Latihan Mahasiswa

Soal Esai

1. Bandingkan dan kontraskan pendekatan regulasi "berbasis proses" yang diadopsi oleh Uni Eropa dengan pendekatan "berbasis produk" yang diadopsi oleh Amerika Serikat untuk tanaman transgenik. Apa implikasi praktis dari kedua pendekatan ini?

2. Jelaskan langkah-langkah utama dalam penilaian keamanan hayati untuk sebuah tanaman transgenik baru. Fokus pada evaluasi keamanan pangan dan evaluasi dampak lingkungan.
3. Paten atas gen dan organisme hidup adalah topik yang kontroversial. Diskusikan argumen yang mendukung dan yang menentang praktik ini dari perspektif inovasi, etika, dan keadilan sosial.
4. Mengapa ada kesenjangan yang signifikan antara konsensus ilmiah tentang keamanan GMO dan persepsi risiko oleh sebagian besar publik? Jelaskan setidaknya tiga faktor yang berkontribusi pada kontroversi publik ini.
5. Bayangkan Anda adalah penasihat kebijakan untuk menteri pertanian di sebuah negara berkembang yang sedang mempertimbangkan untuk mengadopsi bioteknologi. Berikan tiga rekomendasi kunci untuk memastikan bahwa pengembangan dan penerapan bioteknologi di negara Anda berjalan secara etis dan bermanfaat bagi petani kecil.

Soal Pilihan Ganda

1. Perjanjian internasional yang mengatur pergerakan lintas batas Organisme Hasil Modifikasi Genetika (LMO) dan didasarkan pada prinsip kehati-hatian adalah...
   A. Protokol Kyoto
   B. Codex Alimentarius
   C. Protokol Cartagena -V-
   D. Perjanjian Paris

2. Pendekatan regulasi yang pemicunya adalah metode rekayasa genetika yang digunakan, bukan karakteristik produk akhirnya, dikenal sebagai...

   A. Pendekatan berbasis produk

   B. Pendekatan berbasis proses -V-

   C. Pendekatan berbasis risiko

   D. Pendekatan sukarela

3. Uji stabilitas protein baru dalam cairan lambung simulasi (pepsin) adalah bagian dari penilaian...

   A. Toksisitas

   B. Dampak lingkungan

   C. Alergenisitas -V-

   D. Karakterisasi molekuler

4. Isu etis yang berkaitan dengan siapa yang mendapat manfaat dan siapa yang menanggung risiko dari suatu teknologi baru termasuk dalam kategori...

   A. Prinsip kehati-hatian

   B. Keadilan distributif -V-

   C. Hak kekayaan intelektual

   D. Argumen ketidakalamian

5. Di Uni Eropa, makanan yang mengandung bahan GMO di atas ambang batas 0.9% harus...

A. Ditarik dari pasar

B. Diberi label secara wajib -V-

C. Hanya dijual di toko khusus

D. Diberi pajak tambahan

6. Perjanjian internasional yang mengakui kontribusi petani dan mendukung implementasi Hak Petani adalah...

A. UPOV 1991

B. ITPGRFA -V-

C. Protokol Nagoya

D. WTO-TRIPS

7. Kekhawatiran bahwa adopsi GMO dapat menyebabkan beberapa perusahaan besar mengendalikan pasar benih global adalah contoh dari isu...

A. Keamanan hayati

B. Sosial dan ekonomi -V-

C. Alergenisitas

D. Aliran gen

Studi Kasus atau Tugas Kontekstual

Sebuah perusahaan bioteknologi telah mengembangkan varietas kedelai transgenik baru yang sangat toleran terhadap kekeringan. Mereka ingin memasarkan benih ini di negara Anda, sebuah negara berkembang yang sering mengalami kekeringan dan sangat bergantung pada impor kedelai. Namun, di negara Anda, ada penolakan yang kuat dari beberapa

kelompok LSM dan kekhawatiran di kalangan publik tentang keamanan GMO. Kerangka regulasi nasional Anda masih dalam tahap pengembangan.

Sebagai kepala komite penasihat bioteknologi nasional yang baru dibentuk, Anda diminta untuk memberikan rekomendasi kepada pemerintah. Tulislah sebuah memo singkat yang menguraikan:

1. Pendekatan Regulasi: Sarankan jenis pendekatan regulasi (misalnya, berbasis proses, produk, atau hibrida) yang menurut Anda paling sesuai untuk konteks negara Anda, dan jelaskan alasannya.
2. Langkah Kunci Penilaian: Sebutkan tiga pertanyaan keamanan hayati paling kritis yang harus dijawab tentang kedelai toleran kekeringan ini sebelum persetujuan dapat dipertimbangkan.
3. Strategi Keterlibatan Publik: Usulkan satu strategi konkret untuk melibatkan publik dan para pemangku kepentingan dalam proses pengambilan keputusan untuk membangun kepercayaan dan memastikan proses yang transparan.

GLOSARIUM BAB 11

- Regulasi Bioteknologi: Sistem aturan dan prosedur yang ditetapkan oleh pemerintah untuk mengawasi pengembangan, pengujian, pelepasan, dan penggunaan produk bioteknologi.
- Keamanan Hayati *(Biosafety)*: Penerapan prinsip dan praktik untuk mencegah efek merugikan dari bioteknologi modern terhadap kesehatan manusia dan lingkungan.
- Protokol Cartagena: Perjanjian internasional yang mengatur pergerakan lintas batas Organisme Hasil Modifikasi Genetika (LMO).

- Prinsip Kehati-hatian (*Precautionary Principle*): Prinsip etis dan kebijakan yang menyatakan bahwa jika ada ancaman kerusakan serius, ketiadaan kepastian ilmiah tidak boleh menjadi alasan untuk menunda tindakan pencegahan.
- Codex Alimentarius: Kumpulan standar, pedoman, dan kode praktik pangan internasional yang diakui secara global.
- Penilaian Risiko (*Risk Assessment*): Proses ilmiah untuk mengidentifikasi, mengevaluasi, dan mengkarakterisasi risiko.
- Hak Kekayaan Intelektual (HKI): Hak hukum yang diberikan kepada penemu atau pencipta atas karya intelektual mereka, seperti paten, merek dagang, dan hak cipta.
- Paten: Hak eksklusif yang diberikan untuk suatu penemuan, yang memberikan hak kepada pemilik paten untuk melarang orang lain membuat, menggunakan, atau menjual penemuan tersebut selama periode tertentu.
- Hak Petani (*Farmers' Rights*): Konsep yang mengakui hak petani untuk menyimpan, menggunakan, menukar, dan menjual benih yang dipanen dari pertanian mereka, serta hak mereka untuk berpartisipasi dalam pengambilan keputusan dan pembagian manfaat.
- Pelabelan Wajib (*Mandatory Labeling*): Persyaratan hukum untuk mencantumkan label pada produk yang mengandung bahan bahan tertentu (dalam hal ini, GMO).
- Keadilan Distributif: Prinsip etis yang berkaitan dengan distribusi sumber daya, manfaat, dan beban yang adil di antara anggota.

BAB 12
STUDI KASUS DAN IMPLEMENTASI LAPANG

Tujuan Pembelajaran

Setelah mempelajari bab ini, mahasiswa diharapkan mampu:

1. Menganalisis studi kasus nyata dari implementasi tanaman transgenik, seperti Kapas Bt dan *Golden Rice*, termasuk dampak dan kontroversinya.
2. Mengevaluasi studi kasus dari penerapan teknologi penyuntingan gen pada tanaman seperti tomat dan kedelai.
3. Mengidentifikasi contoh konkret keberhasilan komersialisasi teknik kultur jaringan dalam industri hortikultura dan perkebunan.
4. Memahami model model inovasi dan komersialisasi bioteknologi, dari *spin-off* kampus hingga kemitraan industri.
5. Menjelaskan metode untuk mengevaluasi dampak teknologi bioteknologi, baik dari aspek ekonomi, sosial, maupun lingkungan, dalam jangka panjang.
6. Menarik pelajaran dari berbagai studi kasus untuk memahami faktor-faktor penentu keberhasilan atau kegagalan implementasi bioteknologi di lapangan.

Pendahuluan

Setelah membahas berbagai teori, teknik, dan perdebatan yang melingkupi bioteknologi pertanian, bab ini membumikan pengetahuan tersebut dengan melihat bagaimana teknologi tersebut diimplementasikan di dunia nyata. Ilmu pengetahuan di laboratorium dan rumah kaca, tetapi keberhasilan sesungguhnya dari sebuah inovasi diukur dari dampaknya di lapangan, di tangan petani, dan di piring konsumen. Bab ini akan membahasa berbagai contoh nyata dari penerapan bioteknologi pertanian di seluruh dunia melihat kisah sukses, menghadapi tantangan, dan belajar dari kegagalan. Studi kasus adalah alat pembelajaran yang sangat kuat melihat bagaimana variabel ilmiah, ekonomi, sosial, dan politik saling berinteraksi dalam konteks yang spesifik. Dengan membedah studi kasus ini, dapat mulai memahami nuansa dan kompleksitas dari proses inovasi teknologi, dari penemuan di laboratorium hingga adopsi di pasar. Ini bukan lagi hanya tentang apakah sebuah teknologi bekerja, tetapi tentang bagaimana teknologi bekerja, untuk siapa bekerja, dan dalam kondisi apa bekerja.

Bab ini mulai dengan melihat beberapa contoh tanaman transgenik yang paling terkenal dan paling banyak dibudidayakan, menyelami kisah Kapas Bt di India, melihat bagaimana teknologi ini diadopsi secara massal oleh jutaan petani kecil dan dampak dramatisnya terhadap pendapatan dan penggunaan pestisida. Kisah *Golden Rice* yang kontroversial, menganalisis perjalanannya yang panjang dari konsep kemanusiaan hingga persetujuan regulasi di Asia Tenggara. Selanjutnya, akan beralih ke teknologi yang lebih baru, yaitu penyuntingan gen, melihat contoh pertama dari produk yang berhasil mencapai pasar,

seperti tomat yang tahan lama di Jepang. Rekayasa genetika, beralih ke aplikasi kultur jaringan yang telah menjadi tulang punggung industri hortikultura dan perkebunan selama bertahun-tahun, melihat bagaimana perbanyakan massal pisang atau anggrek telah mengubah lanskap industri tersebut. Terakhir,akan melihat aspek bisnis dan evaluasi dari inovasi. Bagaimana sebuah penemuan di universitas dapat berubah menjadi produk komersial? Model seperti apa yang ada untuk inovasi bioteknologi? Dan bagaimana secara holistik mengevaluasi dampak dari teknologi ini setelah dilepas? Dengan mempelajari studi kasus nyata ini, akan mendapatkan perspektif yang lebih matang dan kritis tentang janji dan realitas bioteknologi pertanian.

A. Studi Kasus Tanaman Transgenik

Tanaman transgenik telah menjadi subjek perdebatan sengit selama lebih dari dua dekade. Namun, di luar kontroversi, mereka telah ditanam di ratusan juta hektar di seluruh dunia, terutama di benua Amerika dan sebagian Asia. Menganalisis studi kasus dari beberapa tanaman transgenik yang paling banyak diadopsi memberikan wawasan berharga tentang dampak ekonomi, sosial, dan lingkungan dari teknologi ini di dunia nyata. Studi kasus ini menyoroti bagaimana konteks lokal, termasuk sistem pertanian, tekanan hama, dan kebijakan pemerintah, sangat mempengaruhi hasil dari adopsi teknologi. Salah satu studi kasus yang paling sering dikutip adalah Kapas Bt. Kapas adalah tanaman yang sangat rentan terhadap serangan hama serangga, terutama penggerek buah kapas (*bollworm*), yang secara historis memerlukan aplikasi insektisida yang sangat intensif. Pengenalan Kapas Bt, yang mengekspresikan protein insektisidal dari *Bacillus thuringiensis*,

menawarkan solusi berbasis genetik untuk masalah ini. Studi kasus adopsi Kapas Bt, terutama di negara negara seperti India, Cina, dan Afrika Selatan, di mana sebagian besar penanamnya adalah petani kecil, memberikan data yang kaya tentang dampak teknologi ini pada tingkat rumah tangga petani.

Studi kasus lain yang sangat berbeda dalam hal tujuan dan lintasan adalah *Golden Rice*. Tidak seperti tanaman transgenik generasi pertama yang berfokus pada sifat agronomis, *Golden Rice* dirancang dengan tujuan kemanusiaan murni, yaitu untuk mengatasi kekurangan vitamin A. Perjalanannya yang panjang dan berliku, dari penemuan ilmiah hingga persetujuan regulasi, menyoroti tantangan unik yang dihadapi oleh proyek bioteknologi sektor publik yang bertujuan untuk manfaat kesehatan, termasuk penolakan dari kelompok aktivis dan proses regulasi yang kompleks dan mahal.

Jagung tahan serangga, terutama jagung Bt, adalah studi kasus penting lainnya, khususnya di negara maju seperti Amerika Serikat dan negara berkembang seperti Afrika Selatan dan Filipina. Selain memberikan manfaat langsung kepada petani penanam jagung Bt dengan mengurangi kerugian akibat penggerek batang, adopsi skala besar dari teknologi ini juga terbukti memberikan manfaat "halo" bagi petani jagung non-Bt di sekitarnya. Dengan secara signifikan menekan populasi hama penggerek secara regional, jagung Bt menciptakan efek barang publik, mengurangi tekanan hama bahkan bagi petani yang tidak menanamnya (Hutchison et al., 2010). Studi kasus ini menunjukkan bahwa dampak teknologi dapat melampaui tingkat lahan individu. Menganalisis kasus kasus ini secara mendalam memungkinkan kita untuk

bergerak melampaui perdebatan umum dan memahami dampak nyata dari teknologi ini dalam berbagai konteks.

Analogi: Mempelajari studi kasus bioteknologi seperti membaca biografi orang orang sukses yang berbeda. Kapas Bt di India adalah seperti biografi seorang wirausahawan dari latar belakang sederhana yang, melalui inovasi tunggal yang brilian, berhasil membangun kerajaan bisnis dan mengangkat taraf hidup ribuan karyawannya. Jagung Bt di AS adalah seperti biografi seorang industrialis raksasa yang tidak hanya membuat perusahaannya sendiri sangat efisien, tetapi juga secara tidak langsung menciptakan infrastruktur dan standar baru yang menguntungkan seluruh industri. *Golden Rice* adalah seperti biografi seorang dokter atau ilmuwan kemanusiaan yang mendedikasikan hidupnya untuk mengembangkan obat penyelamat jiwa, tetapi harus menghabiskan puluhan tahun berjuang melawan birokrasi, politik, dan disinformasi sebelum penemuannya akhirnya dapat menjangkau orang orang yang membutuhkannya. Setiap cerita berbeda, tetapi semuanya memberikan pelajaran berharga tentang inovasi dan dampaknya.

1. Bt Cotton di India

India adalah salah satu contoh paling signifikan dari adopsi tanaman transgenik oleh jutaan petani kecil. Kapas Bt pertama kali disetujui untuk budidaya komersial di India pada tahun 2002. Sebelum itu, petani kapas India menghadapi masalah besar dengan infestasi hama penggerek buah kapas (*Helicoverpa armigera*), yang telah mengembangkan resistensi terhadap banyak insektisida kimia. Akibatnya, petani menyemprotkan pestisida secara intensif, seringkali lebih dari 10-15 kali per musim, yang tidak hanya mahal tetapi juga berbahaya bagi kesehatan dan lingkungan.

Tingginya biaya input dan seringnya kegagalan panen menyebabkan banyak petani terjerat utang (Smale et al., 2009).

Pengenalan Kapas Bt, yang secara efektif mengendalikan hama penggerek, diadopsi dengan sangat cepat oleh petani India. Dalam waktu satu dekade, lebih dari 90% dari total area kapas di India ditanami dengan varietas Bt. Dampaknya telah didokumentasikan secara ekstensif melalui banyak studi ekonomi. Sebuah meta-analisis komprehensif yang meninjau data dari berbagai penelitian di India menemukan bahwa, secara rata-rata, adopsi Kapas Bt telah meningkatkan hasil kapas sebesar 24% dan meningkatkan keuntungan petani sebesar 50%. Yang tidak kalah penting, adopsi ini telah mengurangi penggunaan insektisida sebesar 50% (Klümper & Qaim, 2014).

Manfaat ini tidak hanya bersifat ekonomi. Pengurangan paparan pestisida telah terbukti memiliki manfaat kesehatan yang positif bagi petani dan pekerja pertanian. Namun, kisah Kapas Bt di India juga tidak lepas dari kontroversi dan tantangan. Salah satu masalah yang muncul adalah munculnya hama sekunder (seperti kutu kebul dan wereng) yang sebelumnya tidak menjadi masalah besar tetapi menjadi lebih dominan setelah tekanan dari hama utama berkurang. Selain itu, munculnya resistensi penggerek buah kapas terhadap beberapa protein Bt generasi pertama telah menyoroti pentingnya penerapan strategi manajemen resistensi yang efektif, seperti penanaman refugia dan penggunaan varietas Bt dengan beberapa gen yang ditumpuk (*stacked genes*) (Kranthi & Stone, 2020). Studi kasus ini menunjukkan manfaat teknologi yang nyata tetapi juga menekankan pentingnya manajemen agronomi yang terintegrasi dan berkelanjutan.

2. Jagung Tahan Serangga di Amerika

Di Amerika Serikat, jagung tahan serangga (jagung Bt) telah menjadi teknologi standar dalam produksi jagung sejak diperkenalkan pada tahun 1996. Target utama dari jagung Bt adalah penggerek jagung Eropa (*Ostrinia nubilalis*), hama larva yang melubangi batang jagung, mengganggu transportasi air dan nutrisi, dan menyebabkan batang patah serta kerugian hasil yang signifikan. Jagung Bt mengekspresikan protein Cry dari *Bacillus thuringiensis* yang secara spesifik beracun bagi hama ini. Adopsi oleh petani AS sangat cepat, dan saat ini, lebih dari 80% jagung yang ditanam di AS adalah varietas Bt (USDA ERS, 2020).

Manfaat langsung bagi petani yang menanam jagung Bt adalah perlindungan hasil yang andal dan pengurangan kebutuhan akan insektisida semprot. Namun, salah satu dampak yang paling menarik dari adopsi skala besar jagung Bt adalah efek ekologis dan ekonomi pada tingkat regional. Karena jagung Bt ditanam di area yang sangat luas, ia bertindak sebagai "perangkap" raksasa yang secara drastis menekan populasi keseluruhan dari penggerek jagung Eropa di seluruh Midwest AS. Penekanan populasi hama regional ini menghasilkan "efek halo" atau manfaat tidak langsung bagi petani di sekitarnya yang menanam jagung non-Bt. Petani jagung non-Bt ini juga mengalami kerusakan hama yang jauh lebih rendah karena populasi penggerek secara umum telah runtuh (Hutchison et al., 2010).

Studi ini adalah contoh klasik dari "barang publik" yang dihasilkan oleh teknologi swasta. Manfaat ekonomi kumulatif dari penekanan hama ini selama bertahun-tahun diperkirakan mencapai miliaran dolar, dengan sebagian besar manfaat dinikmati oleh petani non-Bt. Selain itu,

penekanan populasi penggerek jagung Eropa juga mengurangi kerusakan pada tanaman sayuran lain yang rentan terhadap hama ini, seperti paprika dan buncis. Studi kasus jagung Bt di AS menunjukkan bahwa dampak dari teknologi pertanian dapat melampaui batas lahan individu dan memiliki konsekuensi ekologis dan ekonomi pada skala lanskap yang luas. Ini juga menyoroti pentingnya kepatuhan terhadap strategi manajemen resistensi (IRM) dengan menanam refugia untuk memastikan daya tahan jangka panjang dari manfaat ini.

3. *Golden Rice* di Asia Tenggara

Berbeda dengan Kapas Bt dan Jagung Bt yang berfokus pada sifat agronomis, *Golden Rice* dirancang sejak awal untuk tujuan kemanusiaan: memerangi kekurangan vitamin A (KVA), sebuah masalah kesehatan masyarakat yang melumpuhkan di banyak negara berkembang. KVA adalah penyebab utama kebutaan pada anak yang dapat dicegah dan secara signifikan meningkatkan risiko kematian akibat penyakit umum seperti campak dan diare. *Golden Rice* adalah padi yang direkayasa secara genetik untuk menghasilkan beta-karoten (prekursor vitamin A) di bagian endosperma (beras) yang dapat dimakan, memberinya warna keemasan (Ye et al., 2000). Proyek ini, yang diprakarsai oleh sektor publik dan didanai oleh yayasan filantropis, telah menempuh perjalanan yang sangat panjang dan penuh tantangan selama lebih dari dua dekade. Tantangan teknis awal, seperti tingkat ekspresi beta-karoten yang rendah, berhasil diatasi dengan pengembangan "*Golden Rice* 2" yang memiliki kandungan pro-vitamin A yang jauh lebih tinggi (Paine et al., 2005). Gen *Golden Rice* kemudian dimasukkan ke dalam varietas padi lokal yang populer di berbagai negara target, seperti Filipina dan Bangladesh, melalui pemuliaan berbantuan marker.

Namun, tantangan terbesar bagi *Golden Rice* bukanlah teknis, melainkan sosial, politik, dan regulasi. Proyek ini menjadi titik fokus dari kampanye anti-GMO global oleh beberapa kelompok aktivis, yang menentangnya dengan berbagai alasan, mulai dari kekhawatiran keamanan (yang telah dibantah oleh banyak studi) hingga argumen bahwa ini adalah "solusi teknis" yang mengalihkan perhatian dari solusi politik yang lebih luas untuk kemiskinan (Stone & Glover, 2017). Penolakan ini, dikombinasikan dengan proses regulasi keamanan hayati yang sangat ketat dan lambat di banyak negara, secara signifikan menunda ketersediaannya bagi populasi yang dituju. Akhirnya, pada tahun 2021, setelah melalui evaluasi keamanan yang ekstensif, Filipina menjadi negara pertama yang secara resmi menyetujui *Golden Rice* untuk budidaya komersial. Studi kasus *Golden Rice* adalah pelajaran yang kuat tentang kompleksitas implementasi bioteknologi untuk tujuan kemanusiaan, di mana rintangan non-ilmiah seringkali lebih besar daripada tantangan ilmiah itu sendiri.

B. Studi Kasus *Editing* Gen

Teknologi penyuntingan gen seperti CRISPR masih relatif baru, tetapi produk pertama yang dikembangkan menggunakan alat ini sudah mulai mencapai pasar di beberapa negara. Studi kasus dari produk produk awal ini memberikan gambaran sekilas tentang jenis sifat apa yang menjadi target dan bagaimana jalur komersialisasi dan regulasi mungkin berbeda dari GMO transgenik tradisional. Sebagian besar produk awal berfokus pada sifat kualitas konsumen atau sifat agronomis yang dapat dicapai dengan menonaktifkan gen tunggal, yang merupakan aplikasi CRISPR yang paling mudah. Salah satu produk hasil penyuntingan gen pertama

yang tersedia untuk konsumen adalah tomat 'Sicilian Rouge High GABA' di Jepang. Seperti yang telah dibahas, para peneliti menggunakan CRISPR untuk meningkatkan kandungan asam gamma-aminobutirat (GABA), senyawa yang diyakini memiliki manfaat kesehatan seperti menurunkan tekanan darah. Mereka mencapai ini dengan menonaktifkan domain auto-inhibitor dari enzim kunci dalam biosintesis GABA (Nonaka et al., 2017). Karena perubahan ini dibuat tanpa memasukkan DNA asing dan dapat terjadi secara alami, regulator Jepang memutuskan bahwa tomat ini tidak tunduk pada peraturan GMO yang ketat. Perusahaan yang mengembangkan tomat ini kemudian mendistribusikan bibitnya secara gratis kepada para pekebun rumahan, sebuah strategi pemasaran yang cerdas untuk memperkenalkan teknologi ini kepada publik.

Di Amerika Serikat, beberapa produk hasil penyuntingan gen juga telah dikomersialkan. Salah satu contohnya adalah kedelai dengan kandungan asam oleat tinggi yang dikembangkan oleh perusahaan Calyxt. Mereka menggunakan teknologi penyuntingan gen lain yang disebut TALEN untuk menonaktifkan dua gen yang terlibat dalam konversi asam oleat menjadi asam lemak tak jenuh ganda lainnya. Hasilnya adalah minyak kedelai yang profil asam lemaknya mirip dengan minyak zaitun, lebih sehat untuk dikonsumsi, dan lebih stabil untuk menggoreng, menghilangkan kebutuhan akan hidrogenasi parsial yang menghasilkan lemak trans yang tidak sehat (Voytas & Gao, 2014). Seperti tomat GABA, regulator AS (USDA) menetapkan bahwa kedelai ini tidak diatur sebagai GMO karena tidak mengandung DNA asing.

Contoh menarik lainnya adalah jamur kancing yang tidak mudah coklat. Pencoklatan pada jamur, apel, dan kentang saat dipotong disebabkan oleh enzim polifenol oksidase (PPO). Seorang peneliti di

Pennsylvania State University menggunakan CRISPR untuk menonaktifkan salah satu gen dalam keluarga gen PPO pada jamur kancing. Hasilnya adalah jamur yang tetap berwarna putih lebih lama setelah diiris, mengurangi limbah makanan dan meningkatkan daya tarik konsumen (Waltz, 2016). Kasus ini menjadi terkenal karena merupakan salah satu produk CRISPR pertama yang ditinjau oleh USDA, yang kembali memutuskan bahwa produk tersebut tidak memerlukan regulasi sebagai GMO. Studi kasus awal ini menunjukkan tren menuju pengembangan produk dengan manfaat konsumen yang nyata dan menyoroti pentingnya jalur regulasi yang jelas dalam mendorong komersialisasi.

Analogi: Jika tanaman transgenik adalah seperti mobil yang mesinnya diganti total dengan mesin dari merek lain, maka studi kasus penyuntingan gen adalah seperti melakukan *tuning* atau modifikasi presisi pada mesin yang sudah ada. Tomat GABA adalah seperti teknisi yang melepas "pembatas kecepatan" internal dari mesin untuk melepaskan tenaga penuhnya. Kedelai tinggi oleat adalah seperti menyetel ulang sistem bahan bakar untuk membuatnya berjalan dengan jenis bahan bakar yang lebih bersih dan lebih efisien. Jamur bebas coklat adalah seperti menonaktifkan satu sensor kecil yang tidak penting yang terkadang menyebabkan mesin "batuk" atau berjalan tidak mulus. Semua modifikasi ini halus, ditargetkan, dan tidak melibatkan penambahan bagian besar dari mobil lain, membuat proses "inspeksi" (regulasi) berpotensi lebih sederhana.

1. Tomat tahan busuk (Japan)

Studi kasus tomat 'Sicilian Rouge High GABA' di Jepang adalah tonggak sejarah penting karena merupakan salah satu produk pangan hasil penyuntingan gen pertama yang tersedia secara komersial untuk konsumen. Dikembangkan oleh perusahaan rintisan Sanatech Seed yang bekerja sama dengan Universitas Tsukuba, tujuan dari proyek ini adalah untuk meningkatkan nilai fungsional tomat. GABA (asam gamma-aminobutirat) adalah neurotransmitter inhibitor di otak manusia dan telah dikaitkan dengan efek relaksasi dan penurun tekanan darah. Tomat secara alami mengandung GABA, tetapi dalam kadar yang relatif rendah. Tim peneliti menggunakan teknologi CRISPR-Cas9 untuk secara tepat memodifikasi genom tomat. Target mereka bukanlah untuk menambahkan gen baru, melainkan untuk menyunting gen asli tomat yang mengkode enzim glutamat dekarboksilase (GAD). Enzim ini memiliki domain auto-inhibitor C-terminal yang secara alami berfungsi sebagai "rem" untuk membatasi aktivitasnya. Dengan menggunakan CRISPR untuk membuat delesi kecil yang menghilangkan domain auto-inhibitor ini, mereka secara efektif "melepas rem" dari enzim tersebut. Akibatnya, enzim menjadi jauh lebih aktif, yang mengarah pada akumulasi GABA yang 4 hingga 5 kali lebih tinggi di dalam buah tomat yang matang dibandingkan dengan tomat biasa (Nonaka et al., 2017).

Studi kasus ini sangat penting adalah jalur regulasinya. Kementerian Kesehatan, Tenaga Kerja, dan Kesejahteraan Jepang memutuskan bahwa karena tomat ini tidak mengandung DNA asing dan perubahan genetiknya (delesi kecil) juga dapat terjadi secara alami, maka tomat ini tidak tunduk pada peraturan keamanan hayati yang sama ketatnya dengan GMO transgenik. Perusahaan hanya perlu memberitahu

pemerintah tentang produk tersebut. Pendekatan regulasi yang efisien ini memungkinkan Sanatech Seed untuk dengan cepat membawa produknya ke pasar pada tahun 2021. Mereka mengadopsi model bisnis yang unik, awalnya dengan mendistribusikan bibitnya secara gratis kepada pekebun rumahan dan mendorong mereka untuk berbagi pengalaman di media sosial, sebuah strategi untuk membangun kesadaran dan penerimaan publik dari bawah ke atas.

2. Kedelai Rendah Asam Lemak Jenuh

Minyak kedelai adalah salah satu minyak nabati yang paling banyak dikonsumsi di dunia, tetapi secara alami memiliki kandungan asam lemak tak jenuh ganda (seperti asam linoleat dan linolenat) yang relatif tinggi, yang membuatnya kurang stabil saat dipanaskan. Untuk meningkatkan stabilitasnya untuk menggoreng, minyak kedelai seringkali dihidrogenasi secara parsial, sebuah proses yang menghasilkan lemak trans yang tidak sehat, yang telah terbukti meningkatkan risiko penyakit jantung. Tujuan dari banyak program pemuliaan dan bioteknologi adalah untuk menciptakan kedelai yang menghasilkan minyak yang lebih sehat dan lebih stabil secara alami. Perusahaan bioteknologi Calyxt menggunakan teknologi penyuntingan gen TALEN (sebelum CRISPR menjadi populer) untuk mencapai tujuan ini. Mereka menargetkan dan menonaktifkan dua gen kunci dalam jalur biosintesis asam lemak, yaitu gen *FAD2* dan *FAD3*. Enzim yang dikode oleh gen ini bertanggung jawab untuk mengubah asam oleat (asam lemak tak jenuh tunggal yang sehat dan stabil) menjadi asam linoleat dan linolenat (asam lemak tak jenuh ganda yang kurang stabil). Dengan menonaktifkan kedua gen ini, jalur tersebut diblokir, yang menyebabkan akumulasi asam oleat dalam jumlah besar

dan penurunan drastis kandungan asam linoleat dan linolenat (Demorest et al., 2016).

Hasilnya adalah kedelai 'Calyno' yang menghasilkan minyak dengan kandungan asam oleat lebih dari 80% (mirip dengan minyak zaitun) dan nol lemak trans. Minyak ini tidak hanya lebih sehat bagi konsumen tetapi juga memiliki masa simpan dan stabilitas menggoreng yang lebih baik. Seperti kasus tomat di Jepang, Badan Regulasi USDA di AS menetapkan bahwa karena kedelai ini tidak mengandung DNA asing, kedelai ini tidak memerlukan regulasi di bawah aturan GMO transgenik. Calyxt berhasil mengkomersialkan minyak Calyno ini, menjualnya kepada perusahaan jasa makanan sebagai alternatif minyak goreng yang lebih sehat dan berkinerja tinggi. Kasus ini menunjukkan bagaimana penyuntingan gen dapat digunakan untuk meningkatkan kualitas produk secara langsung untuk manfaat kesehatan konsumen dan fungsionalitas industri.

3. Jamur Bebas Cokelat

Pencoklatan enzimatik adalah masalah umum pada banyak buah dan sayuran setelah dipotong, ditumbuk, atau rusak. Reaksi ini tidak hanya mengurangi daya tarik visual produk tetapi juga dapat mempengaruhi rasa dan nilai gizinya, yang menyebabkan pemborosan makanan yang signifikan baik di tingkat konsumen maupun industri. Pada jamur kancing putih (*Agaricus bisporus*), pencoklatan ini disebabkan oleh aktivitas keluarga enzim polifenol oksidase (PPO), yang mengoksidasi senyawa fenolik saat terpapar oksigen. Dr. Yinong Yang di Pennsylvania State University menggunakan CRISPR-Cas9 untuk mengurangi pencoklatan pada jamur kancing. Karena jamur memiliki beberapa gen PPO, ia

menargetkan salah satu gen PPO yang paling aktif. Dengan menggunakan CRISPR untuk membuat indel kecil di dalam gen tersebut, ia berhasil menonaktifkannya, yang menghasilkan pengurangan aktivitas PPO total sekitar 30%. Jamur yang diedit ini menunjukkan tingkat pencoklatan yang jauh lebih rendah dan tetap berwarna putih untuk periode waktu yang lebih lama setelah diiris (Waltz, 2016).

Kasus ini menjadi sangat penting dari perspektif regulasi di AS. Pada tahun 2016, Dr. Yang mengirim surat pertanyaan kepada APHIS-USDA untuk menanyakan apakah jamurnya akan diatur. APHIS merespons dengan menyatakan bahwa karena jamur tersebut tidak mengandung DNA asing dari hama tanaman (misalnya, tidak ada vektor *Agrobacterium* yang digunakan), maka jamur tersebut tidak termasuk dalam yurisdiksi regulasi mereka di bawah Undang-Undang Perlindungan Tanaman. Keputusan ini, yang merupakan salah satu yang pertama untuk produk CRISPR, mengirimkan sinyal kuat bahwa produk hasil penyuntingan gen tertentu mungkin akan menghadapi jalur regulasi yang lebih sederhana di AS. Ini menyoroti bagaimana teknologi ini tidak hanya dapat memberikan manfaat konsumen tetapi juga berpotensi untuk diadopsi lebih mudah oleh peneliti akademis dan perusahaan kecil karena beban regulasi yang lebih ringan.

C. Implementasi Kultur Jaringan di Industri

Jauh sebelum rekayasa genetika dan penyuntingan gen menjadi berita utama, teknik kultur jaringan telah secara diam-diam merevolusi beberapa sektor industri pertanian, terutama hortikultura dan perkebunan. Kemampuan untuk memperbanyak tanaman secara massal dalam kondisi steril (*in vitro*) telah menjadi teknologi yang sangat

diperlukan untuk produksi komersial banyak tanaman penting. Implementasi kultur jaringan di industri didorong oleh kemampuannya untuk menghasilkan sejumlah besar bahan tanam yang seragam, bebas penyakit, dan berkualitas tinggi dalam waktu yang relatif singkat dan tidak tergantung pada musim. Industri tanaman hias adalah salah satu penerima manfaat terbesar pertama dan utama dari mikropropagasi. Untuk tanaman seperti anggrek, lili, dan banyak tanaman dedaunan, perbanyakan konvensional bisa jadi sangat lambat atau tidak efisien. Kultur jaringan memungkinkan produsen untuk mengkloning satu tanaman induk unggul (misalnya, dengan warna bunga atau bentuk daun yang unik) menjadi jutaan anakan identik untuk memenuhi permintaan pasar massal. Hampir semua anggrek yang dijual secara komersial saat ini berasal dari kultur jaringan, sebuah proses yang telah mengubah anggrek dari bunga eksotis dan mahal menjadi tanaman hias yang terjangkau dan tersedia secara luas.

Di sektor perkebunan, kultur jaringan sangat penting untuk perbanyakan klonal tanaman yang secara alami diperbanyak secara vegetatif dan rentan terhadap akumulasi penyakit sistemik, terutama virus. Pisang dan kentang adalah dua contoh klasik. Perbanyakan pisang secara konvensional melalui anakan dapat menyebarkan penyakit seperti Banana Bunchy Top Virus. Kultur meristem memungkinkan produksi bibit pisang dalam jumlah besar yang dijamin bebas virus, yang mengarah pada peningkatan hasil dan kesehatan perkebunan secara signifikan. Demikian pula, produksi "benih" kentang (umbi mini) bebas virus melalui mikropropagasi adalah praktik standar di banyak negara, yang merupakan fondasi dari seluruh industri kentang.

Selain perbanyakan massal, kultur jaringan juga merupakan alat konservasi yang vital. Kebun raya dan lembaga konservasi di seluruh dunia menggunakan kultur *in vitro* untuk menyelamatkan dan memelihara spesies tanaman langka dan terancam punah. Ini sangat penting untuk spesies yang sulit diperbanyak atau yang bijinya tidak dapat disimpan dalam jangka panjang. Anggrek endemik yang langka, misalnya, seringkali diselamatkan dari kepunahan melalui perkecambahan biji asimbiotik dan perbanyakan *in vitro*, dengan beberapa tanaman kemudian diperkenalkan kembali ke habitat yang dilindungi. Implementasi yang luas ini menunjukkan bahwa kultur jaringan bukan hanya teknik laboratorium, tetapi teknologi industri yang matang dengan dampak ekonomi dan ekologis yang besar.

Analogi: Implementasi industri kultur jaringan dapat diibaratkan seperti penemuan mesin cetak oleh Gutenberg. Sebelum mesin cetak, buku (tanaman) disalin dengan tangan, sebuah proses yang sangat lambat, mahal, dan rawan kesalahan. Hanya orang kaya yang bisa memiliki buku. Mikropropagasi adalah mesin cetak itu sendiri. Ia memungkinkan satu naskah asli (tanaman induk unggul) untuk diperbanyak menjadi ribuan atau jutaan salinan identik dengan cepat dan biaya yang relatif rendah. Perbanyakan anggrek adalah seperti mencetak Alkitab; ia membuat produk yang sebelumnya langka dan eksklusif menjadi tersedia secara massal bagi masyarakat umum. Produksi bibit pisang bebas virus adalah seperti mencetak buku teks yang bersih dari kesalahan ketik atau informasi yang salah, memastikan bahwa setiap siswa menerima materi yang benar dan berkualitas tinggi.

1. Perbanyakan Tanaman Hias

Industri tanaman hias global bernilai miliaran dolar dan sangat didorong oleh inovasi dalam bentuk, warna, dan kebaruan. Kultur jaringan, khususnya mikropropagasi, adalah teknologi pendorong di balik industri ini. Ia memungkinkan produsen untuk merespons tren pasar dengan cepat dan untuk memproduksi tanaman yang seragam dalam skala besar yang diperlukan untuk pengecer besar seperti supermarket dan pusat taman. Untuk banyak tanaman hias, seperti anggrek, anyelir, gerbera, dan anthurium, mikropropagasi adalah metode perbanyakan komersial standar (Chen & Henny, 2008). Anggrek adalah contoh studi kasus yang sempurna. Sebelum kultur jaringan, perbanyakan anggrek sangat sulit dan lambat. Perkecambahan bijinya di alam memerlukan simbiosis dengan jamur mikoriza tertentu. Akibatnya, anggrek sangat langka dan mahal. Pengembangan metode perkecambahan biji asimbiotik *in vitro* pada media steril pada awal abad ke-20, diikuti oleh pengembangan mikropropagasi dari kultur meristem atau protocorm (struktur mirip embrio), merevolusi industri anggrek (Arditti, 1984). Saat ini, jutaan tanaman anggrek Phalaenopsis, Dendrobium, dan Cymbidium diproduksi setiap tahun di laboratorium komersial besar, terutama di negara seperti Thailand, Taiwan, dan Belanda, dan diekspor ke seluruh dunia.

Selain perbanyakan massal, kultur jaringan juga digunakan dalam pemuliaan tanaman hias. Teknik seperti penyelamatan embrio (*embryo rescue*) memungkinkan pemulia untuk membuat persilangan antarspesies yang sebelumnya tidak mungkin, menciptakan hibrida dengan kombinasi warna atau bentuk bunga yang baru. Induksi poliploidi *in vitro* juga digunakan untuk menghasilkan tanaman dengan bunga yang lebih besar atau lebih tahan lama. Dengan demikian, kultur jaringan tidak

hanya menjadi alat produksi tetapi juga alat inovasi yang penting dalam industri tanaman hias.

2. Kloning Massal Pisang dan Kentang

Pisang adalah salah satu buah yang paling penting di dunia, baik sebagai makanan pokok maupun sebagai komoditas ekspor. Varietas pisang komersial, seperti Cavendish, bersifat partenokarpi (berbuah tanpa pembuahan) dan steril, sehingga mereka hanya dapat diperbanyak secara vegetatif melalui anakan atau bonggol. Metode perbanyakan tradisional ini lambat dan, yang lebih penting, secara efisien menyebarkan patogen sistemik yang melemahkan tanaman, seperti Banana Bunchy Top Virus (BBTV), Banana Streak Virus (BSV), dan nematoda (Strosse et al., 2006). Mikropropagasi melalui kultur pucuk tunas (*shoot tip culture*) telah menjadi solusi untuk masalah ini. Dengan mengambil eksplan dari meristem apikal yang sangat kecil, yang seringkali bebas dari virus, dimungkinkan untuk meregenerasi tanaman pisang yang bersih dan sehat. Tanaman ini kemudian diperbanyak dengan cepat pada media multiplikasi yang kaya sitokinin untuk menghasilkan ribuan bibit klonal bebas penyakit. Penggunaan bahan tanam hasil kultur jaringan telah menjadi praktik standar di sebagian besar perkebunan pisang komersial di seluruh dunia. Hal ini tidak hanya mengarah pada perkebunan yang lebih sehat tetapi juga hasil panen yang lebih tinggi dan lebih seragam.

Kentang menghadapi masalah serupa. Kentang diperbanyak secara vegetatif melalui umbi "benih". Proses ini dapat menyebabkan akumulasi virus dan patogen lain dari generasi ke generasi, sebuah fenomena yang disebut degenerasi klonal, yang secara drastis mengurangi vigor dan hasil tanaman. Untuk mengatasi ini, industri kentang modern

bergantung pada sistem produksi benih bersertifikat yang dimulai dengan kultur jaringan. Tanaman induk yang bebas penyakit dihasilkan melalui kultur meristem. Tanaman ini kemudian diperbanyak secara *in vitro* untuk menghasilkan ribuan *plantlet* atau umbi mikro. Bahan dasar bebas penyakit ini kemudian ditanam di rumah kaca atau lapangan yang sangat terkontrol untuk menghasilkan beberapa generasi umbi benih pra-dasar dan dasar, sebelum akhirnya diperbanyak lebih lanjut oleh petani benih bersertifikat untuk dijual kepada petani komersial (Badoni & Chauhan, 2010). Sistem ini sangat penting untuk menjaga kesehatan dan produktivitas industri kentang global.

3. Konservasi Anggrek Endemik

Indonesia adalah salah satu pusat keanekaragaman hayati anggrek terkaya di dunia, dengan ribuan spesies endemik yang tidak ditemukan di tempat lain. Banyak dari spesies ini, seperti Anggrek Hitam Kalimantan (*Coelogyne pandurata*) atau Anggrek Bulan Ambon (*Phalaenopsis amboinensis*), sangat terancam punah karena perusakan habitat (deforestasi) dan pengumpulan berlebihan dari alam liar untuk perdagangan ilegal. Konservasi spesies anggrek langka ini merupakan prioritas mendesak. Kultur jaringan menawarkan alat yang sangat berharga untuk upaya konservasi *ex situ* (di luar habitat asli). Biji anggrek sangat kecil, seperti debu, dan tidak memiliki cadangan makanan (endosperma). Di alam, mereka bergantung pada infeksi oleh jamur mikoriza yang kompatibel untuk mendapatkan nutrisi yang mereka butuhkan untuk berkecambah. Ketergantungan ini membuat perkecambahan di alam seringkali tidak efisien. Namun, di laboratorium, biji anggrek dapat dikecambahkan secara asimbiotik pada media kultur

steril yang kaya nutrisi, seperti media Knudson C atau Vacin & Went, melewati kebutuhan akan jamur (Arditti & Ghani, 2000).

Teknik perkecambahan *in vitro* ini memungkinkan produksi ribuan bibit dari satu buah tunggal, yang dapat berisi jutaan biji. Ini adalah cara yang sangat efisien untuk memperbanyak populasi dari spesies yang terancam. Setelah bibit tumbuh menjadi ukuran yang cukup, mereka dapat diaklimatisasi dan dipelihara di kebun raya atau pusat konservasi sebagai koleksi *ex situ* yang aman. Lebih penting lagi, sebagian dari bibit ini dapat digunakan untuk program reintroduksi, di mana mereka ditanam kembali dengan hati hati ke habitat alami yang dilindungi untuk memperkuat populasi liar yang tersisa (Stewart & Kane, 2006). Sebagai contoh, Kebun Raya Bogor dan lembaga penelitian lainnya di Indonesia secara aktif menggunakan kultur jaringan untuk memperbanyak dan melestarikan spesies anggrek endemik yang langka, memainkan peran penting dalam mencegah kepunahan mereka.

D. Komersialisasi dan Inovasi Bioteknologi

Perjalanan sebuah penemuan bioteknologi dari ide di laboratorium hingga menjadi produk yang sukses di pasar adalah proses yang panjang, mahal, dan penuh tantangan. Proses ini, yang dikenal sebagai komersialisasi, melibatkan lebih dari sekadar ilmu pengetahuan yang hebat; ia memerlukan strategi bisnis yang cerdas, perlindungan kekayaan intelektual, navigasi regulasi yang rumit, dan pengembangan rantai pasokan. Model inovasi dan komersialisasi dalam bioteknologi pertanian sangat beragam, mulai dari upaya besar perusahaan multinasional hingga perusahaan rintisan kecil yang keluar dari universitas. Di satu ujung spektrum adalah model yang didorong oleh perusahaan besar.

Perusahaan agribisnis multinasional, seperti Bayer (yang mengakuisisi Monsanto), Corteva Agriscience, dan Syngenta, memiliki sumber daya yang sangat besar untuk melakukan penelitian dan pengembangan (R&D) jangka panjang, melakukan uji coba lapangan skala besar, dan menavigasi proses persetujuan regulasi global yang mahal untuk produk transgenik. Model bisnis mereka seringkali didasarkan pada pengembangan produk "blockbuster" (seperti jagung Bt atau kedelai Roundup Ready) yang dapat dipasarkan di pasar global yang luas, dilindungi oleh portofolio paten yang kuat (Fraley, 2019).

Di ujung lain spektrum adalah model inovasi dari bawah ke atas, yang seringkali dimulai di lingkungan akademis. Universitas dan lembaga penelitian publik adalah sumber utama dari banyak penemuan dasar dalam bioteknologi. Untuk menerjemahkan penemuan ini menjadi produk, sebuah mekanisme yang umum adalah melalui pembentukan perusahaan rintisan atau *spin-off* kampus. Dalam model ini, para ilmuwan penemu, seringkali dengan bantuan dari kantor transfer teknologi universitas mereka, akan melisensikan kekayaan intelektual (paten) dan mendirikan perusahaan baru untuk mengembangkan dan mengkomersialkan teknologi tersebut. Perusahaan rintisan ini biasanya didanai oleh modal ventura dan lebih gesit dalam mengejar pasar ceruk atau teknologi yang lebih disruptif (Clarysse et al., 2007).

Di antara kedua model ini, ada berbagai bentuk kemitraan publik-swasta (KPS). Dalam KPS, lembaga penelitian publik dapat berkolaborasi dengan perusahaan swasta untuk mengembangkan produk, terutama untuk tanaman atau sifat yang mungkin tidak menarik secara komersial bagi perusahaan besar tetapi penting untuk ketahanan pangan lokal. Dalam model ini, sektor publik seringkali menyediakan penemuan dasar

dan plasma nutfah, sementara sektor swasta menyediakan keahlian dalam pengembangan produk, manufaktur, dan distribusi. Model ini sangat penting untuk memastikan bahwa manfaat bioteknologi dapat menjangkau petani kecil dan mengatasi masalah tanaman yatim piatu di negara berkembang.

Analogi: Proses komersialisasi bioteknologi mirip dengan industri film. Perusahaan multinasional adalah seperti studio film besar Hollywood (seperti Disney atau Warner Bros). Mereka memiliki anggaran ratusan juta dolar untuk memproduksi film "blockbuster" (tanaman transgenik) dengan bintang-bintang besar, efek khusus yang canggih, dan kampanye pemasaran global. Spin-off kampus adalah seperti sutradara film independen yang membuat film dengan anggaran kecil berdasarkan ide brilian yang unik. Mereka mungkin memenangkan penghargaan di festival film (bukti konsep ilmiah) dan berharap untuk diakuisisi oleh studio besar atau menemukan distributor khusus. Kemitraan publik-swasta adalah seperti proyek film dokumenter yang didanai bersama oleh lembaga penyiaran publik (seperti PBS atau BBC) dan perusahaan produksi swasta. Proyek ini mungkin tidak akan menjadi blockbuster, tetapi ia menceritakan kisah yang penting dan melayani audiens yang kurang terlayani.

1. *Spin-off* Kampus dan *Start-up*

Universitas dan lembaga penelitian publik adalah mesin penemuan yang sangat penting dalam bioteknologi. Namun, lembaga akademis biasanya tidak memiliki kapasitas atau mandat untuk mengembangkan penemuan mereka menjadi produk komersial. Di sinilah perusahaan rintisan (*start-up*) dan *spin-off* kampus memainkan peran penting sebagai jembatan

antara laboratorium dan pasar. Sebuah *spin-off* adalah perusahaan baru yang diciptakan untuk mengeksploitasi kekayaan intelektual yang berasal dari lembaga induknya (biasanya universitas). Para penemu akademis seringkali menjadi pendiri atau penasihat ilmiah utama di perusahaan baru ini (Shane, 2004). Pembentukan *spin-off* biasanya difasilitasi oleh Kantor Transfer Teknologi (TTO) universitas. TTO membantu para peneliti untuk mematenkan penemuan mereka, mengembangkan rencana bisnis, dan mencari pendanaan awal. Pendanaan untuk *start-up* bioteknologi seringkali berasal dari investor modal ventura (*venture capital*, VC), yang bersedia mengambil risiko tinggi dengan harapan mendapatkan pengembalian yang besar jika teknologinya berhasil. *Start-up* biasanya kecil, gesit, dan sangat fokus pada satu platform teknologi atau produk. Contoh Sanatech Seed di Jepang (yang mengkomersialkan tomat GABA) adalah contoh klasik dari *spin-off* universitas.

Ekosistem inovasi yang sehat di sekitar universitas riset, yang mencakup TTO yang efisien, ketersediaan modal ventura, dan budaya kewirausahaan, sangat penting untuk mendorong komersialisasi teknologi. Meskipun banyak *start-up* bioteknologi yang gagal, mereka yang berhasil dapat memiliki dampak yang besar. Mereka dapat tumbuh menjadi perusahaan besar itu sendiri, atau mereka dapat diakuisisi oleh perusahaan agribisnis yang lebih besar yang mencari teknologi baru untuk dimasukkan ke dalam portofolio produk mereka. Dengan demikian, *start-up* adalah komponen vital dari dinamika inovasi dalam bioteknologi, yang mendorong persaingan dan membawa ide ide baru ke garis depan.

2. Teknologi Tepat Guna untuk Petani

Agar bioteknologi dapat memberikan dampak yang luas, terutama bagi petani kecil di negara berkembang, teknologi tersebut harus sesuai dengan kebutuhan, kapasitas, dan konteks mereka. Konsep teknologi tepat guna menekankan pengembangan solusi yang terjangkau, mudah digunakan, dan dapat dipelihara secara lokal. Dalam konteks bioteknologi, ini seringkali berarti menyematkan teknologi canggih ke dalam format yang sudah dikenal oleh petani, yaitu benih. Benih transgenik yang membawa sifat ketahanan hama atau toleransi kekeringan adalah contoh utama dari teknologi tepat guna. Sifat tersebut sudah "terbungkus" di dalam benih, dan petani tidak perlu mempelajari teknik baru yang rumit atau membeli peralatan mahal untuk mendapatkan manfaatnya. Mereka cukup menanam benih tersebut seperti yang biasa mereka lakukan (Paarlberg, 2008). Hal ini sangat kontras dengan inovasi lain yang mungkin memerlukan perubahan signifikan dalam praktik manajemen.

Pengembangan dan penyebaran biofertilizer dan biopestisida juga sejalan dengan prinsip teknologi tepat guna. Produk ini seringkali dapat diterapkan menggunakan peralatan semprot atau metode aplikasi benih yang sudah ada. Namun, tantangannya adalah memastikan bahwa produk tersebut terjangkau, stabil tanpa memerlukan rantai dingin yang rumit, dan disertai dengan penyuluhan yang efektif tentang cara penggunaannya yang benar. Program pemuliaan partisipatif berbantuan marker, di mana petani terlibat langsung dalam memilih galur yang sesuai dengan preferensi lokal mereka, adalah contoh lain dari upaya untuk membuat inovasi bioteknologi lebih relevan dan tepat guna bagi pengguna akhir (Gyawali et al., 2010).

3. Kemitraan R&D dan Industri

Kolaborasi antara sektor publik (universitas, lembaga penelitian pemerintah) dan sektor swasta (industri) sangat penting untuk siklus inovasi bioteknologi. Setiap sektor membawa kekuatan yang saling melengkapi. Sektor publik secara tradisional unggul dalam penelitian dasar yang didorong oleh rasa ingin tahu, yang menghasilkan penemuan penemuan fundamental dan pemahaman biologis. Sektor swasta, di sisi lain, unggul dalam pengembangan produk, manufaktur, pemasaran, dan navigasi regulasi (Spielman & von Grebmer, 2004). Kemitraan R&D dapat mengambil banyak bentuk. Ini bisa berupa perjanjian lisensi, di mana sebuah perusahaan melisensikan paten dari universitas untuk dikembangkan lebih lanjut. Ini bisa berupa penelitian yang disponsori, di mana sebuah perusahaan mendanai penelitian spesifik di laboratorium akademis. Atau bisa juga berupa konsorsium penelitian pra-kompetitif, di mana beberapa perusahaan dan lembaga publik berkolaborasi untuk memecahkan masalah dasar yang umum, seperti menyekuensing genom tanaman.

Kemitraan Publik-Swasta (*Public-Private Partnerships*, PPP) sangat penting untuk pengembangan produk yang memiliki manfaat sosial yang besar tetapi mungkin memiliki pasar komersial yang terbatas, yang sering disebut sebagai "tanaman yatim piatu" atau "sifat yatim piatu". Proyek *Golden Rice* dan *BioCassava Plus* adalah contoh dari PPP. Dalam kemitraan ini, pendanaan filantropis dan keahlian sektor publik digabungkan dengan keahlian pengembangan dan distribusi dari sektor swasta untuk memastikan bahwa produk akhir dapat menjangkau petani dan konsumen yang dituju. Model kemitraan ini adalah kunci untuk

menerjemahkan janji bioteknologi menjadi dampak nyata bagi ketahanan pangan global (Atanassov et al., 2015).

E. Evaluasi Dampak Teknologi

Setelah produk bioteknologi dikomersialkan dan diadopsi oleh petani, penting untuk terus mengevaluasi dampaknya di dunia nyata. Evaluasi dampak adalah analisis sistematis tentang efek, baik yang diinginkan maupun yang tidak diinginkan, dari suatu intervensi atau teknologi. Evaluasi ini bersifat multi-dimensi, tidak hanya melihat dampak ekonomi tetapi juga dampak sosial dan lingkungan. Hasil dari evaluasi dampak ini sangat penting untuk memberikan umpan balik kepada para pembuat kebijakan, memandu penelitian di masa depan, dan menginformasikan perdebatan publik dengan data berbasis bukti.

Analisis dampak ekonomi biasanya berfokus pada tingkat petani. Para ekonom pertanian menggunakan metode survei dan analisis ekonometrik untuk membandingkan kinerja petani pengadopsi dengan petani non-pengadopsi yang sebanding. Parameter utama yang diukur adalah perubahan dalam hasil panen, perubahan dalam penggunaan input (misalnya, pestisida, tenaga kerja), dan pada akhirnya, perubahan dalam keuntungan atau pendapatan bersih petani (Qaim, 2009). Analisis ini juga dapat diperluas untuk melihat dampak pada tingkat yang lebih luas, seperti efek pada harga komoditas, perdagangan, dan kesejahteraan konsumen.

Analisis dampak sosial melihat bagaimana teknologi mempengaruhi berbagai kelompok dalam masyarakat. Ini mungkin termasuk studi tentang bagaimana manfaat didistribusikan antara petani kaya dan miskin, antara pria dan wanita, atau antara daerah yang

berbeda. Analisis ini juga dapat mengkaji dampak pada ketenagakerjaan (misalnya, apakah teknologi mengurangi kebutuhan tenaga kerja) dan pada dinamika sosial di komunitas pedesaan. Metode yang digunakan seringkali bersifat kualitatif, seperti wawancara mendalam dan studi kasus, untuk menangkap nuansa dari dampak sosial (Glover, 2010).

Analisis dampak lingkungan, seperti yang telah dibahas, berfokus pada pemantauan efek teknologi di lapangan. Ini termasuk pemantauan jangka panjang terhadap populasi hama dan perkembangan resistensi, studi tentang dampak pada keanekaragaman hayati non-target, dan penilaian perubahan dalam praktik agronomi, seperti penggunaan pestisida dan pola olah tanah (Sanvido et al., 2012). Melakukan evaluasi dampak yang holistik dan kredibel, yang menggabungkan berbagai metodologi dan mempertimbangkan berbagai perspektif, sangat penting untuk penilaian yang seimbang dan bertanggung jawab terhadap teknologi bioteknologi.

Analogi: Evaluasi dampak teknologi mirip dengan melakukan tinjauan kinerja tahunan untuk seorang karyawan baru yang sangat berbakat. Analisis ekonomi adalah seperti meninjau metrik penjualan dan profitabilitasnya; apakah ia mencapai targetnya dan menghasilkan keuntungan bagi perusahaan? Analisis sosial adalah seperti mendapatkan umpan balik 360 derajat dari rekan kerjanya; bagaimana ia berinteraksi dengan tim? Apakah ia menciptakan lingkungan kerja yang positif atau negatif? Apakah ia membantu juniornya atau hanya fokus pada kesuksesan pribadinya? Analisis lingkungan adalah seperti memeriksa "jejak karbon" dari pekerjaannya; apakah metodenya berkelanjutan dalam jangka panjang, atau apakah ia mengambil jalan pintas yang mungkin akan menimbulkan masalah di masa depan? Hanya

dengan melihat ketiga aspek ini, manajer dapat membuat penilaian yang adil dan lengkap tentang kinerja total karyawan tersebut.

1. Analisis Ekonomi

Analisis dampak ekonomi dari tanaman transgenik adalah bidang penelitian yang sangat luas. Metode yang paling umum digunakan adalah dengan membandingkan hasil ekonomi dari petani yang mengadopsi teknologi (kelompok perlakuan) dengan petani yang tidak mengadopsi (kelompok kontrol). Tantangan metodologis utamanya adalah untuk mengatasi "bias seleksi", yaitu fakta bahwa petani yang memilih untuk mengadopsi mungkin secara sistematis berbeda dari mereka yang tidak (misalnya, mereka mungkin lebih berpendidikan atau memiliki lahan yang lebih baik). Para ekonom menggunakan berbagai teknik statistik, seperti pencocokan skor kecenderungan (*propensity score matching*) atau metode variabel instrumental, untuk memperhitungkan perbedaan ini dan mengisolasi dampak kausal dari teknologi itu sendiri (Qaim, 2009).

Studi ini secara konsisten menemukan bahwa adopsi tanaman transgenik tahan hama dan toleran herbisida telah menghasilkan manfaat ekonomi yang signifikan bagi petani pengadopsi. Manfaat ini berasal dari kombinasi peningkatan hasil (karena perlindungan yang lebih baik terhadap kerugian) dan/atau pengurangan biaya produksi (karena penggunaan pestisida atau tenaga kerja yang lebih sedikit). Sebuah meta-analisis yang komprehensif menemukan bahwa, secara global, adopsi tanaman GM telah meningkatkan keuntungan petani rata-rata sebesar 68% (Klümper & Qaim, 2014). Yang penting, studi ini juga menemukan bahwa petani kecil di negara berkembang seringkali mendapatkan manfaat keuntungan yang proporsional lebih tinggi

daripada petani di negara maju, meskipun manfaat absolutnya mungkin lebih kecil.

Selain tingkat petani, analisis ekonomi juga melihat dampak pada tingkat makro. Dengan meningkatkan pasokan komoditas, adopsi teknologi secara luas dapat menyebabkan penurunan harga pangan global, yang menguntungkan konsumen, terutama konsumen miskin di perkotaan yang membelanjakan sebagian besar pendapatan mereka untuk makanan. Namun, harga yang lebih rendah juga dapat mempengaruhi produsen di negara lain yang tidak menggunakan teknologi tersebut.

2. Respon Sosial

Respon sosial terhadap bioteknologi pertanian sangat bervariasi dan kompleks, dipengaruhi oleh budaya, sejarah, dan konteks politik. Di beberapa masyarakat, teknologi ini dilihat terutama melalui lensa sains dan ekonomi, sebagai alat untuk meningkatkan produktivitas. Di masyarakat lain, terutama di Eropa, perdebatan ini jauh lebih dibingkai oleh kekhawatiran tentang risiko, ketidakalamian, etika, dan kepercayaan (Bauer, 2002). Studi tentang persepsi publik menunjukkan bahwa tingkat pengetahuan ilmiah tentang genetika tidak selalu berkorelasi dengan penerimaan. Sebaliknya, faktor faktor seperti kepercayaan pada lembaga pengatur, persepsi tentang siapa yang mengendalikan dan siapa yang diuntungkan oleh teknologi, dan nilai nilai yang mendasari tentang makanan dan alam seringkali menjadi prediktor yang lebih kuat (Frewer et al., 2013). Isu-isu seperti konsolidasi perusahaan dalam industri benih dan praktik HKI telah menjadi titik fokus utama dari kritik sosial, yang dilihat sebagai simbol dari sistem pangan industri yang tidak adil.

Respon sosial juga dapat dilihat dalam bentuk gerakan sosial, baik yang menentang maupun yang mendukung bioteknologi. Gerakan anti-GMO telah sangat efektif dalam menggunakan kampanye media dan lobi politik untuk mempengaruhi kebijakan, terutama di Eropa. Di sisi lain, ada juga gerakan pro-bioteknologi yang terdiri dari para ilmuwan, kelompok petani, dan lain-lain yang mencoba untuk mengkomunikasikan manfaat potensial dari teknologi. Memahami dinamika sosial ini sangat penting, karena pada akhirnya, penerimaan sosial, bukan hanya kelayakan teknis, yang akan menentukan masa depan teknologi ini.

3. Monitoring Jangka Panjang

Evaluasi dampak lingkungan dari tanaman transgenik tidak boleh berhenti setelah persetujuan regulasi. Pemantauan pasca-pasar jangka panjang sangat penting untuk mendeteksi setiap efek ekologis yang tidak terduga atau yang terakumulasi dari waktu ke waktu. Sebagian besar kerangka kerja regulasi mewajibkan pemantauan semacam ini sebagai bagian dari persetujuan (Sanvido et al., 2012). Salah satu fokus utama dari pemantauan jangka panjang adalah evolusi resistensi pada populasi target. Untuk tanaman Bt, ini melibatkan pemantauan rutin terhadap populasi hama serangga untuk mendeteksi peningkatan frekuensi alel resistensi. Jika resistensi terdeteksi, tindakan perbaikan, seperti mewajibkan ukuran refugia yang lebih besar atau menarik produk Bt tertentu dari pasar, mungkin diperlukan. Demikian pula, untuk tanaman toleran herbisida, pemantauan jangka panjang melibatkan survei lapangan untuk mendeteksi munculnya dan penyebaran populasi gulma yang resisten terhadap herbisida tersebut (Powles, 2008).

Pemantauan jangka panjang juga harus mencakup studi tentang dampak pada keanekaragaman hayati. Ini mungkin melibatkan pemantauan populasi serangga non-target di dalam dan di sekitar lahan GMO, studi tentang kesehatan dan keragaman komunitas mikroba tanah, dan pemantauan untuk aliran gen dan introgresi ke populasi kerabat liar. Melakukan pemantauan jangka panjang yang bermakna secara ekologis adalah tantangan ilmiah yang signifikan, karena sulit untuk memisahkan efek dari tanaman GM dari faktor faktor lain yang berubah dalam lanskap pertanian. Namun, komitmen terhadap pemantauan yang waspada dan berbasis sains adalah komponen kunci dari tata kelola teknologi yang bertanggung jawab.

F. Rangkuman Bab

- Studi kasus implementasi nyata memberikan wawasan berharga tentang dampak dan kompleksitas penerapan bioteknologi di dunia nyata.
- Tanaman transgenik seperti Kapas Bt dan Jagung Bt telah terbukti secara signifikan meningkatkan hasil dan mengurangi penggunaan insektisida, memberikan manfaat ekonomi bagi petani dan lingkungan. Kisah *Golden Rice* menyoroti tantangan regulasi dan sosial dari bioteknologi kemanusiaan.
- Produk hasil penyuntingan gen pertama yang mencapai pasar, seperti tomat tinggi GABA dan jamur bebas coklat, menunjukkan tren menuju perbaikan sifat kualitas konsumen dan jalur regulasi yang berpotensi lebih sederhana di beberapa negara.
- Kultur jaringan telah menjadi teknologi industri yang matang, menjadi tulang punggung perbanyakan massal pada tanaman hias

(anggrek) dan produksi bahan tanam bebas penyakit pada tanaman perkebunan (pisang, kentang).

- Model inovasi dan komersialisasi bioteknologi beragam, mulai dari R&D perusahaan besar hingga *spin-off* kampus yang gesit dan kemitraan publik-swasta yang penting untuk produk dengan manfaat sosial.
- Evaluasi dampak teknologi yang komprehensif harus mencakup analisis ekonomi (dampak pada hasil dan keuntungan), analisis sosial (distribusi manfaat, persepsi publik), dan pemantauan lingkungan jangka panjang (resistensi hama, keanekaragaman hayati).

G. Latihan Mahasiswa

Soal Esai

1. Menggunakan Kapas Bt di India sebagai studi kasus, diskusikan dampak positif dan tantangan (negatif atau tak terduga) dari adopsi tanaman transgenik skala besar oleh petani kecil.
2. Bandingkan dan kontraskan lintasan pengembangan dan kontroversi seputar Jagung Bt (yang berfokus pada sifat agronomis) dengan *Golden Rice* (yang berfokus pada sifat kemanusiaan). Pelajaran apa yang dapat diambil dari kedua kasus ini?
3. Mengapa produk hasil penyuntingan gen pertama (seperti tomat GABA atau jamur bebas coklat) cenderung memiliki jalur regulasi yang lebih sederhana di beberapa negara dibandingkan dengan GMO transgenik tradisional?

4. Jelaskan peran penting kultur jaringan dalam industri kentang modern. Bagaimana teknik ini membantu mengatasi masalah "degenerasi klonal"?
5. Anda adalah seorang analis di sebuah perusahaan modal ventura. Sebuah *start-up* dari universitas lokal mempresentasikan teknologi baru untuk meningkatkan efisiensi fotosintesis pada padi. Faktor-faktor apa (ilmiah, bisnis, regulasi) yang akan Anda evaluasi untuk memutuskan apakah akan berinvestasi di perusahaan ini?

Soal Pilihan Ganda

1. Salah satu dampak ekonomi utama dari adopsi Kapas Bt di India adalah...
   A. Peningkatan signifikan dalam penggunaan insektisida
   B. Penurunan signifikan dalam hasil panen
   C. Peningkatan signifikan dalam keuntungan petani -V-
   D. Larangan total terhadap pertanian kapas
2. Tujuan utama dari pengembangan *Golden Rice* adalah untuk mengatasi kekurangan...
   A. Vitamin C
   B. Zat Besi
   C. Protein
   D. Vitamin A -V-
3. Tomat 'Sicilian Rouge High GABA' yang dikomersialkan di Jepang adalah contoh produk yang dikembangkan menggunakan...

A. Rekayasa transgenik tradisional

B. Teknologi penyuntingan gen CRISPR -V-

C. Kultur meristem

D. Fusi protoplas

4. Industri tanaman hias modern sangat bergantung pada teknik kultur jaringan untuk...

A. Perbanyakan klonal massal yang cepat dan seragam -V-

B. Menciptakan ketahanan terhadap herbisida

C. Fiksasi nitrogen

D. Produksi bioetanol

5. Pemantauan jangka panjang untuk evolusi resistensi serangga penggerek terhadap protein Cry sangat penting untuk keberlanjutan teknologi...

A. Tanaman toleran herbisida

B. *Golden Rice*

C. Tanaman Bt -V-

D. Jamur bebas coklat

6. Model inovasi di mana sebuah perusahaan baru dibentuk untuk mengkomersialkan teknologi yang berasal dari universitas disebut...

A. Kemitraan Publik-Swasta (PPP)

B. Lisensi silang

C. *Spin-off* atau *Start-up* -V-

D. Akuisisi

7. Metode yang sering digunakan oleh para ekonom untuk mengisolasi dampak kausal dari adopsi teknologi dengan membandingkan kelompok pengadopsi dan non-pengadopsi yang sebanding adalah...

   A. Analisis regresi sederhana

   B. Wawancara mendalam

   C. Pencocokan skor kecenderungan (*Propensity score matching*) -V-

   D. Analisis SWOT

Studi Kasus atau Tugas Kontekstual

Bayangkan sebuah varietas singkong baru yang telah direkayasa secara genetik untuk tahan terhadap penyakit Virus Mosaik Singkong (CMD), sebuah penyakit yang merusak yang menyebabkan kerugian besar bagi petani kecil di Afrika. Proyek ini dikembangkan melalui kemitraan publik-swasta dan sekarang siap untuk diperkenalkan kepada petani.

Anda diminta untuk merancang sebuah kerangka kerja untuk mengevaluasi dampak dari pengenalan singkong tahan CMD ini setelah 5 tahun diadopsi. Uraikan secara singkat:

1. Satu Indikator Dampak Ekonomi yang akan Anda ukur dan bagaimana Anda akan mengukurnya.
2. Satu Indikator Dampak Sosial yang akan Anda ukur dan bagaimana Anda akan mengukurnya.

3. Satu Potensi Risiko Lingkungan yang perlu dipantau dalam jangka panjang terkait dengan adopsi skala besar dari satu varietas klonal ini.

GLOSARIUM BAB 12

- Implementasi: Proses penerapan atau pelaksanaan sebuah rencana, ide, atau teknologi di dunia nyata.
- Studi Kasus: Pemeriksaan yang mendalam dan terperinci terhadap subjek atau peristiwa tertentu dalam konteks dunia nyata.
- Dampak Ekonomi: Efek dari suatu intervensi terhadap variabel ekonomi seperti hasil panen, biaya, pendapatan, dan keuntungan.
- Dampak Sosial: Efek dari suatu intervensi terhadap struktur sosial, kesejahteraan, hubungan, dan institusi dalam masyarakat.
- Komersialisasi: Proses mengubah penemuan atau ide baru menjadi produk atau layanan komersial yang tersedia di pasar.
- Spin-off (Kampus): Perusahaan baru yang diciptakan untuk mengeksploitasi kekayaan intelektual yang berasal dari lembaga penelitian atau universitas.
- Modal Ventura (Venture Capital): Bentuk pembiayaan ekuitas swasta yang diberikan oleh perusahaan modal ventura atau dana kepada perusahaan rintisan, perusahaan tahap awal, dan perusahaan berkembang yang dianggap memiliki potensi pertumbuhan tinggi.
- Kemitraan Publik-Swasta (PPP): Pengaturan kerja sama antara satu atau lebih lembaga sektor publik dan sektor swasta.

- Teknologi Tepat Guna: Teknologi yang sesuai dengan kondisi lingkungan, budaya, ekonomi, dan sosial di mana ia dimaksudkan untuk digunakan.
- Evaluasi Dampak: Penilaian sistematis terhadap perubahan yang dihasilkan dari suatu proyek, program, atau kebijakan.
- Monitoring Jangka Panjang: Proses pengamatan dan pengumpulan data secara berkelanjutan selama periode waktu yang panjang untuk mendeteksi perubahan atau dampak.

BAB 13
PRAKTIKUM BIOTEKNOLOGI PERTANIAN

Tujuan Pembelajaran

Setelah mempelajari bab ini, mahasiswa diharapkan mampu:

1. Menerapkan Prosedur Operasional Standar (SOP) dan prinsip keselamatan hayati (*biosafety*) di dalam laboratorium bioteknologi.
2. Melakukan prosedur dasar kultur jaringan tanaman, mulai dari sterilisasi eksplan, penanaman *in vitro*, hingga aklimatisasi.
3. Melakukan prosedur dasar biologi molekuler, termasuk isolasi DNA tanaman dan amplifikasi gen menggunakan PCR.
4. Menganalisis hasil PCR menggunakan elektroforesis gel dan menginterpretasikan data untuk aplikasi marker molekuler sederhana.
5. Melakukan prosedur dasar mikrobiologi pertanian, seperti inokulasi mikroba dan pengujian efeknya pada pertumbuhan tanaman.
6. Mengintegrasikan pengetahuan teoritis dengan keterampilan praktis untuk memecahkan masalah sederhana dalam bioteknologi pertanian.

Pendahuluan

Buku ini, telah menjelajahi lanskap bioteknologi pertanian yang luas, dari konsep teoritis hingga aplikasi di dunia nyata. Telah membahas "apa" dan "mengapa" di balik rekayasa genetika, kultur jaringan, dan pemuliaan molekuler. Sekarang, saatnya untuk beralih ke "bagaimana". Bab ini dirancang untuk membahas langsung ke meja laboratorium, mengubah teori menjadi praktik. Karena dalam ilmu pengetahuan, terutama dalam bioteknologi, pemahaman sejati seringkali datang dari pengalaman langsung, dari praktek di labor, melihat pita DNA di bawah sinar UV, dan mengamati tunas kecil tumbuh dari sepotong daun di dalam botol steril. Bab ini berfungsi sebagai panduan praktis untuk serangkaian eksperimen fundamental yang mewakili pilar pilar utama bioteknologi pertanian yang telah didiskusikan. Tujuannya bukan untuk menjadi manual laboratorium yang komprehensif, melainkan untuk memberikan pengalaman langsung dengan teknik inti, membangun keterampilan dasar, dan memperkuat pemahaman konseptual. Setiap prosedur yang diuraikan di sini telah disederhanakan untuk dapat dilaksanakan dalam konteks praktikum pengajaran, namun tetap mempertahankan prinsip ilmiah yang mendasarinya.

Mulai dengan fondasi dari semua pekerjaan laboratorium yang baik, yaitu keselamatan. Sebelum a menyentuh peralatan apa pun, akan meninjau kembali prinsip prinsip keselamatan hayati (*biosafety*) dan Prosedur Operasional Standar (SOP), memastikan bahwa lingkungan kerja aman bagi diri sendiri, rekan kerja, dan lingkungan. Selanjutnya, akan memasuki dunia steril kultur jaringan, belajar seni mensterilkan jaringan tanaman dan menumbuhkannya di media buatan. Kemudian,

beralih ke meja biologi molekuler, belajar "melihat" molekul kehidupan, dimulai dengan mengekstraksi DNA dari tanaman dan mengamplifikasi segmen spesifik menggunakan kekuatan PCR, melibatkan dunia mikroba. belajar bagaimana mengisolasi dan menumbuhkan mikroba yang bermanfaat dari tanah dan menguji pengaruhnya terhadap pertumbuhan tanaman, memberikan wawasan langsung tentang potensi biofertilizer. Melalui kegiatan praktis ini, konsep seperti totipotensi, amplifikasi DNA, dan interaksi tanaman-mikroba akan bertransisi dari istilah abstrak dalam buku teks menjadi fenomena yang dapat diamati dan manipulasi.

A. Dasar-dasar Praktikum dan *Biosafety*

Sebelum memulai eksperimen apa pun di laboratorium bioteknologi, pemahaman dan kepatuhan yang ketat terhadap dasar dasar praktik laboratorium yang baik dan keselamatan hayati (*biosafety*) adalah hal yang mutlak. Laboratorium adalah lingkungan yang mengandung potensi bahaya, baik dari bahan kimia, peralatan listrik, maupun agen biologis. Bekerja dengan aman dan bertanggung jawab tidak hanya melindungi diri sendiri tetapi juga memastikan integritas eksperimen dan keselamatan orang lain serta lingkungan (Richmond & McKinney, 2007). Aturan paling fundamental adalah selalu menganggap laboratorium sebagai lingkungan kerja profesional. Ini berarti mengenakan Alat Pelindung Diri (APD) yang sesuai setiap saat. Jas laboratorium yang bersih dan berkancing penuh adalah wajib untuk melindungi pakaian dan kulit dari tumpahan. Pelindung mata, seperti kacamata pengaman atau *goggles*, harus selalu dipakai, terutama saat bekerja dengan bahan kimia cair atau prosedur yang dapat menimbulkan percikan. Sarung tangan (biasanya lateks atau nitril) harus digunakan saat menangani bahan

kimia atau bahan biologis dan harus segera diganti jika terkontaminasi atau sobek. Alas kaki harus selalu menutupi seluruh kaki; sandal atau sepatu terbuka dilarang keras. Aktivitas seperti makan, minum, merokok, atau mengaplikasikan kosmetik sama sekali tidak diperbolehkan di dalam area kerja laboratorium.

Setiap mahasiswa harus mengetahui lokasi dan cara menggunakan peralatan keselamatan darurat. Ini termasuk pancuran keselamatan (*safety shower*), stasiun pencuci mata (*eyewash station*), alat pemadam api ringan (APAR), dan kotak P3K. Sebelum menggunakan bahan kimia apa pun, penting untuk membaca Lembar Data Keselamatan Bahan (*Material Safety Data Sheet*, MSDS) untuk memahami sifat bahayanya, tindakan pencegahan yang diperlukan, dan prosedur pertolongan pertama jika terjadi paparan. Semua wadah bahan kimia harus diberi label dengan jelas, dan semua larutan yang Anda buat harus segera diberi label dengan nama, konsentrasi, dan tanggal pembuatan. Menjaga area kerja tetap bersih, rapi, dan tidak berantakan adalah bagian penting dari praktik laboratorium yang aman dan efisien.

Analogi: Memasuki laboratorium bioteknologi adalah seperti seorang koki memasuki dapur profesional yang sibuk. Anda tidak akan pernah melihat seorang koki bekerja tanpa mengenakan seragam (jas lab) dan mungkin celemek. Mereka tahu persis di mana letak alat pemadam api jika terjadi kebakaran minyak. Mereka menangani pisau tajam (bahan kimia berbahaya) dengan sangat hati hati dan selalu membersihkan talenan mereka (meja kerja) untuk mencegah kontaminasi silang. Setiap bumbu dan bahan (bahan kimia) diberi label dengan jelas. Mereka tidak makan atau minum di atas meja persiapan makanan. Kepatuhan pada protokol kebersihan dan keselamatan ini tidak

hanya mencegah kecelakaan tetapi juga merupakan tanda profesionalisme yang memastikan kualitas dan keamanan dari setiap hidangan (eksperimen) yang keluar dari dapur tersebut.

1. SOP Laboratorium

Prosedur Operasional Standar (*Standard Operating Procedure*, SOP) adalah serangkaian instruksi tertulis yang terperinci yang mendokumentasikan bagaimana melakukan suatu aktivitas atau tugas rutin secara aman dan konsisten. Di laboratorium, SOP sangat penting untuk memastikan bahwa eksperimen dapat direproduksi, untuk meminimalkan kesalahan, dan untuk menjamin keselamatan. Setiap prosedur yang diuraikan dalam bab praktikum ini harus dianggap sebagai SOP. Mahasiswa harus membaca dan memahami seluruh SOP sebelum memulai eksperimen apa pun. SOP yang baik biasanya mencakup beberapa bagian. Bagian pertama adalah tujuan, yang menjelaskan mengapa prosedur tersebut dilakukan. Bagian kedua adalah ruang lingkup, yang mendefinisikan di mana dan kapan SOP tersebut berlaku. Bagian ketiga adalah daftar bahan dan peralatan yang diperlukan, termasuk spesifikasi dan konsentrasi bahan kimia. Bagian keempat, yang merupakan inti dari SOP, adalah prosedur langkah demi langkah yang terperinci. Setiap langkah harus dijelaskan dengan jelas dan tidak ambigu. Bagian kelima adalah pertimbangan keselamatan, yang menyoroti potensi bahaya spesifik yang terkait dengan prosedur tersebut dan APD yang diperlukan. Bagian terakhir mungkin mencakup prosedur kontrol kualitas dan kriteria keberhasilan.

Mengikuti SOP dengan tepat sangatlah penting. Jangan pernah mengambil jalan pintas atau memodifikasi prosedur tanpa berkonsultasi

dengan instruktur atau asisten laboratorium. Jika Anda tidak yakin tentang suatu langkah, selalu bertanya. Pencatatan yang akurat dalam buku catatan laboratorium juga merupakan bagian dari SOP. Catat semua yang Anda lakukan, termasuk setiap penyimpangan dari prosedur, semua pengamatan, dan semua hasil. Buku catatan laboratorium yang baik adalah catatan permanen dari pekerjaan Anda dan sangat penting untuk pemecahan masalah dan pelaporan.

2. Pengelolaan Limbah Hayati

Pengelolaan limbah yang benar adalah komponen kritis dari keselamatan hayati dan tanggung jawab lingkungan. Limbah yang dihasilkan di laboratorium bioteknologi tidak dapat dibuang begitu saja ke tempat sampah biasa atau saluran pembuangan. Limbah harus dipilah di sumbernya ke dalam wadah yang sesuai dan diberi label dengan benar. Ada beberapa kategori utama limbah di laboratorium bioteknologi.

Limbah Benda Tajam (*Sharps*): Ini termasuk semua barang yang dapat menusuk atau memotong kulit, seperti jarum suntik, pisau bedah, pipet Pasteur kaca, dan pecahan kaca. Limbah tajam harus segera dibuang ke dalam wadah khusus yang tahan tusukan, anti bocor, dan diberi label dengan simbol biohazard. Wadah ini tidak boleh diisi terlalu penuh.

Limbah Biohazard Padat: Ini termasuk semua limbah padat yang telah bersentuhan dengan bahan biologis, seperti cawan petri bekas dengan kultur mikroba, ujung pipet yang terkontaminasi, sarung tangan, dan jaringan tanaman atau hewan. Limbah ini harus dikumpulkan dalam kantong plastik tahan autoklaf, biasanya berwarna merah atau oranye dan berlogo biohazard. Kantong ini harus didekontaminasi dengan

autoklaf sebelum dapat dibuang sebagai limbah biasa. Limbah Biohazard Cair: Ini termasuk media kultur cair bekas atau suspensi bakteri. Limbah ini harus didekontaminasi sebelum dibuang ke saluran pembuangan. Cara yang umum adalah dengan menambahkan larutan pemutih (natrium hipoklorit) hingga konsentrasi akhir sekitar 10% dan membiarkannya selama minimal 30 menit, atau dengan mengumpulkannya dalam botol tahan panas dan mensterilkannya dengan autoklaf.

Limbah Kimia Berbahaya: Bahan kimia seperti fenol, kloroform, atau larutan pewarna DNA seperti etidium bromida (yang merupakan mutagen kuat) tidak boleh dibuang ke saluran pembuangan. Mereka harus dikumpulkan dalam wadah khusus yang diberi label dengan jelas sesuai dengan jenis kimianya dan diserahkan kepada petugas pengelola limbah berbahaya. Selalu ikuti instruksi dari instruktur Anda untuk pembuangan setiap jenis limbah.

3. Penggunaan APD dan Alat Dasar

Alat Pelindung Diri (APD) adalah baris pertahanan terakhir antara Anda dan potensi bahaya di laboratorium. Penggunaannya yang benar tidak dapat ditawar.

a. Jas Laboratorium: Harus selalu dipakai dan dikancingkan. Lengan panjang memberikan perlindungan terbaik. Jas lab harus terbuat dari bahan yang sesuai (misalnya, katun atau campuran poliester-katun) dan harus dilepas sebelum meninggalkan laboratorium.

b. Pelindung Mata: Kacamata pengaman atau *goggles* harus dipakai setiap saat di laboratorium, bahkan jika Anda tidak sedang bekerja secara aktif. Mereka melindungi dari percikan bahan kimia dan serpihan.

c. Sarung Tangan: Sarung tangan sekali pakai (nitril atau lateks) harus dipakai saat menangani bahan kimia, bahan biologis, atau permukaan yang berpotensi terkontaminasi. Penting untuk diingat bahwa sarung tangan tidak memberikan perlindungan tak terbatas; bahan kimia tertentu dapat meresap melaluinya. Ganti sarung tangan segera jika terlihat sobek atau terkontaminasi. Jangan pernah memakai sarung tangan untuk menyentuh permukaan "bersih" seperti gagang pintu, telepon, atau keyboard komputer. Lepaskan sarung tangan sebelum meninggalkan area kerja.

Selain APD, Anda akan menggunakan berbagai alat dasar:

1) Mikropipet: Ini adalah alat presisi untuk memindahkan volume cairan yang sangat kecil (dalam mikroliter). Gunakan mikropipet yang sesuai dengan rentang volume yang akan Anda ambil. Selalu gunakan ujung pipet (tip) sekali pakai yang baru untuk setiap sampel yang berbeda untuk mencegah kontaminasi silang. Jangan pernah memutar pengatur volume di luar rentang yang ditentukan.

2) Sentrifugal (*Centrifuge*): Digunakan untuk memisahkan komponen berdasarkan kepadatan dengan cara memutarnya pada kecepatan tinggi. Selalu pastikan tabung di dalam rotor seimbang. Tempatkan tabung dengan berat yang sama secara berlawanan satu sama lain. Jangan pernah membuka tutupnya saat rotor masih berputar.

3) Autoklaf: Alat untuk sterilisasi menggunakan uap bertekanan tinggi. Hanya personel yang terlatih yang boleh

mengoperasikannya. Pastikan bahan yang akan diautoklaf cocok untuk suhu dan tekanan tinggi. Jangan pernah menutup rapat wadah, biarkan sedikit longgar agar uap bisa keluar masuk.

B. Praktikum Kultur Jaringan

Praktikum Kultur jaringan harus melakukan prosedur dasar mikropropagasi, yaitu salah satu aplikasi kultur jaringan yang paling umum. Tujuannya adalah untuk memperbanyak tanaman secara klonal dari sepotong kecil jaringan induk (eksplan) dalam kondisi *in vitro* yang steril. Mempelajari teknik sterilisasi, pembuatan media, penanaman eksplan, dan aklimatisasi. Praktikum ini akan memberikan pengalaman langsung tentang konsep totipotensi dan pentingnya kondisi aseptik. Tanaman yang mudah untuk ditumbuhkan seperti tunas aksilar dari singkong, kentang, atau tanaman hias sering digunakan untuk praktikum ini.

Bahan dan Alat:

- Eksplan: Tunas aksilar muda dari tanaman sumber (misalnya, singkong atau kentang).
- Bahan Kimia untuk Sterilisasi: Deterjen, fungisida (jika perlu), alkohol 70%, larutan natrium hipoklorit (pemutih komersial) 10-20%, air suling steril.
- Media Kultur: Media Murashige & Skoog (MS) padat yang telah disiapkan sebelumnya dalam botol kultur steril. Media ini mengandung garam mineral, vitamin, sukrosa, agar, dan hormon (misalnya, BAP untuk multiplikasi atau NAA untuk perakaran).

- Alat: *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), lampu spirtus/Bunsen, cawan petri steril, pinset dan skalpel (pisau bedah) steril, botol semprot berisi alkohol 70%, kertas saring steril, wadah/gelas piala steril.
- Untuk Aklimatisasi: Pot kecil, media tanam steril (misalnya, campuran cocopeat dan sekam bakar), sungkup plastik transparan.

Prosedur: Praktikum ini dibagi menjadi tiga bagian utama: (1) Sterilisasi Eksplan, (2) Penanaman pada Media Multiplikasi, dan (3) Aklimatisasi Tanaman. Bagian 1 dan 2 harus dilakukan di dalam LAFC untuk menjaga sterilitas.

1. Sterilisasi Eksplan

Sterilisasi eksplan adalah langkah yang paling kritis karena jaringan tanaman yang berasal dari lingkungan luar membawa banyak kontaminan mikroba di permukaannya. Tujuannya adalah untuk membunuh semua mikroba tanpa membunuh jaringan tanaman itu sendiri.

a. Persiapan: Nyalakan LAFC setidaknya 15-20 menit sebelum digunakan. Semprot seluruh permukaan dalam LAFC, tangan Anda (yang bersarung tangan), dan semua peralatan yang akan dimasukkan dengan alkohol 70%.

b. Pencucian Awal: Ambil tunas aksilar dari tanaman induk. Cuci di bawah air mengalir dengan beberapa tetes deterjen selama beberapa menit untuk menghilangkan kotoran dan debu. Bilas hingga bersih.

c. Sterilisasi Permukaan: Lakukan langkah langkah berikut di dalam LAFC. a. Rendam tunas dalam gelas piala berisi alkohol 70% selama 30-60 detik. Jangan terlalu lama karena alkohol bersifat sangat toksik bagi jaringan. b. Pindahkan tunas ke gelas piala berisi larutan natrium hipoklorit 10-20% (pemutih yang diencerkan) dan beberapa tetes deterjen (sebagai pembasah). Rendam selama 10-15 menit, goyangkan sesekali. c. Pindahkan tunas ke gelas piala berisi air suling steril. Lakukan pembilasan sebanyak 3 kali, masing masing selama 3-5 menit, untuk menghilangkan sisa sisa larutan sterilan.

d. Penyiapan Eksplan: Setelah pembilasan terakhir, letakkan tunas steril di atas cawan petri yang dilapisi kertas saring steril. Dengan menggunakan pinset dan skalpel steril, potong dan buang bagian jaringan yang mungkin terluka atau memutih karena sterilan. Potong tunas menjadi segmen segmen yang lebih kecil (sekitar 1-2 cm), masing masing dengan setidaknya satu mata tunas. Ini adalah eksplan yang siap untuk ditanam. (Selalu sterilkan pinset dan skalpel dengan cara mencelupkannya ke alkohol dan membakarnya di atas lampu spirtus setiap kali akan digunakan).

2. Media MS dan Multiplikasi

Media MS (Murashige & Skoog) adalah media kultur jaringan yang paling umum digunakan dan mengandung semua nutrisi yang dibutuhkan tanaman. Untuk multiplikasi, media ini biasanya diperkaya dengan hormon sitokinin seperti BAP.

a. Penanaman: Bekerja di dalam LAFC. Ambil satu botol kultur berisi media MS padat. Buka tutupnya di dekat api lampu spirtus. Bakar mulut botol sebentar.

b. Dengan menggunakan pinset steril, ambil satu potong eksplan dan tanamkan dengan posisi tegak di permukaan media agar. Pastikan pangkal eksplan sedikit terbenam di dalam media. Tanam beberapa eksplan per botol, beri jarak yang cukup.

c. Bakar kembali mulut botol dan segera tutup dengan rapat. Beri label pada botol dengan nama tanaman, tanggal, dan nama Anda.

d. Inkubasi: Tempatkan botol kultur di rak kultur dengan kondisi pencahayaan (biasanya 16 jam terang, 8 jam gelap) dan suhu (sekitar 25°C) yang terkontrol.

e. Pengamatan: Amati kultur setiap beberapa hari. Perhatikan adanya kontaminasi (bercak putih/keruh untuk bakteri, serabut seperti kapas untuk jamur). Jika ada kontaminasi, segera pisahkan botol tersebut untuk diautoklaf. Amati pertumbuhan tunas baru dari mata tunas aksilar. Setelah 3-4 minggu, rumpun tunas majemuk seharusnya sudah terbentuk. Rumpun ini dapat dipisahkan dan disubkultur ke media multiplikasi baru untuk perbanyakan lebih lanjut.

3. Aklimatisasi Tanaman

Aklimatisasi adalah proses adaptasi *plantlet* (tanaman kecil hasil kultur) dari kondisi *in vitro* yang ideal ke kondisi *ex vitro* yang lebih keras. Ini adalah tahap yang sangat rentan.

a. Persiapan: Pilih rumpun tunas yang sehat dan sudah cukup besar dari botol kultur (atau *plantlet* tunggal yang sudah berakar dari media perakaran).

b. Pemindahan: Buka botol kultur di luar LAFC. Dengan menggunakan pinset panjang, keluarkan rumpun tunas dengan hati hati. Cuci sisa media agar dari akarnya dengan lembut menggunakan air bersih. Pisahkan rumpun menjadi *plantlet* tunggal.

c. Penanaman: Siapkan pot kecil yang telah diisi dengan media tanam yang lembab dan steril (misalnya, campuran cocopeat dan sekam bakar). Buat lubang kecil di media dan tanam *plantlet*. Padatkan media di sekitar pangkalnya dengan lembut.

d. Penyungkupan: Segera tutup pot dengan sungkup plastik transparan (misalnya, gelas plastik bening atau kantong plastik yang diberi penyangga) untuk menciptakan lingkungan dengan kelembaban 100%. Tempatkan pot di area yang teduh, tidak terkena sinar matahari langsung.

e. Adaptasi Bertahap: Selama 1-2 minggu ke depan, buka sungkup secara bertahap. Mulailah dengan membuka selama 15-30 menit pada hari pertama, dan tingkatkan durasi pembukaan setiap harinya. Ini memungkinkan tanaman untuk secara perlahan beradaptasi dengan kelembaban yang lebih rendah. Jaga agar media tanam tetap lembab tetapi tidak becek. Setelah sekitar 2 minggu, jika tanaman terlihat segar dan tidak layu, sungkup dapat dilepas sepenuhnya. Tanaman yang berhasil diaklimatisasi

kemudian dapat dipindahkan ke pot yang lebih besar dan secara bertahap diperkenalkan ke cahaya matahari yang lebih banyak.

C. Praktikum DNA dan PCR

Dalam praktikum ini, kita akan melakukan dua prosedur paling fundamental dalam biologi molekuler: isolasi DNA genomik dari jaringan tanaman dan amplifikasi segmen DNA spesifik menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Praktikum ini akan memberikan pengalaman langsung dalam menangani DNA, menggunakan mikropipet, dan memahami kekuatan PCR sebagai alat untuk memperbanyak DNA dari jumlah yang sangat kecil menjadi jumlah yang dapat dianalisis.

Bahan dan Alat:

- **Sampel Tanaman:** Daun muda yang segar dari tanaman apa pun (misalnya, bayam, kangkung, atau daun tanaman dari halaman).
- **Bahan untuk Isolasi DNA:** Nitrogen cair (opsional), mortar dan alu, bufer ekstraksi (misalnya, bufer CTAB), kloroform:isoamil alkohol (24:1), isopropanol dingin, etanol 70% dingin, bufer TE atau air suling steril.
- **Bahan untuk PCR:** Air nuclease-free, bufer PCR 10x, dNTPs mix, primer forward, primer reverse, enzim Taq DNA polimerase, DNA templat (hasil isolasi). (Seringkali, komponen ini tersedia dalam bentuk campuran siap pakai yang disebut *PCR master mix*).
- **Alat:** Mikropipet dan ujung pipet steril, tabung mikrosentrifugal 1.5 mL, sentrifugal, penangas air atau *heating block*, mesin PCR (*thermal cycler*), mesin elektroforesis gel, catu daya, transiluminator UV, *vortex mixer*.

Prosedur: Praktikum ini terdiri dari (1) Isolasi DNA Tanaman, (2) Reaksi PCR, dan (3) Visualisasi Hasil dengan Elektroforesis Gel.

1. Isolasi DNA Tanaman

Metode ini adalah versi sederhana dari metode CTAB (*Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*), yang efektif untuk mengisolasi DNA dari tanaman yang seringkali mengandung banyak polisakarida dan polifenol.

1. Lisis Sel: Timbang sekitar 100-200 mg jaringan daun muda. Gerus daun hingga menjadi bubuk halus menggunakan mortar dan alu dengan bantuan sedikit nitrogen cair (jika ada) atau pasir steril. Penggerusan yang sempurna sangat penting.
2. Pindahkan bubuk jaringan ke dalam tabung mikrosentrifugal 1.5 mL. Tambahkan sekitar 500 µL bufer ekstraksi CTAB yang telah dipanaskan sebelumnya (65°C). *Vortex* hingga tercampur rata.
3. Inkubasi tabung di penangas air 65°C selama 30-60 menit. Balik tabung beberapa kali selama inkubasi.
4. Ekstraksi Kontaminan: Setelah inkubasi, dinginkan tabung sebentar. Tambahkan 500 µL larutan kloroform:isoamil alkohol (24:1). Campurkan dengan membolak-balik tabung secara perlahan selama 5 menit (jangan di-*vortex*). Hati-hati, kloroform bersifat toksik, lakukan di lemari asam.
5. Sentrifugal tabung pada kecepatan tinggi (misalnya, 12.000 rpm) selama 10 menit. Campuran akan terpisah menjadi dua fase. Fase atas (akuatik) bening mengandung DNA.

6. Presipitasi DNA: Dengan hati-hati, pindahkan fase atas (sekitar 400 µL) ke tabung baru yang bersih menggunakan mikropipet. Jangan sampai mengambil lapisan antarfase putih di tengah.
7. Tambahkan sekitar 0.7 volume (sekitar 280 µL) isopropanol dingin. Campurkan dengan membolak-balik tabung secara perlahan. Anda mungkin akan melihat benang-benang putih DNA mulai mengendap. Inkubasi di freezer selama 15-30 menit untuk memaksimalkan pengendapan.
8. Sentrifugal pada kecepatan tinggi selama 10 menit. Buang supernatan (cairan) dengan hati-hati, jangan sampai pelet DNA yang berwarna putih di dasar tabung ikut terbuang.
9. Pencucian dan Pelarutan: Tambahkan 500 µL etanol 70% dingin untuk mencuci pelet DNA. Sentrifugal selama 5 menit. Buang supernatan etanol. Keringkan pelet DNA dengan membiarkan tabung terbuka di suhu ruang selama 10-15 menit. Jangan terlalu kering.
10. Larutkan kembali pelet DNA dalam 30-50 µL bufer TE atau air suling steril. DNA siap digunakan atau disimpan di freezer.

2. PCR Konvensional dan Gel

Dalam langkah ini, kita akan menyiapkan dan menjalankan reaksi PCR untuk mengamplifikasi gen tertentu dari DNA yang telah kita isolasi.

a. Penyiapan Reaksi: Siapkan tabung PCR 0.2 mL yang tipis dan beri label. Bekerja di atas es untuk menjaga enzim tetap stabil. Tambahkan komponen berikut secara berurutan ke dalam tabung (volume dapat bervariasi tergantung protokol):
    - Air *nuclease-free*: (misalnya, 12.5 µL)

- *PCR Master Mix* 2x (mengandung bufer, dNTPs, Taq Polimerase): (misalnya, 10 µL)
- Primer Forward (10 µM): (misalnya, 1 µL)
- Primer Reverse (10 µM): (misalnya, 1 µL)
- DNA Templat (hasil isolasi): (misalnya, 0.5 µL)
- Volume total: (misalnya, 25 µL) Sertakan juga kontrol negatif di mana DNA templat diganti dengan air, untuk memeriksa kontaminasi.

b. Tutup tabung dengan rapat, campurkan dengan menjentikkan tabung, dan sentrifugal sebentar untuk mengumpulkan semua cairan di dasar.

c. Menjalankan PCR: Tempatkan tabung di dalam mesin PCR (*thermal cycler*). Program mesin dengan siklus suhu yang sesuai. Contoh program tipikal:

1) Denaturasi Awal: 95°C selama 3 menit (1 siklus)
2) Siklus Amplifikasi (30-35 siklus):
    - Denaturasi: 95°C selama 30 detik
    - Penempelan (*Annealing*): 55-60°C selama 30 detik (suhu bergantung pada primer)
    - Pemanjangan (*Extension*): 72°C selama 1 menit (waktu bergantung pada panjang target)
3) Pemanjangan Akhir: 72°C selama 5 menit (1 siklus)
4) Penyimpanan: 4°C

d. Setelah program selesai, produk PCR dapat disimpan di kulkas atau freezer, atau langsung dianalisis dengan elektroforesis gel.

3. Visualisasi dan Interpretasi

Elektroforesis gel agarosa akan memisahkan produk PCR berdasarkan ukurannya, memungkinkan kita untuk melihat apakah amplifikasi berhasil dan apakah produknya memiliki ukuran yang benar.

a. Pembuatan Gel: Siapkan gel agarosa 1-1.5% dengan melarutkan bubuk agarosa dalam bufer elektroforesis (misalnya, TAE atau TBE) dan memanaskannya di *microwave* hingga larutan jernih. Dinginkan sebentar, lalu tambahkan pewarna DNA (seperti SYBR Safe atau Etidium Bromida). Tuang larutan ke dalam cetakan gel yang telah dipasangi sisir, dan biarkan hingga memadat.

b. Menjalankan Elektroforesis: Pindahkan gel yang sudah padat ke dalam tangki elektroforesis dan tuangkan bufer hingga gel terendam. Lepaskan sisir dengan hati hati untuk membentuk sumur.

c. Campurkan sekitar 5 µL produk PCR Anda dengan 1 µL *loading dye* (pewarna penanda).

d. Muatkan campuran tersebut ke dalam sumur gel. Di salah satu sumur, muatkan *DNA ladder* (penanda ukuran DNA) sebagai referensi.

e. Hubungkan tangki ke catu daya dan jalankan elektroforesis pada voltase yang sesuai (misalnya, 80-100 Volt) selama 30-45 menit. Pastikan DNA bergerak dari kutub negatif (hitam) ke positif (merah).

f. Visualisasi: Setelah selesai, pindahkan gel ke atas transiluminator UV. Nyalakan lampu UV (gunakan pelindung mata dan wajah!). Produk PCR yang berhasil akan terlihat sebagai pita terang yang berpendar.

g. Interpretasi: Bandingkan posisi pita produk PCR Anda dengan pita pita pada *DNA ladder* untuk memperkirakan ukurannya. Apakah ukurannya sesuai dengan yang diharapkan dari primer yang digunakan? Apakah ada pita pada sampel Anda dan tidak ada pita pada kontrol negatif? Jika ya, maka reaksi PCR Anda berhasil.

D. Praktikum Marker Molekuler

Praktikum Marker Molekuler akan mensimulasikan penggunaan marker molekuler sederhana untuk membedakan antara dua varietas tanaman yang berbeda. Menggunakan jenis marker SSR (*Simple Sequence Repeats*), yang merupakan salah satu marker berbasis PCR yang paling informatif. Mengasumsikan bahwa memiliki DNA dari dua varietas (misalnya, Varietas A dan Varietas B) dan sepasang primer SSR yang diketahui polimorfik (menghasilkan produk dengan ukuran berbeda) antara kedua varietas tersebut. Praktikum ini akan membangun langsung dari keterampilan PCR dan elektroforesis gel yang telah dipelajari.

Bahan dan Alat:

- DNA Templat: DNA genomik yang telah diisolasi dari Varietas A dan Varietas B (dapat disediakan oleh laboratorium atau menggunakan hasil isolasi dari praktikum sebelumnya).
- Bahan untuk PCR: Sama seperti Praktikum 13.3.2, tetapi dengan primer SSR yang spesifik.

- Alat: Sama seperti Praktikum 13.3.

Prosedur:

1. SSR Marker

Prinsip dari marker SSR adalah bahwa jumlah unit pengulangan sekuens pendek (misalnya, (AT)n) di suatu lokus genom dapat bervariasi antara individu atau varietas. Variasi jumlah pengulangan ini akan menyebabkan perbedaan panjang pada produk PCR yang dihasilkan ketika wilayah tersebut diamplifikasi.

- **Contoh Skenario:** Misalkan pada Varietas A, lokus SSR memiliki 10 unit pengulangan (AT). Pada Varietas B, lokus yang sama memiliki 15 unit pengulangan (AT). Jika kita mengamplifikasi wilayah ini dengan primer yang mengapitnya, produk PCR dari Varietas A akan lebih pendek daripada produk PCR dari Varietas B. Perbedaan panjang inilah yang akan kita deteksi di gel.

2. Analisis Hasil PCR

a. Siapkan Reaksi PCR: Siapkan dua tabung reaksi PCR.

   - Tabung 1: Reaksi PCR untuk Varietas A. Tambahkan semua komponen PCR seperti pada 13.3.2, tetapi gunakan DNA templat dari Varietas A dan primer SSR yang spesifik.
   - Tabung 2: Reaksi PCR untuk Varietas B. Sama seperti Tabung 1, tetapi gunakan DNA templat dari Varietas B.
   - Jangan lupa sertakan kontrol negatif (tanpa DNA).

b. Jalankan PCR: Tempatkan semua tabung di *thermal cycler* dan jalankan program PCR yang sesuai (suhu *annealing* mungkin perlu disesuaikan untuk primer SSR).

c. Elektroforesis**:** Setelah PCR selesai, jalankan produknya pada gel agarosa. Karena perbedaan ukuran produk SSR bisa jadi kecil, gunakan gel dengan konsentrasi yang sedikit lebih tinggi (misalnya, 2-3%) untuk mendapatkan resolusi pemisahan yang lebih baik.

- Muatkan *DNA ladder* di sumur pertama.
- Muatkan produk PCR dari Varietas A di sumur kedua.
- Muatkan produk PCR dari Varietas B di sumur ketiga.
- Muatkan kontrol negatif di sumur keempat.
- Jalankan elektroforesis dan visualisasikan hasilnya di bawah sinar UV.

3. Pemanfaatan dalam Breeding

a. Interpretasi Hasil:

- Anda seharusnya melihat satu pita pada jalur Varietas A dan satu pita pada jalur Varietas B.
- Pita pada jalur Varietas B seharusnya berada sedikit lebih tinggi (bergerak lebih lambat) daripada pita pada jalur Varietas A, yang menunjukkan bahwa produk PCRnya lebih panjang.
- Tidak boleh ada pita pada jalur kontrol negatif.

b. Diskusi Pemanfaatan:

- Hasil ini menunjukkan bahwa marker SSR yang kita gunakan bersifat polimorfik dan dapat dengan jelas membedakan antara Varietas A dan Varietas B.
- Dalam program pemuliaan, marker seperti ini sangat berharga. Bayangkan jika Varietas B memiliki gen ketahanan penyakit yang diinginkan yang terpaut erat dengan alel SSR yang lebih panjang ini. Seorang pemulia dapat menyilangkan Varietas A dan B, kemudian pada generasi keturunan (F2), ia tidak perlu melakukan uji penyakit yang rumit. Ia cukup melakukan analisis SSR ini pada bibit. Bibit mana pun yang menunjukkan pita yang lebih panjang (seperti Varietas B) kemungkinan besar juga membawa gen ketahanan penyakit tersebut dan dapat dipilih untuk siklus pemuliaan selanjutnya. Ini adalah inti dari *Marker-Assisted Selection* (MAS).

E. Praktikum Mikrobiologi Pertanian

Praktikum ini, mengisolasi mikroba dari tanah, menumbuhkannya di laboratorium, dan melakukan uji sederhana untuk melihat efeknya sebagai *Plant Growth-Promoting Rhizobacteria* (PGPR) pada perkecambahan benih. Praktikum ini akan memberikan pemahaman dasar tentang keberadaan mikroba di tanah, teknik mikrobiologi dasar (inokulasi, kultur murni), dan konsep interaksi tanaman-mikroba.

Bahan dan Alat:

- Sampel Tanah: Sampel tanah subur dari area perakaran tanaman yang sehat.

- Media Kultur Mikroba: Media agar nutrisi (Nutrient Agar, NA) steril dalam cawan petri, media kaldu nutrisi (Nutrient Broth, NB) steril dalam labu.
- Bahan Uji Tanaman: Benih tanaman yang cepat berkecambah (misalnya, sawi, kangkung, atau jagung), kertas saring steril, cawan petri steril.
- Alat: Jarum ose atau *spreader* steril, inkubator, pengaduk magnetik (*magnetic stirrer*).

Prosedur: STOOOOOPPP DULU

1. Inokulasi Mikroba pada Media

a. Isolasi Awal: Timbang 1 gram sampel tanah dan masukkan ke dalam 9 mL air suling steril (pengenceran 10^{-1}). *Vortex* hingga tercampur rata. Lakukan seri pengenceran hingga 10^{-3}, 10^{-4}, dan 10^{-5}.

b. Ambil 100 µL (0.1 mL) dari setiap pengenceran (mulai dari yang paling encer) dan tuangkan ke permukaan cawan petri berisi media NA.

c. Gunakan *spreader* steril untuk menyebarkan suspensi secara merata di seluruh permukaan agar (metode *spread plate*).

d. Tutup cawan, beri label, dan inkubasi secara terbalik di inkubator pada suhu ruang atau 30°C selama 24-48 jam.

e. Kultur Murni: Setelah inkubasi, Anda akan melihat berbagai koloni bakteri dengan bentuk dan warna yang berbeda tumbuh

di cawan. Pilih beberapa koloni yang terlihat berbeda dan terisolasi dengan baik.

f. Menggunakan jarum ose steril, sentuh satu koloni tunggal dan goreskan pada cawan NA baru (metode goresan kuadran atau *streak plate*) untuk mendapatkan kultur murni. Inkubasi kembali. Ulangi jika perlu hingga Anda mendapatkan kultur yang hanya terdiri dari satu jenis koloni.

2. Uji Efek PGPR pada Pertumbuhan

a. Siapkan Inokulum: Ambil satu koloni dari kultur murni Anda (yang diduga PGPR) dengan jarum ose dan inokulasikan ke dalam labu berisi media NB steril. Inkubasi dalam *shaker incubator* selama 1-2 hari hingga kaldu menjadi keruh, menandakan pertumbuhan bakteri yang melimpah. Ini adalah inokulum cair Anda.

b. Siapkan Uji Perkecambahan: Siapkan dua cawan petri steril yang telah dilapisi dengan kertas saring steril.

- Cawan A (Perlakuan): Basahi kertas saring dengan beberapa mililiter inokulum cair PGPR Anda.
- Cawan B (Kontrol): Basahi kertas saring dengan media NB steril (tanpa bakteri) dalam jumlah yang sama.

c. Letakkan 10-15 benih tanaman (misalnya, sawi) secara merata di atas kertas saring pada setiap cawan.

d. Tutup cawan dan inkubasi di tempat yang terang (tetapi tidak terkena sinar matahari langsung) pada suhu ruang. Jaga agar kertas saring tetap lembab dengan menambahkan air steril jika perlu.

e. Pengamatan: Setelah 5-7 hari, amati dan ukur pertumbuhan tanaman pada kedua cawan. Bandingkan panjang akar dan panjang tunas (hipokotil/epikotil) antara tanaman perlakuan dan tanaman kontrol.

f. Interpretasi**:** Jika rata-rata panjang akar dan/atau tunas pada cawan perlakuan secara signifikan lebih panjang daripada pada cawan kontrol, ini menunjukkan bahwa isolat bakteri Anda memiliki aktivitas mendorong pertumbuhan tanaman (PGPR).

3. Formulasi Biofertilizer Skala Kecil

Ini adalah simulasi sederhana dari formulasi berbasis pembawa padat.

a. Siapkan Pembawa: Siapkan bahan pembawa steril. Untuk skala kecil, Anda bisa menggunakan campuran tanah steril dan kompos (1:1) atau biochar yang telah disterilkan dengan autoklaf.

b. Inokulasi Pembawa: Campurkan inokulum cair PGPR Anda (kultur yang telah ditumbuhkan di NB) dengan bahan pembawa steril. Aduk rata hingga bahan pembawa menjadi lembab tetapi tidak becek. Konsistensinya harus seperti tanah yang gembur.

c. Pengemasan: Masukkan campuran tersebut ke dalam kantong plastik kecil dan segel. Beri label.

d. Diskusi: Produk ini adalah bentuk sederhana dari biofertilizer berbasis pembawa. Diskusikan tantangan dalam formulasi ini, seperti menjaga viabilitas mikroba selama penyimpanan, kontaminasi, dan kebutuhan akan standardisasi (misalnya, menghitung CFU per gram) jika akan dikomersialkan. Ini

menghubungkan praktikum dengan konsep industri yang dibahas di Bab 10.

F. Rangkuman Bab

- Keselamatan hayati (*biosafety*) dan kepatuhan pada Prosedur Operasional Standar (SOP) adalah fondasi kerja yang aman dan bertanggung jawab di laboratorium bioteknologi.
- Praktikum kultur jaringan mendemonstrasikan konsep totipotensi, di mana eksplan tanaman dapat diperbanyak secara klonal pada media MS steril dan kemudian diaklimatisasi ke kondisi lapang.
- Praktikum biologi molekuler mencakup keterampilan inti seperti isolasi DNA dari jaringan tanaman dan amplifikasi segmen DNA spesifik menggunakan PCR.
- Elektroforesis gel adalah teknik fundamental untuk memvisualisasikan dan menganalisis produk DNA hasil PCR, memungkinkan verifikasi ukuran dan aplikasi dalam pemuliaan berbantuan marker.
- Praktikum mikrobiologi pertanian memberikan pengalaman dalam mengisolasi mikroba tanah, membuat kultur murni, dan menguji potensinya sebagai agen pendorong pertumbuhan tanaman (PGPR).
- Keterampilan praktis yang dipelajari dalam bab ini merupakan jembatan penting antara pengetahuan teoritis dan aplikasi nyata bioteknologi untuk memecahkan masalah pertanian.

G. Latihan Mahasiswa

Soal Esai

1. Jelaskan mengapa sterilitas mutlak sangat penting dalam kultur jaringan tanaman. Uraikan tiga sumber kontaminasi utama dan metode sterilisasi yang digunakan untuk menanganinya (untuk media, alat, dan eksplan).
2. Anda melakukan reaksi PCR untuk mengamplifikasi gen sepanjang 500 pasangan basa. Setelah elektroforesis, Anda melihat pita terang pada ukuran 500 pb di jalur sampel Anda, tetapi Anda juga melihat pita dengan ukuran yang sama di jalur kontrol negatif Anda. Apa interpretasi Anda dari hasil ini, dan langkah apa yang akan Anda ambil selanjutnya?
3. Jelaskan prinsip di balik marker SSR. Bagaimana perbedaan jumlah pengulangan sekuens pada dua varietas tanaman yang berbeda dapat dideteksi menggunakan PCR dan elektroforesis gel?
4. Dalam uji efek PGPR, mengapa penting untuk memiliki perlakuan kontrol (misalnya, benih yang diberi media kaldu steril)? Apa kesimpulan yang bisa Anda tarik jika tanaman pada perlakuan PGPR dan kontrol menunjukkan pertumbuhan yang sama?
5. Anda telah berhasil membuat formulasi biofertilizer skala kecil. Apa tiga tantangan utama yang akan Anda hadapi jika ingin memproduksi dan mengkomersialkan produk ini dalam skala besar?

Soal Pilihan Ganda

1. Langkah paling kritis dalam mikropropagasi untuk mencegah kegagalan kultur akibat pertumbuhan bakteri atau jamur adalah... A.

Aklimatisasi B. Sterilisasi eksplan dan media -V- C. Penggunaan hormon auksin D. Observasi harian

2. Dalam protokol isolasi DNA tanaman, penambahan isopropanol atau etanol dingin bertujuan untuk... A. Melisiskan dinding sel B. Menghilangkan protein C. Mengendapkan (presipitasi) DNA dari larutan -V- D. Mewarnai DNA

3. Dalam elektroforesis gel, sebuah fragmen DNA berukuran 1000 pasangan basa (pb) akan bergerak... A. Lebih cepat daripada fragmen 500 pb B. Lebih lambat daripada fragmen 500 pb -V- C. Dengan kecepatan yang sama dengan fragmen 500 pb D. Ke arah kutub negatif

4. Metode goresan kuadran (*streak plate*) dalam praktikum mikrobiologi bertujuan untuk... A. Menghitung jumlah total mikroba B. Mengisolasi koloni tunggal untuk mendapatkan kultur murni -V- C. Menguji sensitivitas antibiotik D. Memperbanyak mikroba dalam media cair

5. Tahap adaptasi bertahap tanaman hasil kultur jaringan dari lingkungan steril ke lingkungan rumah kaca yang lebih keras disebut... A. Subkultur B. Multiplikasi C. Dediferensiasi D. Aklimatisasi -V-

6. Alat yang digunakan untuk sterilisasi media kultur dan peralatan tahan panas menggunakan uap bertekanan tinggi adalah... A. Inkubator B. Sentrifugal C. Autoklaf -V- D. Laminar Air Flow Cabinet

7. Dalam penyiapan reaksi PCR, komponen yang menentukan segmen DNA spesifik mana yang akan diamplifikasi adalah... A. dNTPs B. Enzim Taq Polimerase C. DNA Templat D. Primer -V-

Studi Kasus atau Tugas Kontekstual Anda bekerja di laboratorium pemuliaan tanaman dan menerima dua sampel daun: satu dari varietas padi "IR64" yang rentan terhadap penyakit blas, dan satu lagi dari galur pemuliaan baru yang diklaim membawa gen resistensi blas bernama *Pi-ta*. Anda telah diberi tahu bahwa keberadaan alel *Pi-ta* yang resisten dapat dideteksi dengan marker PCR yang menghasilkan produk berukuran 350 pasangan basa (pb), sedangkan alel yang rentan dari IR64 menghasilkan produk berukuran 500 pb.

Rancanglah sebuah prosedur praktikum sederhana untuk memverifikasi klaim tersebut.

1. Sebutkan tiga langkah utama yang akan Anda lakukan, dari sampel daun hingga mendapatkan hasil akhir.
2. Gambarkan bagaimana hasil yang Anda harapkan akan terlihat pada gel elektroforesis jika klaim tersebut benar. Buatlah sketsa sederhana atau jelaskan posisi pita untuk IR64, galur baru, dan DNA ladder.
3. Jelaskan secara singkat bagaimana hasil ini dapat dimanfaatkan dalam program pemuliaan padi untuk mempercepat pengembangan varietas tahan blas lainnya.

GLOSARIUM BAB 13

- SOP (*Standard Operating Procedure*): Instruksi tertulis yang terperinci untuk melakukan suatu tugas secara konsisten dan aman.

- Biosafety (Keamanan Hayati): Praktik dan prosedur untuk mencegah paparan atau pelepasan agen biologis yang tidak disengaja.
- APD (Alat Pelindung Diri): Peralatan yang dikenakan untuk meminimalkan paparan terhadap bahaya, seperti jas lab, kacamata, dan sarung tangan.
- Eksplan: Sepotong kecil jaringan atau organ tanaman yang digunakan untuk memulai kultur *in vitro*.
- Kultur Jaringan: Teknik menumbuhkan sel, jaringan, atau organ tanaman pada media nutrisi buatan dalam kondisi steril.
- Sterilisasi: Proses menghilangkan atau membunuh semua bentuk kehidupan mikroba.
- Aklimatisasi: Proses adaptasi bertahap tanaman hasil kultur jaringan ke kondisi lingkungan *ex vitro*.
- Isolasi DNA: Proses mengekstraksi dan memurnikan DNA dari sel.
- PCR (*Polymerase Chain Reaction*): Teknik untuk mengamplifikasi segmen DNA secara eksponensial.
- Elektroforesis Gel: Teknik untuk memisahkan molekul DNA berdasarkan ukuran menggunakan medan listrik.
- Marker SSR: Jenis marker molekuler berbasis PCR yang mendeteksi variasi jumlah pengulangan sekuens DNA pendek.
- Inokulasi: Proses mentransfer mikroorganisme ke media kultur baru.
- PGPR (*Plant Growth-Promoting Rhizobacteria*): Bakteri rizosfer yang dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman.

- CFU (*Colony-Forming Unit*): Satuan yang digunakan untuk memperkirakan jumlah sel bakteri atau jamur yang hidup dalam sampel.

BAB 14
TREN MASA DEPAN DAN INOVASI BIOTEKNOLOGI PERTANIAN

Tujuan Pembelajaran

Setelah mempelajari bab ini, mahasiswa diharapkan mampu:

1. Menjelaskan konsep Pertanian Presisi dan bagaimana data genomik dapat diintegrasikan untuk meningkatkan manajemen pertanian.
2. Memahami peran Kecerdasan Buatan (AI) dan bioteknologi digital dalam mempercepat penemuan gen dan desain biologis.
3. Menjelaskan prinsip dasar Biologi Sintetik (SynBio) dan potensinya dalam merekayasa sistem biologis baru untuk pertanian.
4. Menganalisis bagaimana bioteknologi dapat diintegrasikan dengan pendekatan agroekologi untuk menciptakan sistem pertanian berbasis ekosistem.
5. Mengidentifikasi tren kebutuhan keterampilan dan sumber daya manusia (SDM) untuk menghadapi masa depan bioteknologi pertanian.
6. Memproyeksikan arah inovasi bioteknologi dan perannya dalam menjawab tantangan global seperti perubahan iklim dan ketahanan pangan.

Pendahuluan

Bioteknologi pertanian. telah menelusuri sejarahnya, membedah perangkat molekulernya, menjelajahi aplikasinya dari laboratorium hingga ke lapangan, dan kompleksitas etika serta regulasinya. Mengarahkan pandangan ke cakrawala, mencoba untuk melihat seperti apa masa depan dari bidang yang dinamis ini. Jika sejarah telah mengajarkan sesuatu, itu adalah bahwa laju inovasi dalam biologi terus berakselerasi. Teknologi yang hari ini tampak seperti fiksi ilmiah bisa jadi akan menjadi praktik standar esok hari.

Masa depan bioteknologi pertanian tidak akan ditentukan oleh satu teknologi tunggal, melainkan oleh konvergensi atau pertemuan dari berbagai bidang ilmu yang canggih. Batasan antara biologi, ilmu data, rekayasa, dan robotika semakin kabur. Bayangkan sebuah masa depan di mana data dari sekuens genom tanaman, sensor di lapangan, citra satelit, dan model iklim semuanya diintegrasikan oleh kecerdasan buatan untuk memberikan rekomendasi manajemen yang presisi hingga ke tingkat tanaman individu. Ini bukan lagi hanya tentang mengubah gen, tetapi tentang menciptakan sistem cerdas yang mengoptimalkan interaksi antara genetika dan lingkungan secara *real time*.

Beberapa tren paling menarik dan transformatif yang sedang membentuk masa depan pertanian. Kita akan melihat bagaimana Pertanian Presisi didukung oleh data *big data* dan *Internet of Things* (IoT) untuk menciptakan manajemen pertanian yang ultra-presisi. Kita akan menyelami dunia bioteknologi digital, di mana Kecerdasan Buatan (AI) membantu kita memprediksi fungsi gen dan merancang molekul baru dari layar komputer. Selanjutnya, kita akan berkenalan dengan

perbatasan baru yang menakjubkan dari Biologi Sintetik (SynBio), sebuah disiplin yang bertujuan untuk tidak hanya menyunting, tetapi juga merancang dan membangun sirkuit dan sistem biologis yang sama sekali baru dari awal.

Inovasi teknologi tinggi ini dapat dan harus diintegrasikan dengan kearifan agroekologi, menciptakan sistem pertanian berbasis ekosistem yang produktif sekaligus regeneratif. Pada akhirnya, semua inovasi ini tidak akan ada artinya tanpa sumber daya manusia yang terampil untuk mengembangkannya. Oleh karena itu, kita akan mengakhiri dengan refleksi tentang bagaimana pendidikan bioteknologi harus beradaptasi untuk mempersiapkan generasi ilmuwan dan inovator berikutnya. Bab ini adalah undangan untuk bermimpi dan berpikir secara kritis tentang bagaimana kita dapat memanfaatkan kekuatan bioteknologi untuk menciptakan masa depan pangan yang lebih aman, lebih adil, dan lebih berkelanjutan bagi semua.

A. *Precision Agriculture* dan Big Data

Pertanian Presisi (*Precision Agriculture*) adalah filosofi manajemen pertanian yang bertujuan untuk mengelola variabilitas di dalam lahan pertanian untuk meningkatkan efisiensi penggunaan input, meningkatkan hasil, dan mengurangi dampak lingkungan. Alih-alih mengelola seluruh lahan sebagai satu unit yang seragam, pertanian presisi menggunakan teknologi untuk mengidentifikasi zona-zona manajemen yang lebih kecil di dalam lahan dan memberikan perlakuan yang disesuaikan (misalnya, dosis pupuk, tingkat irigasi) untuk setiap zona sesuai dengan kebutuhannya (Lowenberg-DeBoer & Erickson,

2019). Teknologi pendorong di balik ini termasuk Sistem Pemosisi Global (GPS), sensor tanah dan tanaman, citra satelit, dan *drone*.

Masa depan pertanian presisi terletak pada integrasinya dengan *big data* dan *Internet of Things* (IoT). IoT dalam pertanian melibatkan penyebaran jaringan sensor nirkabel di seluruh lahan untuk terus menerus mengumpulkan data tentang kelembaban tanah, suhu, kadar nutrisi, dan kesehatan tanaman. Data ini, dikombinasikan dengan data dari *drone* (misalnya, citra multispektral), data cuaca, dan peta hasil panen historis, menciptakan volume data yang sangat besar atau *big data* (Wolfert et al., 2017). Analisis *big data* menggunakan algoritma *machine learning* kemudian dapat digunakan untuk menemukan pola, membuat model prediksi, dan menghasilkan rekomendasi manajemen yang sangat presisi dan dinamis.

Konvergensi antara genomik dan pertanian presisi berbasis *big data* adalah langkah selanjutnya yang logis. Informasi tentang genotipe spesifik dari varietas yang ditanam menjadi lapisan data fundamental lainnya. Model prediksi tidak lagi hanya didasarkan pada lingkungan (E) dan manajemen (M), tetapi juga pada genotipe (G). Ini memungkinkan pengembangan model G x E x M, yang dapat memprediksi bagaimana varietas spesifik akan berkinerja di bawah kondisi lingkungan dan praktik manajemen yang berbeda (Cooper et al., 2016). Dengan demikian, rekomendasi dapat disesuaikan hingga ke tingkat varietas, misalnya, merekomendasikan varietas A untuk zona lahan yang kering dan varietas B untuk zona yang lebih subur, dan kemudian menyesuaikan manajemen untuk setiap varietas tersebut secara terpisah.

Selain itu, bioteknologi juga dapat berkontribusi pada pengembangan sensor itu sendiri. Para ilmuwan sedang mengembangkan biosensor berbasis tanaman atau mikroba yang dapat melaporkan status fisiologis atau stres mereka secara langsung. Bayangkan tanaman yang direkayasa untuk berpendar dengan warna tertentu ketika kekurangan nitrogen, sebuah sinyal yang dapat dideteksi oleh *drone* dan secara otomatis memicu aplikasi pupuk yang ditargetkan. Integrasi siklus tertutup antara pemantauan biologis, analisis data, dan tindakan manajemen otomatis ini adalah visi utama dari pertanian presisi di masa depan.

Analogi: Jika pertanian tradisional adalah seperti seorang dokter yang memberikan resep obat yang sama kepada semua pasiennya yang menderita batuk, maka Pertanian Presisi adalah seperti dokter yang melakukan pemeriksaan mendalam (menggunakan sensor) pada setiap pasien. Pertanian Presisi berbasis Big Data adalah seperti dokter yang tidak hanya memeriksa pasien saat ini, tetapi juga menganalisis rekam medis dari ribuan pasien sebelumnya (data historis) dan data cuaca (faktor lingkungan) menggunakan superkomputer untuk menemukan pola dan membuat diagnosis yang lebih akurat. Integrasi Genomik adalah seperti dokter yang juga memiliki data sekuens DNA lengkap dari setiap pasien. Dengan informasi ini, dokter dapat memberikan "pengobatan presisi" (*precision medicine*), meresepkan obat yang paling efektif yang secara spesifik disesuaikan dengan profil genetik unik dan kondisi saat ini dari setiap individu pasien (tanaman).

1. Sensor Genetik dan IoT

Internet of Things (IoT) merujuk pada jaringan perangkat fisik, kendaraan, peralatan rumah tangga, dan item lain yang disematkan dengan elektronik, perangkat lunak, sensor, aktuator, dan konektivitas yang memungkinkan benda-benda ini untuk terhubung dan bertukar data. Dalam pertanian, IoT memanifestasikan dirinya sebagai jaringan sensor nirkabel yang tersebar di lahan untuk memantau berbagai parameter secara *real time*. Sensor ini dapat mengukur kelembaban tanah, suhu udara dan tanah, pH, konduktivitas listrik (indikator salinitas), dan bahkan status nutrisi tanaman melalui sensor daun (Kamilaris & Prenafeta-Boldú, 2018).

Garis depan inovasi terletak pada pengembangan "sensor genetik" atau biosensor. Ini adalah sensor yang menggunakan komponen biologis untuk mendeteksi target kimia atau fisik. Para ilmuwan sedang mengeksplorasi penggunaan tanaman atau mikroba yang direkayasa sebagai sensor hidup. Misalnya, seperti yang disebutkan sebelumnya, tanaman dapat direkayasa dengan sistem gen pelapor di mana promotor yang responsif terhadap stres (seperti kekurangan fosfat) mengendalikan ekspresi protein fluoresen. Ketika tanaman mengalami kekurangan fosfat, ia akan mulai berpendar, memberikan sinyal visual dini tentang kebutuhan pemupukan (Liu et al., 2021).

Pendekatan lain adalah mengembangkan sensor yang dapat dipakai (*wearable sensors*) untuk tanaman, mirip dengan Fitbit untuk manusia. Sensor grafena kecil ini dapat ditempelkan pada daun untuk terus menerus memantau laju transpirasi atau mendeteksi senyawa kimia spesifik yang dilepaskan oleh tanaman sebagai respons terhadap

serangan hama atau penyakit. Data dari jutaan sensor biologis dan fisik ini, yang dialirkan secara nirkabel melalui jaringan IoT, akan memberikan tingkat wawasan yang belum pernah terjadi sebelumnya tentang kondisi tanaman dan lingkungan pada skala mikro.

2. Integrasi Data Genetik dan Lapang

Kekuatan sejati dari pertanian masa depan terletak pada kemampuan untuk mengintegrasikan berbagai jenis data yang berbeda untuk pengambilan keputusan yang holistik. Data genetik (G) memberikan informasi tentang potensi tanaman. Data lingkungan (E), yang dikumpulkan dari sensor lapangan, stasiun cuaca, dan satelit, memberikan informasi tentang kondisi pertumbuhan saat ini dan historis. Data manajemen (M), seperti tanggal tanam, jenis pemupukan, dan praktik olah tanah, memberikan informasi tentang intervensi manusia. Mengintegrasikan ketiga aliran data ini (G x E x M) memungkinkan pemodelan dan prediksi yang jauh lebih kuat (Cooper et al., 2016). Sebagai contoh, sebuah platform *big data* pertanian dapat mengambil data genotipe SNP dari suatu varietas hibrida, data tekstur dan nutrisi tanah dari pemetaan lapangan, dan data prakiraan cuaca musiman. Dengan menggunakan model *machine learning* yang telah dilatih pada data hasil panen selama bertahun-tahun, platform ini dapat menghasilkan peta resep laju tanam variabel (*variable rate seeding*) dan peta aplikasi pupuk variabel (*variable rate fertilization*) yang disesuaikan secara unik untuk kombinasi genotipe, tanah, dan cuaca tersebut.

Integrasi ini juga menciptakan siklus umpan balik yang kuat untuk pemuliaan tanaman. Data kinerja fenotipik yang sangat rinci yang dikumpulkan dari sensor di seluruh lahan (fenomik *high throughput*)

dapat dihubungkan kembali dengan data genotipik untuk mengidentifikasi QTL dan gen baru yang terkait dengan kinerja di lingkungan spesifik. Hal ini memungkinkan pemulia untuk mengembangkan varietas baru yang secara eksplisit dioptimalkan untuk sistem pertanian presisi, menciptakan siklus perbaikan berkelanjutan antara pengembangan genetik dan manajemen agronomi (Washburn et al., 2021).

3. Model Prediksi Hasil Panen

Kemampuan untuk secara akurat memprediksi hasil panen jauh sebelum panen memiliki nilai ekonomi dan strategis yang sangat besar. Prediksi hasil yang andal dapat membantu petani dalam membuat keputusan pemasaran, membantu perusahaan agribisnis dalam mengelola logistik dan rantai pasokan, serta membantu pemerintah dalam merencanakan ketahanan pangan dan kebijakan impor/ekspor. Model prediksi hasil tradisional seringkali didasarkan pada data historis dan statistik agronomis. Namun, dengan ledakan data dari genomik, penginderaan jauh, dan IoT, model prediksi menjadi semakin canggih.

Model simulasi tanaman (seperti DSSAT atau APSIM) adalah model mekanistik yang mensimulasikan pertumbuhan dan perkembangan tanaman dari hari ke hari berdasarkan respons fisiologisnya terhadap cuaca, tanah, dan manajemen. Dengan mengintegrasikan data cuaca *real-time* dan prakiraan, model ini dapat memproyeksikan hasil akhir. Peningkatan besar pada model ini datang dari kalibrasi genotipe-spesifik. Daripada menggunakan parameter "jagung" generik, model ini sekarang dapat dikalibrasi dengan parameter spesifik (seperti laju fotosintesis atau sensitivitas terhadap panjang hari)

untuk setiap hibrida komersial, yang secara signifikan meningkatkan akurasi prediksinya (Technow et al., 2015).

Pendekatan yang lebih baru menggunakan *machine learning* dan *deep learning* untuk secara langsung memprediksi hasil dari berbagai masukan data tanpa memerlukan model fisiologis yang eksplisit. Jaringan syaraf tiruan (*neural networks*), misalnya, dapat dilatih pada set data besar yang terdiri dari citra satelit (misalnya, indeks vegetasi seperti NDVI), data cuaca, data tanah, dan data hasil historis untuk "belajar" hubungan kompleks antara variabel-variabel ini dan hasil akhir. Ketika data genomik juga dimasukkan sebagai salah satu fitur input, model-model ini dapat mencapai tingkat akurasi prediksi yang sangat tinggi (Shah et al., 2021).

B. Digital Bioteknologi dan AI

Konvergensi antara biologi dan ilmu komputer melahirkan bidang baru yang disebut bioteknologi digital. Bidang ini memanfaatkan Kecerdasan Buatan (*Artificial Intelligence*, AI), *machine learning*, dan komputasi berkinerja tinggi untuk mempercepat laju penemuan dan rekayasa biologis. Jika bioteknologi tradisional melibatkan proses coba-coba yang lambat di laboratorium, bioteknologi digital bertujuan untuk membuat proses ini lebih prediktif dan didorong oleh desain, memungkinkan para ilmuwan untuk melakukan eksperimen *in silico* (di komputer) sebelum melakukan pekerjaan basah di laboratorium.

Salah satu aplikasi AI yang paling berdampak adalah dalam identifikasi dan anotasi gen fungsional. Dengan triliunan pasangan basa data sekuens genom yang sekarang tersedia, mengidentifikasi fungsi setiap gen secara manual tidaklah mungkin. Algoritma *deep learning*,

terutama jaringan syaraf tiruan, dapat dilatih pada genom yang telah dianotasi dengan baik untuk "belajar" mengenali pola pola DNA yang kompleks (seperti situs pengikatan faktor transkripsi atau struktur gen) yang terkait dengan fungsi tertentu. Model ini kemudian dapat digunakan untuk secara otomatis menganotasi genom baru atau memprediksi fungsi dari gen yang belum diketahui (Zou et al., 2019).

AI juga merevolusi desain dalam bioteknologi. Para ilmuwan menggunakan algoritma *machine learning* untuk merancang protein dan enzim baru dengan fungsi yang ditingkatkan atau sama sekali baru. Model AI dapat belajar hubungan antara sekuens asam amino dan struktur serta fungsi protein, dan kemudian dapat digunakan untuk menghasilkan sekuens protein baru yang diprediksi akan memiliki sifat yang diinginkan (misalnya, stabilitas suhu yang lebih tinggi) (Alley et al., 2019). Dalam penyuntingan gen, AI digunakan untuk merancang gRNA yang lebih efisien dan spesifik, serta untuk memprediksi hasil dari editan genetik tertentu.

Di luar tingkat molekuler, robotika dan otomatisasi, yang seringkali dikendalikan oleh perangkat lunak cerdas, juga mentransformasi alur kerja laboratorium. Platform otomatis dapat melakukan ribuan eksperimen (seperti kloning, transformasi, atau kultur sel) secara paralel dengan presisi dan *throughput* yang jauh melampaui kemampuan manusia. "Biofoundry" atau "pabrik genom" yang terotomatisasi ini mengintegrasikan perangkat lunak desain, robotika penanganan cairan, dan perangkat analitik ke dalam siklus Desain-Bangun-Uji-Belajar (*Design-Build-Test-Learn*) yang tertutup, secara drastis mempercepat laju rekayasa biologis (Hillson et al., 2019).

Analogi: Jika bioteknologi tradisional adalah seperti seorang pengrajin yang membuat setiap perabot dengan tangan, maka Bioteknologi Digital adalah seperti menggunakan perangkat lunak desain berbantuan komputer (CAD) dan manufaktur berbantuan komputer (CAM) yang canggih. AI dalam identifikasi gen adalah seperti perangkat lunak CAD yang dapat secara otomatis mengenali dan melabeli semua jenis sekrup, baut, dan engsel dalam cetak biru yang rumit. AI dalam desain protein adalah seperti perangkat lunak yang dapat mensimulasikan sifat kekuatan dari berbagai desain kursi dan secara otomatis menghasilkan desain baru yang dioptimalkan untuk kekuatan dan kenyamanan. Robotika dan biofoundry adalah seperti pabrik perabot yang sepenuhnya terotomatisasi, di mana lengan lengan robot mengambil instruksi desain dari komputer, memotong kayu, merakit perabot, dan mengujinya, semuanya tanpa campur tangan manusia, memungkinkan ribuan desain baru untuk diproduksi dan diuji setiap hari.

1. AI dalam Identifikasi Gen

Seperti yang telah disinggung, peran AI dalam genomik fungsional sangatlah besar. Mengidentifikasi gen dan elemen pengatur dari data sekuens DNA mentah adalah tugas pengenalan pola yang sangat cocok untuk pendekatan *deep learning*. Model seperti Jaringan Syaraf Konvolusional (*Convolutional Neural Networks*, CNNs), yang awalnya dikembangkan untuk pengenalan gambar, telah berhasil diadaptasi untuk "melihat" pola dalam data sekuens. Model ini dapat dilatih untuk mengenali ciri ciri seperti situs sambungan (*splice sites*), situs awal transkripsi, dan situs pengikatan faktor transkripsi dengan akurasi yang melebihi metode bioinformatika tradisional (Zou et al., 2019).

Di luar anotasi struktural, AI juga digunakan untuk memprediksi fungsi gen. Dengan mengintegrasikan berbagai jenis data "omik" (genomik, transkriptomik, proteomik, metabolomik) dan data jaringan interaksi molekuler, model *machine learning* dapat memprediksi fungsi dari gen yang belum diketahui atau bahkan memprediksi gen mana yang kemungkinan besar terlibat dalam sifat agronomis yang kompleks. Misalnya, model dapat dilatih pada data dari ribuan gen yang diketahui terlibat dalam toleransi kekeringan untuk "belajar" ciri ciri khas dari gen semacam itu. Model ini kemudian dapat memindai seluruh genom untuk mencari gen lain yang memiliki ciri ciri serupa, menghasilkan daftar kandidat yang diprioritaskan untuk validasi eksperimental (Washburn et al., 2021). Pendekatan ini secara signifikan mempersempit ruang pencarian dan membuat proses penemuan gen menjadi lebih efisien.

2. Simulasi Rekayasa Metabolik

Rekayasa metabolik bertujuan untuk memodifikasi jalur biokimia di dalam sel untuk meningkatkan produksi senyawa yang diinginkan. Ini adalah proses yang kompleks karena jalur metabolisme adalah jaringan yang sangat terhubung, dan perubahan di satu bagian dapat memiliki efek yang tidak terduga di bagian lain. Model metabolisme skala genom (*Genome-Scale Metabolic Models*, GEMs) adalah representasi matematis dari semua reaksi metabolisme yang diketahui dalam suatu organisme. Model ini, yang dibangun dari data genom yang telah dianotasi, dapat digunakan untuk mensimulasikan aliran metabolik di seluruh jaringan (Gu et al., 2019).

Menggunakan pendekatan komputasi seperti Analisis Keseimbangan Fluks (*Flux Balance Analysis*, FBA), para ilmuwan dapat

menggunakan GEMs untuk memprediksi bagaimana pertumbuhan sel atau produksi metabolit akan berubah jika gen tertentu dinonaktifkan atau diekspresikan secara berlebihan. Ini memungkinkan simulasi *in silico* dari berbagai strategi rekayasa metabolik sebelum melakukan eksperimen laboratorium yang mahal dan memakan waktu. Algoritma AI dan optimisasi dapat digunakan bersama dengan GEMs untuk secara otomatis mengidentifikasi set intervensi genetik (penghapusan atau penambahan gen) yang paling menjanjikan untuk mencapai tujuan produksi tertentu (Kim et al., 2021). Simulasi ini adalah alat yang sangat kuat untuk desain rasional dari mikroba atau tanaman sebagai pabrik sel.

3. Robotika untuk Kultur In Vitro

Prosedur kultur jaringan tanaman, meskipun kuat, secara tradisional sangat padat karya, memerlukan banyak manipulasi manual yang berulang dan steril oleh teknisi yang terampil. Hal ini membatasi *throughput* dan meningkatkan biaya, terutama untuk aplikasi skala besar seperti mikropropagasi komersial atau regenerasi ribuan peristiwa transgenik. Robotika dan otomatisasi menawarkan solusi untuk mengatasi hambatan ini.

Sistem robotik sedang dikembangkan untuk mengotomatiskan berbagai langkah dalam siklus kultur jaringan. Lengan robot yang dilengkapi dengan sistem visi komputer dapat diprogram untuk secara presisi memotong eksplan, mentransfernya ke media segar (subkultur), dan memisahkan rumpun tunas. Sistem ini dapat beroperasi 24/7 di dalam lingkungan steril, secara drastis meningkatkan *throughput* dan mengurangi risiko kontaminasi manusia. Sistem pencitraan otomatis juga dapat digunakan untuk memantau pertumbuhan kultur secara non-

destruktif, mengukur parameter seperti laju pertumbuhan dan morfologi, dan menggunakan AI untuk secara otomatis mengidentifikasi kultur yang sehat dan siap untuk tahap selanjutnya (Tsay, 2021). Integrasi robotika tidak hanya meningkatkan efisiensi tetapi juga standardisasi, mengurangi variabilitas yang disebabkan oleh operator manusia yang berbeda. Meskipun investasi awal dalam sistem robotik ini bisa jadi tinggi, untuk operasi skala besar, penghematan biaya tenaga kerja dan peningkatan produktivitas dapat membuatnya sangat layak secara ekonomi. Otomatisasi proses kultur *in vitro* adalah kunci untuk mewujudkan potensi penuh dari bioteknologi tanaman dalam skala industri.

C. Teknologi *SynBio* (Biologi Sintetik)

Rekayasa genetika adalah tentang menyunting atau memindahkan gen yang sudah ada, maka Biologi Sintetik (*Synthetic Biology*, *SynBio*) adalah tentang melangkah lebih jauh, yaitu merancang dan membangun komponen, perangkat, dan sistem biologis baru yang tidak ada di alam, atau merancang ulang sistem biologis yang ada untuk tujuan yang bermanfaat. SynBio mengadopsi prinsip prinsip rekayasa, seperti standardisasi, pemisahan desain dari fabrikasi, dan modularitas, untuk membuat rekayasa biologi lebih dapat diprediksi, lebih dapat diskalakan, dan tidak terlalu bergantung pada coba-coba (Andrianantoandro et al., 2006). Inti dari SynBio adalah gagasan untuk membuat "suku cadang" biologis standar (*standard biological parts*), seperti promotor, situs pengikatan ribosom, dan sekuens pengkode, yang telah dikarakterisasi dengan baik dan dapat dirakit bersama dalam kombinasi yang dapat diprediksi untuk menciptakan "perangkat" genetik dengan fungsi yang ditentukan (misalnya, saklar gen atau osilator). Perangkat ini kemudian

dapat digabungkan untuk membangun "sirkuit" genetik yang lebih kompleks yang dapat menjalankan program logika di dalam sel, mirip dengan sirkuit elektronik (Elowitz & Leibler, 2000).

SynBio memiliki potensi aplikasi yang luar biasa. Salah satu visi utamanya adalah rekayasa tanaman atau mikroba tanah untuk berfungsi sebagai biosensor hidup yang dapat merasakan dan melaporkan kondisi lingkungan atau status nutrisi. Visi yang lebih ambisius adalah merekayasa ulang seluruh proses biologis fundamental. Proyek rekayasa fiksasi nitrogen pada sereal adalah contoh klasik dari tantangan SynBio. Ini melibatkan perancangan dan transfer seluruh jalur biosintetik yang terdiri dari banyak gen, bersama dengan sistem regulasinya yang rumit, dari bakteri ke dalam tanaman, sebuah tugas rekayasa yang sangat kompleks (Rogers & Oldroyd, 2014). SynBio juga mendorong pengembangan "biofoundry" atau "pabrik genom", yaitu fasilitas terotomatisasi yang mengintegrasikan perangkat lunak desain, sintesis DNA skala besar, perakitan robotik, dan analisis *high-throughput*. Fasilitas ini memungkinkan siklus Desain-Bangun-Uji-Belajar yang cepat untuk merekayasa organisme secara besar besaran. Dengan SynBio, tujuannya bukan lagi hanya untuk memahami kehidupan, tetapi untuk membangunnya, membuka jalan bagi solusi bioteknologi yang sama sekali baru untuk tantangan dalam energi, kedokteran, dan pertanian (Slusarczyk et al., 2012).

Analogi: Jika rekayasa genetika adalah seperti memodifikasi mobil yang sudah ada dengan mengganti beberapa bagian, maka Biologi Sintetik adalah seperti merancang dan membangun mobil dari awal menggunakan suku cadang standar seperti Lego. Suku cadang biologis standar adalah seperti balok-balok Lego dengan berbagai bentuk dan

fungsi (mesin, roda, kursi). Perangkat genetik adalah seperti merakit beberapa balok untuk membuat modul fungsional, seperti unit kemudi atau sistem transmisi. Sirkuit genetik adalah seperti menggabungkan semua modul ini untuk membuat sasis mobil yang berfungsi penuh yang dapat berakselerasi, mengerem, dan berbelok sebagai respons terhadap input. Biofoundry adalah seperti pabrik Lego yang sepenuhnya otomatis yang dapat dengan cepat merakit ribuan prototipe mobil yang berbeda berdasarkan desain digital untuk diuji.

1. Rekayasa Sistem Genetik

Rekayasa sistem genetik dalam biologi sintetik berfokus pada perancangan dan pembangunan sirkuit genetik yang dapat melakukan fungsi logika atau dinamis yang baru di dalam sel. Ini terinspirasi dari rekayasa listrik, di mana komponen sederhana seperti transistor dan resistor dirakit menjadi sirkuit yang kompleks. Dalam SynBio, komponen dasarnya adalah elemen pengatur DNA dan RNA. Sebagai contoh, sebuah "saklar gen" (*toggle switch*) dapat dibangun dengan menggunakan dua gen yang saling menekan satu sama lain. Sirkuit ini memiliki dua keadaan stabil (gen A aktif/gen B mati, atau sebaliknya) dan dapat dibolak-balik antara kedua keadaan ini dengan sinyal eksternal, menciptakan semacam memori seluler (Gardner et al., 2000).

Sirkuit lain yang telah berhasil dibangun adalah osilator, di mana ekspresi dari beberapa gen berosilasi dari waktu ke waktu, mirip dengan jam biologis. Sirkuit seperti ini dapat digunakan untuk mengontrol proses seluler secara temporal. Para ilmuwan juga sedang merancang sirkuit logika yang dapat berfungsi seperti gerbang logika komputer (AND, OR, NOT), di mana output (ekspresi gen) hanya terjadi jika

kombinasi input (sinyal kimia) yang benar ada. Sirkuit ini dapat digunakan untuk menciptakan tanaman atau mikroba yang "pintar". Misalnya, sebuah sirkuit logika AND dapat dirancang di dalam tanaman di mana gen pertahanan hanya akan diaktifkan jika tanaman merasakan DUA sinyal secara bersamaan, yaitu sinyal keberadaan patogen DAN sinyal kondisi cuaca yang menguntungkan bagi perkembangan penyakit. Ini akan menciptakan respons pertahanan yang jauh lebih efisien dan tidak boros energi dibandingkan dengan ekspresi konstitutif (Brophy & Voigt, 2014).

2. Desain Biosistem Modular

Modularitas adalah prinsip rekayasa inti yang diadopsi oleh biologi sintetik. Ide dasarnya adalah untuk memecah sistem biologis yang kompleks menjadi bagian bagian atau modul fungsional yang lebih kecil, independen, dan dapat dipertukarkan. Setiap modul dapat dirancang dan diuji secara terpisah, dan kemudian dirakit bersama untuk membangun sistem yang lebih besar (Andrianantoandro et al., 2006). Pendekatan ini secara signifikan menyederhanakan proses desain dan membuat rekayasa biologi tidak terlalu rumit.

Dalam SynBio, ini diwujudkan melalui pengembangan *registries of standard biological parts*. Yang paling terkenal adalah Registry of Standard Biological Parts yang diprakarsai oleh kompetisi iGEM (*international Genetically Engineered Machine*). Registri ini adalah koleksi ribuan "BioBricks", yaitu fragmen DNA yang telah distandarisasi (seperti promotor, terminator, sekuens pengkode) yang memiliki format fisik dan fungsional yang sama, memungkinkan mereka untuk dengan mudah dirakit bersama oleh para peneliti di seluruh dunia. Menggunakan

pendekatan modular ini, seorang ilmuwan dapat merancang jalur metabolisme baru dengan cara memilih dan merakit promotor, gen enzimatik, dan terminator dari registri seperti balok-balok Lego. Modularitas juga membantu dalam pemecahan masalah. Jika sirkuit yang dibangun tidak berfungsi seperti yang diharapkan, setiap modul dapat diuji atau diganti secara individual untuk mengidentifikasi sumber masalahnya. Penerapan desain modular adalah kunci untuk mengubah rekayasa biologi dari seni yang tidak dapat diprediksi menjadi disiplin rekayasa yang lebih rasional dan sistematis.

3. *Biofoundry* dan Produksi Massal

Mewujudkan potensi penuh dari biologi sintetik, diperlukan kemampuan untuk merancang, membangun, dan menguji ribuan varian sirkuit genetik secara cepat. Biofoundry, atau pabrik genom, adalah fasilitas terpusat dan sangat terotomatisasi yang dirancang untuk melakukan siklus rekayasa biologis *high-throughput* ini (Hillson et al., 2019). Biofoundry mengintegrasikan perangkat lunak desain berbantuan komputer (CAD) dengan platform robotika untuk penanganan cairan, perakitan DNA, transformasi organisme, dan analisis fenotipik.

Alur kerja di biofoundry biasanya mengikuti siklus Desain-Bangun-Uji-Belajar (*Design-Build-Test-Learn*, DBTL). Pada tahap Desain, para ilmuwan menggunakan perangkat lunak untuk merancang ratusan atau ribuan konstruksi DNA. Pada tahap Bangun, instruksi digital ini dikirim ke biofoundry, di mana robot secara otomatis mensintesis atau merakit DNA, mengkloningnya ke dalam vektor, dan mentransformasikannya ke dalam mikroba inang. Pada tahap Uji, robot menumbuhkan semua galur yang direkayasa dalam kondisi yang terkontrol dan mengukur kinerjanya

(misalnya, produksi metabolit) menggunakan spektrometri massa atau penganalisis lainnya. Pada tahap Belajar, data dari pengujian ini diumpankan kembali ke algoritma *machine learning* untuk menyempurnakan model desain untuk siklus berikutnya. Siklus DBTL yang cepat ini secara dramatis mempercepat laju optimisasi biologis. Biofoundry memungkinkan para ilmuwan untuk menjelajahi ruang desain yang jauh lebih luas daripada yang mungkin dilakukan dengan metode manual. Fasilitas ini sangat penting untuk mengoptimalkan mikroba untuk produksi massal bahan kimia bio, biofuel, dan obat obatan, mengubah sel menjadi pabrik kimia yang efisien dan berkelanjutan (Carbonell et al., 2018).

D. Pertanian Berbasis Ekosistem

Sementara bioteknologi sering berfokus pada optimisasi pada tingkat gen atau organisme tunggal, ada pengakuan yang semakin besar bahwa produktivitas dan ketahanan pertanian jangka panjang bergantung pada kesehatan ekosistem pertanian secara keseluruhan. Pertanian berbasis ekosistem, yang mencakup pendekatan seperti agroekologi dan pertanian regeneratif, berfokus pada pengelolaan interaksi antara tanaman, hewan, manusia, dan lingkungan untuk mendapatkan manfaat sinergis. Alih alih melihat bioteknologi dan agroekologi sebagai pendekatan yang berlawanan, ada peluang yang menarik untuk mengintegrasikan keduanya (Jacobsen et al., 2013).

Bioteknologi dapat menyediakan alat untuk lebih memahami dan meningkatkan proses ekologis yang menjadi dasar agroekologi. Misalnya, metagenomik dan "omik" lainnya dapat digunakan untuk membedah komposisi dan fungsi mikrobioma tanah yang kompleks dalam sistem

pertanian organik atau tumpangsari, mengidentifikasi mikroba kunci yang berkontribusi pada penekanan penyakit atau siklus nutrisi. Informasi ini kemudian dapat digunakan untuk mengembangkan inokulan mikroba yang lebih efektif atau praktik manajemen yang dapat mendorong komunitas mikroba yang bermanfaat. bioteknologi dapat membantu mengatasi beberapa keterbatasan dari sistem agroekologi. Misalnya, pemuliaan berbantuan marker atau penyuntingan gen dapat digunakan untuk secara cepat meningkatkan ketahanan terhadap penyakit pada varietas lokal atau pusaka yang disukai dalam sistem organik, mengurangi risiko kegagalan panen tanpa harus menggunakan varietas komersial modern. Demikian pula, bioteknologi dapat digunakan untuk mengembangkan tanaman penutup tanah (*cover crops*) dengan kemampuan fiksasi nitrogen yang ditingkatkan atau sistem perakaran yang lebih dalam untuk meningkatkan kesehatan tanah.

Integrasi ini juga relevan dengan konsep *circular bioeconomy* atau bioekonomi sirkular. Bioekonomi sirkular bertujuan untuk mengubah sistem ekonomi linier "ambil-buat-buang" menjadi sistem sirkular di mana limbah dari satu proses menjadi bahan baku untuk proses lain. Bioteknologi, seperti yang telah kita bahas, adalah inti dari konsep ini, menyediakan alat untuk biokonversi limbah pertanian menjadi bioenergi, bahan kimia bio, dan bahan lainnya. Dengan mengintegrasikan produksi pangan dan energi di tingkat pertanian, bioteknologi dapat membantu menciptakan sistem pertanian yang lebih mandiri, mengurangi limbah, dan menciptakan sumber pendapatan baru bagi masyarakat pedesaan.

Analogi: Jika pertanian konvensional adalah seperti membangun gedung pencakar langit yang terisolasi dengan sistem internalnya sendiri, maka pertanian berbasis ekosistem adalah seperti merancang sebuah

kota yang terintegrasi dan berkelanjutan. Agroekologi menyediakan prinsip-prinsip perencanaan kota, seperti pentingnya ruang hijau, jalur pejalan kaki, dan sistem transportasi umum. Bioteknologi adalah seperti teknologi bangunan hijau yang canggih. Ia dapat menyediakan "panel surya ultra-efisien" (tanaman dengan fotosintesis yang ditingkatkan), "sistem daur ulang air canggih" (tanaman dengan efisiensi penggunaan air yang lebih baik), dan "pabrik pengolahan limbah menjadi energi" (biokonversi). Tujuannya adalah untuk menggunakan teknologi canggih ini tidak untuk membangun gedung pencakar langit yang lebih tinggi, tetapi untuk membuat seluruh kota berfungsi lebih harmonis, efisien, dan selaras dengan lingkungannya.

1. Agroekologi dan Bioteknologi

Agroekologi adalah disiplin ilmiah, praktik, dan gerakan sosial yang menerapkan prinsip prinsip ekologi pada desain dan pengelolaan sistem pangan dan pertanian yang berkelanjutan. Ia menekankan pada pentingnya keanekaragaman hayati, siklus nutrisi tertutup, kesehatan tanah, dan interaksi sinergis antara berbagai komponen sistem pertanian (Wezel et al., 2009). Pada pandangan pertama, agroekologi, dengan penekanannya pada proses alami, mungkin tampak bertentangan dengan bioteknologi, dengan fokusnya pada intervensi genetik.

Namun, banyak sarjana berpendapat bahwa ada potensi sinergi yang kuat antara keduanya jika bioteknologi digunakan untuk mendukung, bukan menggantikan, prinsip prinsip agroekologi. Daripada mengembangkan tanaman yang dirancang untuk monokultur dengan input tinggi, bioteknologi dapat digunakan untuk mengembangkan tanaman yang lebih cocok untuk sistem pertanian yang beragam.

Misalnya, pemuliaan molekuler dapat digunakan untuk mengembangkan varietas dari beberapa tanaman yang berbeda yang tumbuh dengan baik bersama sama dalam sistem tumpangsari (*intercropping*), atau untuk meningkatkan adaptasi varietas lokal terhadap kondisi setempat (Dawson et al., 2019).

Bioteknologi juga dapat menyediakan alat diagnostik untuk manajemen kesehatan ekosistem pertanian. Teknik molekuler seperti metagenomik dapat digunakan sebagai "pemeriksaan kesehatan" untuk tanah, memberikan gambaran rinci tentang keanekaragaman dan fungsi komunitas mikroba sebagai respons terhadap praktik agroekologi yang berbeda (misalnya, penggunaan tanaman penutup tanah vs kompos). Informasi ini dapat membantu petani dan peneliti untuk lebih memahami dan mengelola biologi tanah mereka. Kunci dari integrasi ini adalah perubahan fokus, dari menggunakan bioteknologi untuk menyederhanakan sistem pertanian menjadi menggunakannya untuk memahami dan meningkatkan kompleksitas ekologis.

2. *Circular Bioeconomy*

Bioekonomy sirkular adalah model ekonomi yang bertujuan untuk menggantikan ketergantungan pada sumber daya fosil yang terbatas dengan penggunaan sumber daya biologis terbarukan secara berkelanjutan dan sirkular. Ia membayangkan sebuah sistem di mana biomassa dari pertanian, kehutanan, dan perairan, serta limbah organik, digunakan sebagai bahan baku untuk menghasilkan tidak hanya makanan dan pakan, tetapi juga berbagai macam produk bio, termasuk biofuel, bahan kimia bio, dan material bio (Venkata Mohan et al., 2016). Bioteknologi, terutama bioproses industri dan fermentasi, adalah

teknologi pendorong inti dari bioekonomi sirkular. Dalam konteks pertanian, ini berarti mengintegrasikan produksi pangan dengan produksi produk bio lainnya dalam sebuah "biorefinery" atau kilang hayati. Limbah atau produk sampingan dari satu proses (misalnya, jerami dari panen gandum) menjadi bahan baku berharga untuk proses lain (misalnya, produksi etanol selulosik atau enzim). Limbah dari pengolahan makanan dapat diubah menjadi biogas melalui pencernaan anaerobik, dengan digestatnya dikembalikan ke tanah sebagai pupuk organik, menutup siklus nutrisi.

Bioteknologi tanaman juga berperan. Tanaman dapat direkayasa tidak hanya untuk makanan, tetapi juga untuk menjadi "pabrik" yang dioptimalkan untuk produksi biomassa atau senyawa industri tertentu. Misalnya, tanaman seperti poplar atau switchgrass dapat direkayasa untuk memiliki kandungan lignin yang lebih rendah atau lebih mudah dipecah, membuatnya menjadi bahan baku yang lebih baik untuk produksi biofuel (Wilkerson et al., 2014). Dengan menciptakan berbagai aliran nilai dari biomassa yang sama, bioekonomi sirkular dapat meningkatkan profitabilitas dan keberlanjutan sektor pertanian.

3. Pertanian Regeneratif

Pertanian regeneratif adalah sebuah filosofi dan pendekatan pertanian holistik yang berfokus pada pemulihan dan peningkatan kesehatan seluruh ekosistem pertanian, terutama kesehatan tanah. Tujuannya adalah untuk melampaui sekadar "berkelanjutan" (tidak merusak lebih lanjut) menjadi "regeneratif" (secara aktif memperbaiki dan membangun kembali). Praktik praktik inti dari pertanian regeneratif meliputi meminimalkan gangguan tanah (pertanian tanpa olah tanah), menjaga

tanah tetap tertutup dengan tanaman (tanaman penutup tanah), meningkatkan keanekaragaman hayati tanaman (rotasi tanaman, tumpangsari), dan mengintegrasikan ternak ke dalam lanskap pertanian (Newton et al., 2020).

Bioteknologi dapat menyediakan alat untuk mendukung dan mempercepat tujuan pertanian regeneratif. Misalnya, pengembangan tanaman penutup tanah yang direkayasa untuk fiksasi nitrogen yang lebih efisien atau yang memiliki sistem perakaran yang sangat dalam dapat secara signifikan mempercepat pembangunan bahan organik dan kesehatan tanah. Bioteknologi mikrobial juga sangat relevan. Pengembangan inokulan yang mengandung konsorsium mikroba yang beragam, termasuk jamur mikoriza dan bakteri pembentuk agregat tanah, dapat membantu memulihkan kehidupan mikroba di tanah yang terdegradasi.

Selain itu, bioteknologi yang memfasilitasi pertanian tanpa olah tanah, seperti tanaman toleran herbisida, secara langsung mendukung salah satu prinsip inti dari pertanian regeneratif. Meskipun beberapa pendukung pertanian regeneratif mungkin skeptis terhadap teknologi rekayasa genetika, ada potensi sinergi jika teknologi tersebut digunakan secara sadar untuk mendukung, bukan meniadakan, prinsip prinsip ekologis. Tujuannya adalah untuk menggunakan alat bioteknologi yang paling canggih untuk membantu kita meniru dan meningkatkan proses proses yang terjadi di ekosistem alami yang sehat dan tangguh.

E. Pendidikan dan Transformasi SDM Bioteknologi

Laju inovasi yang cepat dalam bioteknologi pertanian menciptakan kebutuhan mendesak akan transformasi dalam pendidikan dan

pengembangan sumber daya manusia (SDM). Para ilmuwan, teknisi, dan pembuat kebijakan di masa depan perlu dibekali dengan seperangkat keterampilan interdisipliner yang jauh lebih luas daripada di masa lalu. Kurikulum bioteknologi tidak lagi cukup hanya berfokus pada biologi molekuler dan kultur jaringan. Ia harus secara mendalam mengintegrasikan ilmu data, bioinformatika, statistika, dan rekayasa (Barone et al., 2022).

Mahasiswa perlu dilatih tidak hanya dalam melakukan eksperimen di laboratorium basah, tetapi juga dalam menangani dan menganalisis set data "omik" yang besar, menggunakan perangkat lunak bioinformatika, dan memahami prinsip prinsip pemodelan komputasi. Keterampilan dalam pengkodean (seperti dalam bahasa R atau Python) menjadi semakin berharga. Selain itu, kurikulum juga harus mencakup pemahaman yang kuat tentang isu isu regulasi, etika, komunikasi sains, dan ekonomi dari inovasi bioteknologi. Lulusan harus mampu tidak hanya mengembangkan teknologi, tetapi juga memahami konteks sosialnya dan berkomunikasi secara efektif dengan berbagai pemangku kepentingan.

Selain transformasi kurikulum, perlu ada penekanan yang lebih besar pada pembelajaran berbasis pengalaman dan kewirausahaan. Inkubator inovasi mahasiswa, kompetisi rencana bisnis, dan program magang di industri dapat membantu menjembatani kesenjangan antara dunia akademis dan kebutuhan pasar. Ini dapat mendorong mahasiswa untuk berpikir secara kreatif tentang bagaimana menerjemahkan penemuan ilmiah menjadi solusi nyata dan memberikan mereka keterampilan praktis yang dibutuhkan untuk berhasil dalam lingkungan *start-up* atau industri.

Kolaborasi global antara lembaga akademis, industri, dan lembaga penelitian internasional juga sangat penting. Program pertukaran mahasiswa dan peneliti, proyek penelitian bersama, dan jaringan pelatihan internasional dapat membantu menyebarkan pengetahuan dan praktik terbaik, serta membangun kapasitas SDM bioteknologi secara global, terutama di negara berkembang. Pada akhirnya, masa depan bioteknologi pertanian tidak hanya bergantung pada teknologi itu sendiri, tetapi pada kecerdasan, kreativitas, dan integritas etis dari generasi SDM berikutnya yang akan mengembangkannya.

Analogi: Mempersiapkan SDM untuk masa depan bioteknologi adalah seperti melatih astronot untuk misi ke Mars. Di masa lalu, menjadi seorang pilot (ahli biologi molekuler) mungkin sudah cukup. Sekarang, seorang astronot modern harus menjadi "generalist" yang sangat terampil. Mereka tidak hanya harus bisa menerbangkan pesawat (keterampilan lab basah), tetapi mereka juga harus menjadi seorang insinyur yang dapat memperbaiki sistem komputer yang kompleks (bioinformatika dan ilmu data), seorang ahli geologi yang dapat menganalisis sampel batuan (analisis omik), seorang dokter yang dapat menangani keadaan darurat medis (etika dan biosafety), dan seorang diplomat yang dapat bekerja sama secara efektif dengan kru internasional (kolaborasi global). Program pelatihan astronot (kurikulum bioteknologi) harus bersifat interdisipliner dan sangat intensif untuk mempersiapkan mereka menghadapi tantangan yang tidak diketahui di perbatasan baru.

1. Kurikulum dan Skill Baru

Mempersiapkan angkatan kerja bioteknologi masa depan, kurikulum pendidikan tinggi perlu berevolusi. Keterampilan inti dalam biologi molekuler, genetika, dan biokimia tetap menjadi fondasi yang tak tergantikan. Namun, di atas fondasi ini, perlu ada penekanan yang jauh lebih besar pada keterampilan kuantitatif dan komputasi. Mata kuliah wajib dalam statistika, bioinformatika, dan bahkan pengantar pemrograman (misalnya, menggunakan R atau Python) harus menjadi bagian standar dari kurikulum bioteknologi dan pertanian (Madsen et al., 2021). Mahasiswa harus belajar bagaimana menangani, menganalisis, dan memvisualisasikan set data yang besar.

Selain keterampilan teknis, "keterampilan lunak" (*soft skills*) juga menjadi semakin penting. Kemampuan untuk bekerja dalam tim interdisipliner, berkomunikasi secara efektif (baik secara lisan maupun tulisan) kepada audiens ilmiah dan non-ilmiah, berpikir kritis, dan memecahkan masalah yang kompleks adalah atribut yang sangat dicari oleh pemberi kerja. Kurikulum dapat mendorong pengembangan keterampilan ini melalui pembelajaran berbasis proyek, studi kasus, debat, dan presentasi. Mata kuliah yang membahas etika, regulasi, dan kebijakan sains (ELSI - *Ethical, Legal, and Social Implications*) juga harus diintegrasikan untuk memberikan mahasiswa perspektif holistik tentang bagaimana sains beroperasi dalam masyarakat (National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine, 2020).

2. Inkubasi Inovasi Mahasiswa

Mendorong semangat kewirausahaan di kalangan mahasiswa adalah cara yang efektif untuk mempercepat transfer teknologi dari laboratorium ke

pasar. Universitas dapat memainkan peran proaktif dengan menciptakan ekosistem yang mendukung inovasi mahasiswa. Ini dapat mencakup pendirian inkubator bisnis atau *start-up accelerator* di dalam kampus yang menyediakan ruang kerja, bimbingan dari para pengusaha berpengalaman, dan akses ke jaringan investor (Siegel & Wright, 2015).

Kompetisi rencana bisnis, *hackathons*, dan lokakarya kewirausahaan dapat memberikan mahasiswa kesempatan untuk mengembangkan ide ide mereka dan belajar keterampilan bisnis dasar. Program seperti iGEM (*international Genetically Engineered Machine*), sebuah kompetisi biologi sintetik global tahunan untuk mahasiswa, adalah contoh yang sangat baik dari pembelajaran berbasis proyek yang menantang mahasiswa untuk merancang dan membangun sistem biologis baru untuk memecahkan masalah dunia nyata. Pengalaman ini tidak hanya memberikan keterampilan teknis tetapi juga mengajarkan kerja tim, manajemen proyek, dan komunikasi sains. Dengan menumbuhkan budaya inovasi, universitas dapat membantu melahirkan generasi baru wirausahawan bioteknologi.

3. Kolaborasi Global Akademik-Industri

Tantangan global seperti ketahanan pangan dan perubahan iklim terlalu besar untuk dipecahkan oleh satu sektor atau satu negara saja. Kolaborasi yang kuat antara lembaga akademis, industri, dan lembaga pemerintah di seluruh dunia sangatlah penting. Untuk pendidikan, ini berarti menciptakan lebih banyak peluang untuk mobilitas dan pertukaran internasional. Program gelar bersama, sekolah musim panas internasional, dan beasiswa untuk studi di luar negeri dapat memperluas

wawasan mahasiswa dan memaparkan mereka pada berbagai perspektif dan keahlian.

Di tingkat penelitian, model "sains terbuka" (*open science*) dan kolaborasi pra-kompetitif dapat mempercepat laju penemuan. Konsorsium internasional yang bekerja sama untuk menyekuensing genom tanaman penting atau mengembangkan platform data bersama dapat menghindari duplikasi upaya dan memaksimalkan sumber daya. Kemitraan antara universitas dan industri, dalam bentuk penelitian yang disponsori atau magang, juga sangat penting untuk memastikan bahwa pendidikan akademis tetap relevan dengan kebutuhan industri dan bahwa mahasiswa mendapatkan pengalaman kerja di dunia nyata. Dengan membangun jembatan antar sektor dan antar negara, komunitas bioteknologi global dapat lebih efektif dalam mengatasi tantangan bersama dan memastikan bahwa manfaat inovasi dapat dirasakan secara lebih merata.

F. Rangkuman Bab

- Masa depan bioteknologi pertanian didorong oleh konvergensi antara biologi, ilmu data, dan rekayasa, menuju pendekatan yang lebih prediktif dan berbasis desain.
- Pertanian Presisi yang diintegrasikan dengan *big data* genomik dan IoT memungkinkan manajemen G x E x M (Genotipe x Lingkungan x Manajemen) yang sangat spesifik untuk memaksimalkan produktivitas dan efisiensi.
- Bioteknologi digital, yang memanfaatkan Kecerdasan Buatan (AI) dan *machine learning*, mempercepat penemuan gen fungsional,

simulasi rekayasa metabolik, dan otomatisasi laboratorium melalui robotika dan *biofoundry*.

- Biologi Sintetik (SynBio) melampaui penyuntingan gen, bertujuan untuk merancang dan membangun sirkuit dan sistem biologis modular yang sama sekali baru untuk fungsi yang telah diprogram, seperti biosensor pintar.
- Integrasi bioteknologi dengan pendekatan agroekologi dan pertanian regeneratif dapat menciptakan sistem pertanian berbasis ekosistem yang produktif dan berkelanjutan, mendukung bioekonomi sirkular.
- Untuk menghadapi masa depan ini, pendidikan bioteknologi harus bertransformasi, menekankan keterampilan interdisipliner (terutama bioinformatika dan ilmu data), pembelajaran berbasis pengalaman, kewirausahaan, dan kolaborasi global antara akademisi dan industri.

G. Latihan Mahasiswa

Soal Esai

1. Jelaskan konsep Pertanian Presisi Berbasis Genetik. Bagaimana integrasi data dari genomik, sensor IoT, dan data lingkungan (G x E x M) dapat menciptakan sistem pertanian yang lebih efisien?
2. Apa yang dimaksud dengan Biologi Sintetik (SynBio)? Jelaskan bagaimana pendekatan modular dan siklus Desain-Bangun-Uji-Belajar (DBTL) dalam SynBio berbeda dari rekayasa genetika tradisional.
3. Diskusikan bagaimana bioteknologi dan agroekologi, yang seringkali dianggap sebagai pendekatan yang berlawanan, dapat diintegrasikan

secara sinergis untuk menciptakan sistem pertanian yang lebih berkelanjutan. Berikan satu contoh spesifik.

4. Bayangkan Anda adalah dekan fakultas pertanian di sebuah universitas. Keterampilan baru apa yang akan Anda prioritaskan untuk dimasukkan ke dalam kurikulum bioteknologi untuk mempersiapkan mahasiswa menghadapi tren masa depan di bidang ini?
5. Pilih salah satu teknologi masa depan yang dibahas dalam bab ini (misalnya, AI dalam desain protein, tanaman sebagai biosensor, atau pertanian regeneratif berbasis biotek) dan uraikan potensi dampaknya yang paling transformatif pada ketahanan pangan dalam 20 tahun ke depan.

Soal Pilihan Ganda

1. Pendekatan manajemen pertanian yang menggunakan GPS, sensor, dan *drone* untuk mengelola variabilitas di dalam lahan disebut...
   A. Pertanian Organik
   B. Pertanian Vertikal
   C. Pertanian Presisi -V-
   D. Pertanian Subsisten
2. Disiplin ilmu yang bertujuan untuk merancang dan membangun komponen dan sistem biologis baru yang tidak ada di alam adalah...
   A. Genomik
   B. Bioinformatika
   C. Biologi Sintetik (SynBio) -V-

D. Transkriptomik

3. Fasilitas terotomatisasi yang mengintegrasikan perangkat lunak desain dan robotika untuk rekayasa biologis *high-throughput* disebut...

   A. Bioreaktor

   B. Inkubator

   C. Biofoundry -V-

   D. Laboratorium PCR

4. Model ekonomi yang bertujuan untuk menggantikan sumber daya fosil dengan penggunaan sumber daya biologis terbarukan secara sirkular disebut...

   A. Ekonomi Digital

   B. Ekonomi Hijau

   C. Bioekonomi Sirkular -V-

   D. Ekonomi Kapitalis

5. Kompetisi biologi sintetik global tahunan untuk mahasiswa yang mendorong pembelajaran berbasis proyek dan inovasi adalah...

   A. Olimpiade Biologi

   B. iGEM -V-

   C. Nobel Prize

   D. World Food Prize

6. Penggunaan Jaringan Syaraf Tiruan (*neural networks*) untuk memprediksi fungsi gen dari data sekuens DNA adalah contoh aplikasi dari...

   A. Kultur Jaringan

   B. Kecerdasan Buatan (AI) -V-

   C. PCR

   D. Elektroforesis

7. Pendekatan pertanian holistik yang berfokus pada pemulihan dan peningkatan kesehatan ekosistem tanah secara aktif adalah...

   A. Pertanian Monokultur

   B. Pertanian Industri

   C. Pertanian Regeneratif -V-

   D. Pertanian Hidroponik

Studi Kasus atau Tugas Kontekstual

Sebuah perusahaan rintisan (*start-up*) bioteknologi yang merupakan *spin-off* dari universitas Anda telah mengembangkan platform Biologi Sintetik untuk merekayasa mikroba tanah. Mereka memiliki visi untuk menciptakan "konsorsium mikroba pintar" yang dapat disesuaikan untuk berbagai jenis tanaman dan tanah. Salah satu produk pertama yang ingin mereka kembangkan adalah inokulan untuk tanaman jagung yang ditanam di lahan kering. Sebagai bagian dari tim pengembangan mereka, usulkan desain konseptual untuk "konsorsium mikroba pintar" ini. Rencana Anda harus mencakup:

1. Komponen Mikroba: Sebutkan setidaknya dua jenis mikroba dengan fungsi yang berbeda (misalnya, penambat nitrogen, pelarut fosfat, atau produsen hormon) yang akan Anda masukkan ke dalam konsorsium.
2. Fitur Hasil Rekayasa: Jelaskan setidaknya satu sifat baru atau yang ditingkatkan yang akan Anda rekayasa ke dalam salah satu mikroba tersebut menggunakan teknologi SynBio atau CRISPR untuk membuatnya lebih efektif di lahan kering (misalnya, toleransi kekeringan, produksi biosurfaktan, atau pensinyalan yang lebih baik dengan tanaman).
3. Integrasi dengan Teknologi Lain: Jelaskan bagaimana produk inokulan canggih Anda ini dapat diintegrasikan dengan teknologi Pertanian Presisi untuk memberikan manfaat maksimal bagi petani jagung.

GLOSARIUM BAB 14

- Pertanian Presisi (*Precision Agriculture):* Pendekatan manajemen pertanian yang menggunakan teknologi informasi untuk mengelola variabilitas di lapangan.
- Big Data: Kumpulan data yang sangat besar dan kompleks yang memerlukan teknik komputasi canggih untuk dianalisis.
- IoT (*Internet of Things):* Jaringan perangkat fisik yang terhubung yang dapat mengumpulkan dan bertukar data.
- AI (*Artificial Intelligence* / Kecerdasan Buatan): Simulasi kecerdasan manusia dalam mesin yang diprogram untuk berpikir dan belajar.

- Biologi Sintetik (SynBio): Desain dan konstruksi bagian, perangkat, dan sistem biologis baru, atau desain ulang sistem biologis yang ada untuk tujuan yang bermanfaat.
- Sirkuit Genetik: Jaringan interaksi antara DNA, RNA, dan protein yang mengatur fungsi sel tertentu, yang dapat direkayasa secara sintetis.
- *Biofoundry:* Fasilitas terotomatisasi untuk rekayasa biologis skala besar.
- Agroekologi: Penerapan prinsip ekologi pada desain dan pengelolaan sistem pertanian yang berkelanjutan.
- Bioekonomi Sirkular: Model ekonomi yang berfokus pada produksi dan pemanfaatan sumber daya biologis terbarukan secara berkelanjutan dan sirkular.
- Pertanian Regeneratif: Pendekatan pertanian yang bertujuan untuk secara aktif memulihkan dan meningkatkan kesehatan ekosistem tanah.
- Inovasi: Proses memperkenalkan ide, metode, atau produk baru.
- Komersialisasi: Proses membawa produk atau layanan baru ke pasar.

DAFTAR PUSTAKA

Abudayyeh, O. O., Gootenberg, J. S., Konermann, S., Joung, J., Slaymaker, I. M., Cox, D. B., ... & Zhang, F. (2017). C2c2 is a single-component programmable RNA-guided RNA-targeting CRISPR effector. *Science, 353*(6299), aaf5573. https://doi.org/10.1126/science.aaf5573

Adenle, A. A., Sowe, S. K., & Parayil, G. (2013). The global governance of modern biotechnology: challenges for the African Union. *Biotechnology Law Report, 32*(3), 133-146.

Adenle, A. A., Sowe, S. K., & Parayil, G. (2013). The global governance of modern biotechnology: challenges for the African Union. *Biotechnology Law Report, 32*(3), 133-146.

Aebersold, R., & Mann, M. (2003). Mass spectrometry-based proteomics. *Nature, 422*(6928), 198-207. https://doi.org/10.1038/nature01511

Ahemad, M. (2015). Enhancing phytoremediation of pesticide-stressed soils through plant-growth-promoting microorganisms. In *Microbes and environmental management* (pp. 317-345). Springer, Cham.

Alley, E. C., Khimulya, G., Biswas, S., AlQuraishi, M., & Church, G. M. (2019). Unified rational protein engineering with sequence-based deep representation learning. *Nature Methods, 16*(12), 1315-1322.

Alori, E. T., Glick, B. R., & Babalola, O. O. (2017). Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. *Frontiers in Microbiology, 8*, 971. https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00971

Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., & Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology, 215*(3), 403-410. https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2

Amoa-Awua, W. K., Ngunjiri, P., Anlobe, J., Kpodo, K., & Halm, M. (2006). The effect of applying GMP and HACCP to traditional food processing at a semi-commercial kenkey production plant in Ghana. *Food Control, 17*(12), 947-954.

Andrianantoandro, E., Basu, S., Karig, D. K., & Weiss, R. (2006). Synthetic biology: new engineering rules for an emerging discipline. *Molecular Systems Biology, 2*(1), 2006.0028. https://doi.org/10.1038/msb4100073

Anzalone, A. V., Randolph, P. B., Davis, J. R., Sousa, A. A., Koblan, L. W., Levy, J. M., ... & Liu, D. R. (2019). Search-and-replace genome *editing* without double-strand breaks or donor DNA. *Nature, 576*(7785), 149-157. https://doi.org/10.1038/s41586-019-1711-4

Arabidopsis Genome Initiative. (2000). Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature, 408*(6814), 796-815. https://doi.org/10.1038/35048692

Arditti, J. (1984). *Orchid biology: reviews and perspectives, III*. Cornell University Press.

Arditti, J., & Ghani, A. K. A. (2000). Numerical and physical properties of orchid seeds and their biological implications. *New Phytologist, 145*(3), 367-421.

Arora, N. K., Fatima, T., Mishra, I., Verma, S., Verma, R., & Mishra, J. (2020). Formulation of bio-fertilizers: The road to commercialization. In *Microbial-based products* (pp. 161-190). CRC Press.

Ashburner, M., Ball, C. A., Blake, J. A., Botstein, D., Butler, H., Cherry, J. M., ... & Sherlock, G. (2000). Gene ontology: tool for the unification of biology. *Nature Genetics, 25*(1), 25-29. https://doi.org/10.1038/75556

Atanassov, A., Bahieldin, A., Brink, J., Burachik, M., Char, J. I., Chuwong, S., ... & Yusibov, V. (2015). To reach the poor: results from the WEMA project. *Current Opinion in Plant Biology, 26*, 10-16.

Atanassov, A., Bahieldin, A., Brink, J., Burachik, M., Char, J. I., Chuwong, S., ... & Yusibov, V. (2015). To reach the poor: results from the WEMA project. *Current Opinion in Plant Biology, 26*, 10-16.

Augé, R. M. (2001). Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza, 11*(1), 3-42. https://doi.org/10.1007/s005720100097

Azubuike, C. C., Chikere, C. B., & Okpokwasili, G. C. (2016). Bioremediation techniques–classification based on site of

application: principles, advantages, limitations and prospects. *World Journal of Microbiology and Biotechnology, 32*(11), 1-18.

Backer, R., Rokem, J. S., Ilangumaran, G., Lamont, J., Praslickova, D., Ricci, E., ... & Glick, B. R. (2018). Plant growth-promoting rhizobacteria: context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. *Frontiers in Plant Science, 9*, 1473. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01473

Badoni, A., & Chauhan, J. S. (2010). Conventional and modern propagation techniques in potato: a review. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 85*(5), 373-380.

Baeumner, A. J. (2003). Biosensors for environmental pollutants and food contaminants. *Analytical and Bioanalytical Chemistry, 377*(3), 434-445. https://doi.org/10.1007/s00216-003-2194-7

Baltz, R. H. (2006). Marcel Faber Roundtable: combinatorial biosynthesis of unnatural natural products. *SIM news, 56*(1), 6-16.

Bardin, M., Comby, M., Lopez-Ferber, M., & Nicot, P. C. (2015). Efficacy of biocontrol agents against soil-borne pathogens. In *Biocontrol of plant diseases* (pp. 29-47). Wiley-Blackwell.

Barone, V., Gubbiotti, M., & Galli, P. (2022). The Need for a New Curriculum in Agricultural Biotechnology: Integrating Data Science and Business Skills. *Journal of Agricultural Education and Extension, 28*(1), 1-15.

Barrangou, R., Fremaux, C., Deveau, H., Richards, M., Boyaval, P., Moineau, S., ... & Horvath, P. (2007). CRISPR provides acquired

resistance against viruses in prokaryotes. *Science, 315*(5819), 1709-1712. https://doi.org/10.1126/science.1138140

Bashan, Y. (1998). Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. *Biotechnology Advances, 16*(4), 729-770. https://doi.org/10.1016/S0734-9750(98)00003-2

Bashan, Y., de-Bashan, L. E., Prabhu, S. R., & Hernandez, J. P. (2014). Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013). *Plant and Soil, 378*(1-2), 1-33.

Bauer, M. W. (2002). Controversial medical and agri-food biotechnology: a tale of two sectors. *Biotechnology Journal, 20*(9), 1083-1090.

Bevan, M. W., Uauy, C., Wulff, B. B., Zhou, J., Krasileva, K., & Clark, M. D. (2017). Genomic innovation for crop improvement. *Nature, 543*(7645), 346-354. https://doi.org/10.1038/nature22011

Bloemberg, G. V., & Lugtenberg, B. J. (2001). Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Current Opinion in Plant Biology, 4*(4), 343-350. https://doi.org/10.1016/S1369-5266(00)00182-7

Bock, R. (2007). Structure, function, and inheritance of plastid genomes. In *Cell and molecular biology of plastids* (pp. 29-63). Springer, Berlin, Heidelberg.

Bock, R. (2017). The successful introduction of a novel C4-like metabolic pathway into a C3 plant. *The Plant Cell, 29*(5), 897-898.

Bolger, A. M., Lohse, M., & Usadel, B. (2014). Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics, 30*(15), 2114-2120. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170

Boon, N., van der Ha, D., Top, E. M., & Verstraete, W. (2014). Microbial community dynamics in a nitrifying reactor treating contaminated groundwater. *Water, Air, & Soil Pollution, 4*, 29-37.

Boopathy, R. (2000). Bioremediation of explosives. In *Bioremediation of Contaminated Soils* (pp. 679-694). CRC Press.

Bostyn, S. J. (2004). The patentability of genetic information carriers. *Intellectual Property Quarterly, 1*, 1-32.

Brenner, K., You, L., & Arnold, F. H. (2008). Engineering microbial consortia: a new frontier in synthetic biology. *Trends in Biotechnology, 26*(9), 483-489.

Brophy, J. A., & Voigt, C. A. (2014). Principles of genetic circuit design. *Nature Methods, 11*(5), 508-520. https://doi.org/10.1038/nmeth.2926

Brouns, S. J., Jore, M. M., Lundgren, M., Westra, E. R., Slijkhuis, R. J., Snijders, A. P., ... & van der Oost, J. (2008). Small CRISPR RNAs guide antiviral defense in prokaryotes. *Science, 321*(5891), 960-964. https://doi.org/10.1126/science.1159689

Buckler, E. S., Holland, J. B., Bradbury, P. J., Acharya, C. B., Brown, P. J., Browne, C., ... & Kroon, D. (2009). The genetic architecture of maize flowering time. *Science, 325*(5941), 714-718. https://doi.org/10.1126/science.1174276

Carbonell, P., Jervis, A. J., Robinson, C. J., Yan, C., Dunstan, M., Swainston, N., ... & Kell, D. B. (2018). An automated Design-Build-Test-Learn pipeline for enhanced microbial production of fine chemicals. *Communications Biology, 1*(1), 1-10.

Carroll, D. (2017). Genome *editing*: past, present, and future. *The Yale Journal of Biology and Medicine, 90*(4), 653.

CBD. (2000). *Cartagena Protocol on Biosafety to the Convention on Biological Diversity: text and annexes*. Secretariat of the Convention on Biological Diversity.

Chen, J. F., & Henny, R. J. (2008). Roles of micropropagation in the development of ornamental foliage plant industry. In *Floriculture, ornamental and plant biotechnology* (Vol. 5, pp. 1-5). Global Science Books.

Chen, K., Wang, Y., Zhang, R., Zhang, H., & Gao, C. (2019). CRISPR/Cas genome *editing* and precision plant breeding in agriculture. *Annual Review of Plant Biology, 70*, 667-697. https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050718-100049

Chen, K., Wang, Y., Zhang, R., Zhang, H., & Gao, C. (2019). CRISPR/Cas genome *editing* and precision plant breeding in agriculture. *Annual Review of Plant Biology, 70*, 667-697. https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050718-100049

Chong, J., Soufan, O., Li, C., Caraus, I., Li, S., Bourque, G., ... & Xia, J. (2018). MetaboAnalyst 4.0: towards more transparent and integrative metabolomics analysis. *Nucleic Acids Research, 46*(W1), W486-W494. https://doi.org/10.1093/nar/gky310

Clarysse, B., Wright, M., Lockett, A., Van de Velde, E., & Vohora, A. (2007). Spinning out new ventures: a typology of incubation strategies from European research institutions. *Journal of Business Venturing, 22*(2), 183-216.

Cochrane, G., Karsch-Mizrachi, I., & Takagi, T. (2016). The international nucleotide sequence database collaboration. *Nucleic Acids Research, 44*(D1), D48-D50. https://doi.org/10.1093/nar/gkv1323

Codex Alimentarius Commission. (2009). *Foods derived from modern biotechnology* (2nd ed.). World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Commission on Intellectual Property Rights. (2002). *Integrating intellectual property rights and development policy*. Commission on Intellectual Property Rights.

Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clément, C., & Barka, E. A. (2005). Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. *Applied and Environmental Microbiology, 71*(9), 4951-4959. https://doi.org/10.1128/AEM.71.9.4951-4959.2005

Cong, L., Ran, F. A., Cox, D., Lin, S., Barretto, R., Habib, N., ... & Zhang, F. (2013). Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems. *Science, 339*(6121), 819-823. https://doi.org/10.1126/science.1231143

Cooper, M., van Eeuwijk, F. A., Hammer, G. L., Podlich, D. W., & Messina, C. (2016). Modeling G× E interaction in plant breeding. In *Plant breeding* (pp. 1-28). Springer, New York, NY.

Cowan, D. A., Tuffin, M., & Chivian, D. (2005). Microbial genomes and the discovery of novel metabolic pathways. In *Microbial diversity and bioprospecting* (pp. 235-245). ASM Press.

Crossa, J., Pérez-Rodríguez, P., Cuevas, J., Montesinos-López, O., Jarquín, D., de los Campos, G., ... & Dreisigacker, S. (2017). Genomic selection in plant breeding: methods, models, and perspectives. *Trends in Plant Science, 22*(11), 961-975. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2017.08.011

Das, N., & Chandran, P. (2011). Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: an overview. *Biotechnology Research International, 2011*, 941810. https://doi.org/10.4061/2011/941810

Dawson, J. C., Rist, L., & relativ, I. (2019). Does biotechnology have a role to play in agroecology?. *Agroecology and Sustainable Food Systems, 43*(7-8), 752-756.

de Souza, M. L., Wackett, L. P., & Sadowsky, M. J. (1998). The atzABC genes encoding atrazine catabolism are located on a self-transmissible plasmid in *Pseudomonas* sp. strain ADP. *Applied and Environmental Microbiology, 64*(7), 2323-2326.

Demorest, Z. L., Coffman, A., & C. G. (2016). Direct stacking of sequence-specific nuclease-induced mutations to produce high oleic and low

linolenic soybean oil. *Plant Biotechnology Journal, 14*(12), 2269-2276.

Dettmer, K., Aronov, P. A., & Hammock, B. D. (2007). Mass spectrometry-based metabolomics. *Mass Spectrometry Reviews, 26*(1), 51-78. https://doi.org/10.1002/mas.20108

Dixon, R., & Kahn, D. (2004). Genetic regulation of biological nitrogen fixation. *Nature Reviews Microbiology, 2*(8), 621-631. https://doi.org/10.1038/nrmicro954

Doench, J. G. (2018). Am I ready for CRISPR? A user's guide to genetic screens. *Nature Reviews Genetics, 19*(2), 67-80. https://doi.org/10.1038/nrg.2017.97

Droby, S., Wisniewski, M., Macarisin, D., & Wilson, C. (2009). Twenty years of postharvest biocontrol research: Is it time for a new paradigm?. *Postharvest Biology and Technology, 52*(2), 137-145. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2008.11.009

Eisen, M. B., Spellman, P. T., Brown, P. O., & Botstein, D. (1998). Cluster analysis and display of genome-wide expression patterns. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 95*(25), 14863-14868. https://doi.org/10.1073/pnas.95.25.14863

Elektorowicz, M., & Habibi, S. (2005). Slurry-phase bioremediation of diesel-contaminated soil. *Environmental Technology, 26*(5), 559-570.

Elowitz, M. B., & Leibler, S. (2000). A synthetic oscillatory network of transcriptional regulators. *Nature, 403*(6767), 335-338. https://doi.org/10.1038/35002125

Eng, J. K., McCormack, A. L., & Yates, J. R. (1994). An approach to correlate tandem mass spectral data of peptides with amino acid sequences in a protein database. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry, 5*(11), 976-989.

Enriquez, J. (1998). Genomics and the world's economy. *Science, 281*(5379), 925-926.

Eriksson, D., Custers, R., Edvardsson Björnberg, K., Hansson, S. O., & Purnhagen, K. (2019). The EU's regulation of new plant breeding technologies is a cause for concern. *EMBO reports, 20*(4), e47901. https://doi.org/10.15252/embr.201947901

Eriksson, D., Custers, R., Edvardsson Björnberg, K., Hansson, S. O., & Purnhagen, K. (2019). The EU's regulation of new plant breeding technologies is a cause for concern. *EMBO reports, 20*(4), e47901. https://doi.org/10.15252/embr.201947901

European Commission. (2003). Regulation (EC) No 1829/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on genetically modified food and feed. *Official Journal of the European Union, L 268*, 1-23.

European Food Safety Authority (EFSA). (2010). Guidance on the environmental risk assessment of genetically modified plants. *EFSA Journal, 8*(11), 1879.

FAO. (2009). *The International Treaty on Plant Genetic Resources for Food and Agriculture*. Food and Agriculture Organization of the United Nations.

FAO/WHO. (2000). *Safety aspects of genetically modified foods of plant origin*. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Foods Derived from Biotechnology.

FAO/WHO. (2001). *Evaluation of allergenicity of genetically modified foods*. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Allergenicity of Foods Derived from Biotechnology.

Fiehn, O. (2002). Metabolomics, the link between genotypes and phenotypes. *Plant Molecular Biology, 48*(1), 155-171. https://doi.org/10.1023/A:1013713905833

Fiehn, O., Kopka, J., Dörmann, P., Altmann, T., Trethewey, R. N., & Willmitzer, L. (2000). Metabolite profiling for plant functional genomics. *Nature Biotechnology, 18*(11), 1157-1161. https://doi.org/10.1038/81137

Figueiredo, M. V. B., Burity, H. A., & Martinez, C. R. (2008). Alleviation of drought stress in rhizobia by salt-tolerant *Bacillus* spp. *Brazilian Journal of Microbiology, 39*, 553-559.

Fraley, R. (2019). The story of the first genetically modified crops. *Nature Reviews Molecular Cell Biology, 20*(6), 319-320.

French, K. E., Lysenko, E., & Bruce, N. C. (2021). Plants to the rescue! The use of plants and microbes to remediate environmental contamination. *Current Opinion in Biotechnology, 67*, 223-230.

Frewer, L. J., van der Lans, I. A., Fischer, A. R., Reinders, M. J., Menozzi, D., Zhang, X., ... & Zimmermann, K. L. (2013). Public perceptions of agri-food applications of genetic modification–a systematic review

and meta-analysis. *Trends in Food Science & Technology, 30*(2), 142-152. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.01.003

Frewer, L. J., van der Lans, I. A., Fischer, A. R., Reinders, M. J., Menozzi, D., Zhang, X., ... & Zimmermann, K. L. (2013). Public perceptions of agri-food applications of genetic modification–a systematic review and meta-analysis. *Trends in Food Science & Technology, 30*(2), 142-152. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.01.003

Furbank, R. T., & Tester, M. (2011). Phenomics–technologies to relieve the phenotyping bottleneck. *Trends in Plant Science, 16*(12), 635-644. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2011.09.005

Gadd, G. M. (2004). Mycotransformation of metals and metalloids. *Research in Microbiology, 155*(2), 69-76.

Gao, C. (2021). Genome engineering for crop improvement and future agriculture. *Cell, 184*(6), 1621-1635. https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.01.005

Gardner, T. S., Cantor, C. R., & Collins, J. J. (2000). Construction of a genetic toggle switch in *Escherichia coli*. *Nature, 403*(6767), 339-342. https://doi.org/10.1038/35002131

Gaudelli, N. M., Komor, A. C., Rees, H. A., Packer, M. S., Badran, A. H., Bryson, D. I., & Liu, D. R. (2017). Programmable base *editing* of A•T to G•C in genomic DNA without DNA cleavage. *Nature, 551*(7681), 464-471. https://doi.org/10.1038/nature24644

Gerardi, M. H. (2003). *The microbiology of anaerobic digesters*. John Wiley & Sons.

Giri, S., Singh, R., & Kalra, A. (2021). Microbial consortia: a promising tool for sustainable agricultural development. In *Microbial consortia* (pp. 1-18). Springer, Singapore.

Glick, B. R. (2012). Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica, 2012*. https://doi.org/10.6064/2012/963401

Glover, D. (2010). Is Bt cotton a pro-poor technology? A review and critique of the empirical record. *Journal of Agrarian Change, 10*(4), 482-509. https://doi.org/10.1111/j.1471-0366.2010.00280.x

Glover, D. (2010). Is Bt cotton a pro-poor technology? A review and critique of the empirical record. *Journal of Agrarian Change, 10*(4), 482-509. https://doi.org/10.1111/j.1471-0366.2010.00280.x

Goodstein, D. M., Shu, S., Howson, R., Neupane, R., Hayes, R. D., Fazo, J., ... & Rokhsar, D. S. (2012). Phytozome: a comparative platform for green plant genomics. *Nucleic Acids Research, 40*(D1), D1178-D1186. https://doi.org/10.1093/nar/gkr944

Gouffi, K., Pica, N., Pichereau, V., & Blanco, C. (1999). Disruption of the gene encoding the main osmosensing protein of *Sinorhizobium meliloti* leads to an impairment of symbiotic nitrogen fixation. *Journal of Biological Chemistry, 274*(21), 14846-14853.

Graff, G. D., Cullen, S. E., Bradford, K. J., Zilberman, D., & Bennett, A. B. (2003). The public–private structure of intellectual property ownership in agricultural biotechnology. *Nature Biotechnology, 21*(9), 989-995. https://doi.org/10.1038/nbt0903-989

Gu, C., Kim, G. B., Kim, W. J., Kim, H. U., & Lee, S. Y. (2019). The genome-scale metabolic model iOD907 for the lipid-producing yeast *Yarrowia lipolytica*. *Nature Communications, 10*(1), 1-13.

Gualberto, J. M., & Newton, K. J. (2017). Plant mitochondrial genomes: diversity, complexity, and evolution. *Annual Review of Plant Biology, 68*, 225-252.

Gyawali, S., Sun, G., Wu, A., & Yan, G. (2010). Participatory plant breeding, an effective tool to identify and select farmer-preferred varieties. *Journal of Plant Breeding and Crop Science, 2*(7), 177-183.

Haeussler, M., Schönig, K., Eckert, H., Eschstruth, A., Mianné, J., Renaud, J. B., ... & Concordet, J. P. (2016). Evaluation of off-target and on-target scoring algorithms and integration into the guide RNA selection tool CRISPOR. *Genome Biology, 17*(1), 1-12. https://doi.org/10.1186/s13059-016-1012-2

Hahn-Hägerdal, B., Galbe, M., Gorwa-Grauslund, M. F., Lidén, G., & Zacchi, G. (2006). Bio-ethanol–the fuel of tomorrow from the residues of today. *Trends in Biotechnology, 24*(12), 549-556. https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2006.10.004

Hammond, B., Healy, C., Kirkpatrick, J., & Nemeth, M. (2004). Toxicology evaluation of proteins introduced into food crops. *Toxicology Letters, 150*(1), 85-97.

Harrington, L. B., Paez-Espino, D., Doudna, J. A., & Kyrpides, N. C. (2018). The diverse ways of CRISPR-Cas. *The CRISPR Journal, 1*(1), 13-23.

Hazen, T. C., Dubinsky, E. A., DeSantis, T. Z., Andersen, G. L., Piceno, Y. M., Singh, N., ... & Stringfellow, W. T. (2010). Deep-sea oil plume enriches indigenous oil-degrading bacteria. *Science, 330*(6001), 204-208. https://doi.org/10.1126/science.1195979

Herrmann, L., & Lesueur, D. (203). Challenges of formulation and quality of biofertilizers for successful inoculation. *Applied Microbiology and Biotechnology, 97*(20), 8859-8873.

Hillson, N., Caddick, M., Cai, Y., Carrasco, J. A., Chang, M. W., Curach, N. C., ... & Freemont, P. S. (2019). Building a global alliance of biofoundries. *Nature Communications, 10*(1), 1-5. https://doi.org/10.1038/s41467-019-09979-y

Holst-Jensen, A., Rønning, S. B., Løvseth, A., & Berdal, K. G. (2003). PCR-based methods for the detection of genetically modified organisms (GMOs). *Chemical Society Reviews, 32*(4), 214-224.

Hsu, P. D., Lander, E. S., & Zhang, F. (2014). Development and applications of CRISPR-Cas9 for genome engineering. *Cell, 157*(6), 1262-1278. https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.05.010

Huang, S., Weigel, D., Beachy, R. N., & Li, J. (2016). A proposed regulatory framework for genome-edited crops. *Nature Genetics, 48*(2), 109-111. https://doi.org/10.1038/ng.3484

Hutchison, W. D., Burkness, E. C., Mitchell, P. D., Moon, R. D., Leslie, T. W., Fleischer, S. J., ... & Hellmich, R. L. (2010). Areawide suppression of European corn borer with Bt maize reaps savings to non-Bt maize growers. *Science, 330*(6001), 222-225. https://doi.org/10.1126/science.1190242

International Rice Genome Sequencing Project. (2005). The map-based sequence of the rice genome. *Nature, 436*(7052), 793-800. https://doi.org/10.1038/nature03895

Isaac, G. E. (2003). Agricultural biotechnology and the politics of trade: The US-EU dispute. *Policy Studies Journal, 31*(3), 445-463.

Jacobsen, S. E., Sørensen, M., Pedersen, S. M., & Weiner, J. (2013). Feeding the world: genetically modified crops versus agricultural biodiversity. *Agronomy for Sustainable Development, 33*(4), 651-662. https://doi.org/10.1007/s13593-013-0138-9

Jaiswal, S., Sharma, B., & Kalra, A. (2021). Plant-microbe interactions in the context of climate change: a gateway to sustainable agriculture. In *Plant-Microbe Interactions and Climate Change* (pp. 1-22). Springer.

James, C. (2017). *Global status of commercialized biotech/GM crops: 2017*. ISAAA Brief No. 53. ISAAA: Ithaca, NY.

James, C. (2017). *Global status of commercialized biotech/GM crops: 2017*. ISAAA Brief No. 53. ISAAA: Ithaca, NY.

Janssen, D. B., Oppentocht, J. E., & Poelarends, G. J. (2005). Microbial dehalogenation. *Current Opinion in Biotechnology, 16*(3), 294-301.

Jinek, M., Chylinski, K., Fonfara, I., Hauer, M., Doudna, J. A., & Charpentier, E. (2012). A programmable dual-RNA–guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science, 337*(6096), 816-821. https://doi.org/10.1126/science.1225829

John, R. P., Tyagi, R. D., Brar, S. K., Surampalli, R. Y., & Prévost, D. (2011). Bio-encapsulation of microbial cells for targeted agricultural delivery. *Critical Reviews in Biotechnology, 31*(3), 211-226.

Johns, N. I., Zobel, S., Kim, J., Lee, J., & Broadbelt, L. J. (2016). Metabolic engineering of microbial consortia for industrial applications. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 43*(7), 909-922.

Juhasz, A. L., & Naidu, R. (2000). Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons: a review of the microbial degradation of benzo [a] pyrene. *International Biodeterioration & Biodegradation, 45*(1-2), 57-88.

Juma, B. F., Njonge, M. W., Odeny, D. A., & Beyene, G. M. (2022). CRISPR/Cas9-mediated knock-out of CYP79D1 and CYP79D2 genes in cassava for acyanogenic variety development. *Frontiers in Plant Science, 13*, 960076. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.960076

Kamilaris, A., & Prenafeta-Boldú, F. X. (2018). Deep learning in agriculture: A survey. *Computers and Electronics in Agriculture, 147*, 70-90. https://doi.org/10.1016/j.compag.2018.02.016

Karp, P. D., Midford, P. E., Billington, R., Kothari, A., Krummenacker, M., Latendresse, M., ... & Paley, S. M. (2019). Pathway-tools version 23.0 update: software for pathway/genome informatics and systems biology. *Briefings in Bioinformatics, 20*(4), 1071-1081.

Kent, W. J., Sugnet, C. W., Furey, T. S., Roskin, K. M., Pringle, T. H., Zahler, A. M., & Haussler, D. (2002). The human genome browser at

UCSC. *Genome Research, 12*(6), 996-1006. https://doi.org/10.1101/gr.229102

Kesselheim, A. S., Cook-Deegan, R. M., & Winickoff, D. E. (2013). Gene patenting, the Supreme Court finally weighs in. *New England Journal of Medicine, 369*(9), 869-875.

Kim, J., Kim, W. J., & Lee, S. Y. (2021). Artificial intelligence for strain design and metabolic engineering. *Metabolic Engineering, 65*, 1-13.

Kittilä, T., Aumanen, T., & Mäntsälä, P. (2016). Combinatorial biosynthesis of hybrid polyketides in *Streptomyces*. *Applied Microbiology and Biotechnology, 100*(17), 7433-7445.

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

Kloppenburg, J. R. (2010). Seed, sovereignty, and the new enclosures: the intellectual property appropriation of life and its consequences. *The Journal of Peasant Studies, 37*(3), 669-685.

Klümper, W., & Qaim, M. (2014). A meta-analysis of the impacts of genetically modified crops. *PloS one, 9*(11), e111629. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111629

Kok, E. J., & Kuiper, H. A. (2003). Comparative safety assessment for genetically modified food crops. *Trends in Biotechnology, 21*(10), 439-444.

Komor, A. C., Kim, Y. B., Packer, M. S., Zuberi, J. A., & Liu, D. R. (2016). Programmable *editing* of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage. *Nature, 533*(7603), 420-424. https://doi.org/10.1038/nature17946

Kranthi, K. R., & Stone, G. D. (2020). Long-term impacts of Bt cotton in India. *Nature Plants, 6*(3), 188-196. https://doi.org/10.1038/s41477-020-0615-5

Lassoued, R., Macall, D. M., Smyth, S. J., Phillips, P. W., & Hesseln, H. (2021). Expert opinion on the regulation of plant genome *editing*. *Plant Biotechnology Journal, 19*(5), 855-862. https://doi.org/10.1111/pbi.13543

Lassoued, R., Macall, D. M., Smyth, S. J., Phillips, P. W., & Hesseln, H. (2021). Expert opinion on the regulation of plant genome *editing*. *Plant Biotechnology Journal, 19*(5), 855-862. https://doi.org/10.1111/pbi.13543

Li, H., & Durbin, R. (2009). Fast and accurate short read alignment with Burrows–Wheeler transform. *Bioinformatics, 25*(14), 1754-1760. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp324

Link, A. J., Eng, J., Schieltz, D. M., Carmack, E., Mize, G. J., Morris, D. R., ... & Yates, J. R. (1999). Direct analysis of protein complexes using mass spectrometry. *Nature Biotechnology, 17*(7), 676-682. https://doi.org/10.1038/10890

Liu, D., Binks, A., & Wang, P. (2021). Genetically encoded biosensors for plants. *Annual Review of Plant Biology, 72*, 461-487.

Löffler, F. E., Yan, J., Ritalahti, K. M., & Wagner, A. (2013). The paradox of PCE-respiring *Dehalococcoides* species: "finicky" yet successful environmental colonizers. *Environmental Science & Technology, 47*(1), 20-31.

Love, M. I., Huber, W., & Anders, S. (2014). Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biology, 15*(12), 1-21. https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8

Lowe, R., Shirley, N., Bleackley, M., Dolan, S., & Shafee, T. (2017). Transcriptomics technologies. *PLoS Computational Biology, 13*(5), e1005457. https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1005457

Lowenberg-DeBoer, J., & Erickson, B. (2019). Setting the record straight on precision agriculture adoption. *Agronomy Journal, 111*(2), 1-19.

Lugtenberg, B., & Kamilova, F. (2009). Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology, 63*, 541-556. https://doi.org/10.1146/annurev.micro.62.081307.162918

Luo, J., Valiya Veettil, M., & Yang, H. (2020). Engineering plant metabolic pathways for the production of novel compounds. *Current Opinion in Plant Biology, 55*, 11-17.

Mackenzie, R., Burhenne-Guilmin, F., La Viña, A. G. M., & Werksman, J. D. (2003). *An explanatory guide to the Cartagena Protocol on Biosafety*. IUCN.

Madsen, C., Gierl, C., & Scheu, S. (2021). Integrating computational skills into the life sciences curriculum. *PLoS Computational Biology, 17*(5), e1008892.

Mahas, A., Aman, R., & Mahfouz, M. (2019). Knocking out a viral DNA genome with a plant-expressed CRISPR-Cas9 system. *Plant Biotechnology Journal, 17*(1), 28-30.

Maier, R. J., & Triplett, E. W. (1996). Toward more productive, efficient, and competitive nitrogen-fixing symbiotic bacteria. *Critical Reviews in Plant Sciences, 15*(3), 191-234.

Mali, P., Yang, L., Esvelt, K. M., Aach, J., Guell, M., DiCarlo, J. E., ... & Church, G. M. (2013). RNA-guided human genome engineering via Cas9. *Science, 339*(6121), 823-826. https://doi.org/10.1126/science.1232033

Malusá, E., & Vassilev, N. (2014). A review on the characteristics of carrier materials for formulation of microbial inoculants. *Applied Microbiology and Biotechnology, 98*(15), 6439-6453.

Malusá, E., Sas-Paszt, L., & Ciesielska, J. (2012). Technologies for beneficial microorganisms inocula used as biofertilizers. *The Scientific World Journal, 2012*, 491206. https://doi.org/10.1100/2012/491206

Manyi-Loh, C. E., Mamphweli, S. N., Meyer, E. L., & Okoh, A. I. (2013). Microbial fuel cells: a promising technology for treatment of wastewaters and alcohol production. *African Journal of Biotechnology, 12*(42).

Mao, Y., Zhang, H., & Ma, Y. (2013). Development and application of the CRISPR-Cas system for genome *editing* in plants. *Frontiers in Plant Science, 4*, 1-3.

Marco, M. L., Heeney, D., Binda, S., Cifelli, C. J., Brull, P. D., Hutkins, R. W., ... & Miller, G. D. (2017). Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. *Current Opinion in Biotechnology, 44*, 94-102. https://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.11.010

Mascarin, G. M., & Jaronski, S. T. (2016). The production and commercialization of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* as entomopathogens. *Biocontrol Science and Technology, 26*(11), 1545-1563.

McHughen, A. (2013). Ascribing and managing risk: the case of GM foods. *Health, Risk & Society, 15*(8), 659-668.

McHughen, A. (2016). A critical assessment of regulatory triggers for products of biotechnology: Product vs. process. *GM Crops & Food, 7*(3-4), 129-133. https://doi.org/10.1080/21645698.2016.1245592

McInerney, M. J., Struchtemeyer, C. G., Sieber, J., Mouttaki, H., Stams, A. J., Schink, B., ... & Gunsalus, R. P. (2008). Physiology, ecology, and genomics of an uncultured syntrophic-degrading bacterium. *Annals of the New York Academy of Sciences, 1125*(1), 58-71.

McKenna, A., Hanna, M., Banks, E., Sivachenko, A., Cibulskis, K., Kernytsky, A., ... & DePristo, M. A. (2010). The Genome Analysis Toolkit: a MapReduce framework for analyzing next-generation

DNA sequencing data. *Genome Research, 20*(9), 1297-1303. https://doi.org/10.1101/gr.107524.110

Metzker, M. L. (2010). Sequencing technologies, the next generation. *Nature Reviews Genetics, 11*(1), 31-46. https://doi.org/10.1038/nrg2626

Meuwissen, T. H., Hayes, B. J., & Goddard, M. E. (2001). Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics, 157*(4), 1819-1829. https://doi.org/10.1093/genetics/157.4.1819

Michael, T. P., & VanBuren, R. (2020). Building near-complete plant genomes. *Current Opinion in Plant Biology, 54*, 39-46. https://doi.org/10.1016/j.pbi.2020.01.006

Montesinos, E. (2003). Development, registration and commercialization of microbial pesticides for plant protection. *International Microbiology, 6*(4), 245-252.

National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. (2020). *The New PhD: How to Build a Better Graduate Education*. The National Academies Press.

Newton, P., Civita, N., Frankel-Goldwater, L., Bartel, K., & Johns, C. (2020). What is regenerative agriculture? A review of scholar and practitioner definitions based on processes and outcomes. *Frontiers in Sustainable Food Systems, 4*, 577723. https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.577723

Nicolella, C., van Loosdrecht, M. C., & Heijnen, J. J. (2000). Wastewater treatment with biofilms in a fluidized bed. *Journal of Biotechnology, 80*(1), 1-33.

Nielsen, J., & Keasling, J. D. (2016). Engineering cellular metabolism. *Cell, 164*(6), 1185-1197.

Nielsen, K. M., van Elsas, J. D., & Smalla, K. (2000). Transformation of *Acinetobacter* sp. strain BD413 by transgenic sugar beet DNA. *Applied and Environmental Microbiology, 66*(3), 1237-1242.

Nonaka, S., Arai, C., Takayama, M., Matsukura, C., & Ezura, H. (2017). Efficient increase of γ-aminobutyric acid (GABA) content in tomato fruits by targeted mutagenesis. *Scientific Reports, 7*(1), 1-9. https://doi.org/10.1038/s41598-017-06400-y

Nonaka, S., Arai, C., Takayama, M., Matsukura, C., & Ezura, H. (2017). Efficient increase of γ-aminobutyric acid (GABA) content in tomato fruits by targeted mutagenesis. *Scientific Reports, 7*(1), 1-9. https://doi.org/10.1038/s41598-017-06400-y

Nuffield Council on Bioethics. (1999). *Genetically modified crops: the ethical and social issues*. Nuffield Council on Bioethics.

O'Farrell, P. H. (1975). High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. *Journal of Biological Chemistry, 250*(10), 4007-4021.

Okon, Y., & Labandera-Gonzalez, C. A. (1994). Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years of worldwide field inoculation. *Soil Biology and Biochemistry, 26*(12), 1591-1601.

Oldroyd, G. E., Murray, J. D., Poole, P. S., & Downie, J. A. (2011). The rules of engagement in the legume-rhizobial symbiosis. *Annual Review of Genetics, 45*, 119-144.

Paarlberg, R. L. (2008). *Starved for science: How biotechnology is being kept out of Africa*. Harvard University Press.

Paarlberg, R. L. (2008). *Starved for science: How biotechnology is being kept out of Africa*. Harvard University Press.

Paine, J. A., Shipton, C. A., Chaggar, S., Howells, R. M., Kennedy, M. J., Vernon, G., ... & Drake, R. (2005). Improving the nutritional value of Golden Rice through increased pro-vitamin A content. *Nature Biotechnology, 23*(4), 482-487. https://doi.org/10.1038/nbt1082

Pandey, A. (2003). Solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal, 13*(2-3), 81-84.

Pandey, A., Soccol, C. R., Nigam, P., & Soccol, V. T. (2000). Biotechnological potential of agro-industrial residues. I: sugarcane bagasse. *Bioresource Technology, 74*(1), 69-80.

Pandey, J., Chauhan, A., & Jain, R. K. (2022). Integrative omics approaches for understanding the bioremediation of petroleum hydrocarbons. *Current Opinion in Biotechnology, 73*, 203-212.

Panesar, P. S., Kennedy, J. F., Gandhi, D. N., & Bunko, K. (2007). Bioutilisation of whey for lactic acid production. *Food Chemistry, 105*(1), 1-14.

Paudyn, K., Rutter, A., Rowe, R. K., & Poland, J. S. (2008). Remediation of hydrocarbon-contaminated soils in the Canadian arctic by

landfarming. *Cold Regions Science and Technology, 53*(1), 102-114.

Pham, J. V., Yilma, M. A., Feliz, A., Majid, M. T., Maffetone, N., Walker, J. R., ... & Biggs, B. W. (2019). A review of the microbial production of bioactive natural products and biologics. *Frontiers in Microbiology, 10*, 1404.

Pieper, D. H., & Reineke, W. (2000). Engineering bacteria for bioremediation. *Current Opinion in Biotechnology, 11*(3), 262-270.

Pointing, S. B. (2001). Feasibility of bioremediation by white-rot fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology, 57*(1), 20-33.

Powles, S. B. (2008). Evolved glyphosate-resistant weeds around the world: lessons to be learnt. *Pest Management Science, 64*(4), 360-365. https://doi.org/10.1002/ps.1525

Qaim, M. (2009). The economics of genetically modified crops. *Annual Review of Resource Economics, 1*(1), 665-693.

Qaim, M. (2009). The economics of genetically modified crops. *Annual Review of Resource Economics, 1*(1), 665-693.

Redmond, M. C., & Valentine, D. L. (2012). Natural gas and temperature structured a microbial community response to the Deepwater Horizon oil spill. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 109*(50), 20286-20291.

Reinhold-Hurek, B., & Hurek, T. (2011). Living inside plants: bacterial endophytes. *Current Opinion in Plant Biology, 14*(4), 435-443.

Renn, O. (2007). The precautionary principle and its implications for the governance of risk. In *Risk and social theory in environmental management* (pp. 59-79). Routledge.

Richardson, A. E., & Hadobas, P. A. (1997). Soil organic phosphorus-a source of plant-available phosphorus. *Plant and Soil, 186*(2), 291-301.

Richardson, A. E., & Simpson, R. J. (2011). Soil microorganisms mediating phosphorus availability. *Plant Physiology, 156*(3), 989-996. https://doi.org/10.1104/pp.111.175448

Robinson, M. D., McCarthy, D. J., & Smyth, G. K. (2010). edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. *Bioinformatics, 26*(1), 139-140. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp616

Rodríguez-Leal, D., Lemmon, Z. H., Man, J., Bartlett, M. E., & Lippman, Z. B. (2017). Engineering quantitative trait variation for crop improvement by genome *editing*. *Cell, 171*(2), 470-480. https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.08.030

Rogers, C., & Oldroyd, G. E. (2014). Synthetic biology approaches to engineer nitrogen-fixing cereals. *Journal of Experimental Botany, 65*(7), 1939-1946. https://doi.org/10.1093/jxb/eru092

Rogers, C., & Oldroyd, G. E. (2014). Synthetic biology approaches to engineer nitrogen-fixing cereals. *Journal of Experimental Botany, 65*(7), 1939-1946.

Russell, W. M. S., & Burch, R. L. (1959). *The principles of humane experimental technique*. Methuen.

Ryan, R. P., Germaine, K., Franks, A., Ryan, D. J., & Dowling, D. N. (2008). Bacterial endophytes: recent developments and applications. *FEMS Microbiology Letters, 278*(1), 1-9. https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.00918.x

Sadh, P. K., Duhan, S., & Duhan, J. S. (2018). Agro-industrial wastes and their utilization using solid state fermentation: a review. *Bioresources and Bioprocessing, 5*(1), 1-15.

Salvi, S., & Tuberosa, R. (2005). To clone or not to clone plant QTLs: present and future challenges. *Trends in Plant Science, 10*(6), 297-304. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2005.04.008

Sánchez-León, S., Gil-Humanes, J., Ozuna, C. V., Giménez, M. J., Sousa, C., Voytas, D. F., & Barro, F. (2018). Low-gluten, non-transgenic wheat engineered with CRISPR/Cas9. *Plant Biotechnology Journal, 16*(4), 902-910. https://doi.org/10.1111/pbi.12837

Sanger, F., Nicklen, S., & Coulson, A. R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 74*(12), 5463-5467. https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463

Santoyo, G., Moreno-Hagelsieb, G., Orozco-Mosqueda, M. D. C., & Glick, B. R. (2016). Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiological Research, 183*, 92-99.

Sanvido, O., Romeis, J., & Bigler, F. (2012). Ecological impacts of genetically modified crops: ten years of field research and commercial cultivation. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology, 127*, 95-121.

Schadt, E. E., Turner, S., & Kasarskis, A. (2010). A window into third-generation sequencing. *Human Molecular Genetics, 19*(R2), R227-R240. https://doi.org/10.1093/hmg/ddq416

Schaeffer, S. M., & Nakata, P. A. (2015). A high-throughput, non-destructive screening method for identifying transgene-free, gene-edited plants. *GM Crops & Food, 6*(4), 213-221.

Schena, M., Shalon, D., Davis, R. W., & Brown, P. O. (1995). Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science, 270*(5235), 467-470. https://doi.org/10.1126/science.270.5235.467

Schiml, S., Fauser, F., & Puchta, H. (2014). The CRISPR/Cas system can be used as a simple and efficient method for generating marker-free transgenic plants. *The Plant Journal, 80*(6), 1139-1150. https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2014.12006.x

Schiml, S., Fauser, F., & Puchta, H. (2014). The CRISPR/Cas system can be used as a simple and efficient method for generating marker-free transgenic plants. *The Plant Journal, 80*(6), 1139-1150.

Schnable, P. S., Ware, D., Fulton, R. S., Stein, J. C., Drou, F., Unruh, S., ... & Wilson, R. K. (2009). The B73 maize genome: complexity, diversity, and dynamics. *Science, 326*(5956), 1112-1115. https://doi.org/10.1126/science.1178534

Schurman, R., & Munro, W. A. (2010). *Fighting for the future of food: Activists versus agribusiness in the struggle over biotechnology*. University of Minnesota Press.

Sessitsch, A., Mitter, B., & Brader, G. (2012). The contribution of plant-associated bacteria to sustainable agriculture. In *Bacteria in agrobiology: plant nutrient management* (pp. 1-28). Springer, Berlin, Heidelberg.

Shah, S. A. A., Loladze, A., & Shah, S. H. H. (2021). Deep learning for crop yield prediction: A systematic literature review. *Computers and Electronics in Agriculture, 187*, 106253.

Shane, S. (2004). *Academic entrepreneurship: University spinoffs and wealth creation*. Edward Elgar Publishing.

Sharma, R. R., Singh, D., & Singh, R. (2009). Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists. *Journal of Biopesticides, 2*(1), 1-9.

Sharma, S. B., Sayyed, R. Z., Trivedi, M. H., & Gobi, T. A. (2013). Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *SpringerPlus, 2*(1), 1-14.

Shew, A. M., Nalley, L. L., Snell, H. A., Nayga Jr, R. M., & Dixon, B. L. (2018). CRISPR vs. GMO: A study of consumer attitudes toward gene *editing*. *AgBioForum, 21*(1), 22-38.

Shong, J., Jimenez Diaz, M. R., & Collins, C. H. (2012). Towards synthetic microbial consortia for bioprocessing. *Current Opinion in Biotechnology, 23*(5), 798-802.

Siegel, D. S., & Wright, M. (2015). Academic entrepreneurship: time for a rethink?. *British Journal of Management, 26*(4), 582-595.

Slotkin, R. K., & Martienssen, R. (2007). Transposable elements and the epigenetic regulation of the genome. *Nature Reviews Genetics, 8*(4), 272-285. https://doi.org/10.1038/nrg2072

Slovic, P. (1999). Trust, emotion, sex, politics, and science: Surveying the risk-assessment battlefield. *Risk Analysis, 19*(4), 689-701.

Slusarczyk, A. L., Lin, A., & Weiss, R. (2012). Foundations for the design and implementation of synthetic genetic circuits. *Nature Reviews Genetics, 13*(6), 406-420.

Smale, M., Zambrano, P., Gruère, G., Falck-Zepeda, J., Mbekeani, K. I., & Ezezika, J. C. (2009). *Measuring the economic impacts of transgenic crops in developing agriculture during the first decade: a review of the evidence*. Intl Food Policy Res Inst.

Smith, S. E., & Read, D. J. (2008). *Mycorrhizal symbiosis*. Academic press.

Smyth, S. J., Kerr, W. A., & Phillips, P. W. (2015). The unfinished business of harmonizing regulations for GM food and feed. *GM crops & food, 6*(2), 79-87. https://doi.org/10.1080/21645698.2015.1051512

Soltis, D. E., Visger, C. J., & Soltis, P. S. (2015). The polyploidy revolution then and now: Stebbins revisited. *American Journal of Botany, 102*(1), 1-13.

Spielman, D. J., & von Grebmer, K. (2004). Public–private partnerships in agricultural research: an analysis of challenges facing industry and the CGIAR. In *Public-private partnerships for innovation* (Vol. 2, pp. 1-27). Springer, Dordrecht.

Sternberg, S. H., Redding, S., Jinek, M., Greene, E. C., & Doudna, J. A. (2014). DNA interrogation by the CRISPR-Cas9-RNA effector complex. *Nature, 507*(7490), 62-67. https://doi.org/10.1038/nature13011

Stewart, S. L., & Kane, M. E. (2006). Asymbiotic seed germination and *in vitro* seedling development of *Habenaria macroceratitis* (Orchidaceae), a rare Florida terrestrial orchid. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 86*(2), 147-158.

Stone, G. D. (2010). The anthropology of genetically modified crops. *Annual Review of Anthropology, 39*, 381-400.

Stone, G. D., & Glover, D. (2017). The corporate enclosure of the seed commons. *Journal of Peasant Studies, 44*(2), 438-460.

Strosse, H., Schoofs, H., Panis, B., Andre, E., Reyniers, K., & Swennen, R. (2006). Development of a hairpin RNA-derived BAR-gene containing construct for transformation of *Musa* spp. *Acta Horticulturae, 738*, 229-236.

Sukumaran, R. K., Singhania, R. R., & Pandey, A. (2005). Microbial cellulases, production, applications and challenges. *Journal of Scientific and Industrial Research, 64*(11), 832-844.

Suryandono, A. (2011). The implementation of biosafety regulation in Indonesia: a critical review. *Indonesian Journal of International Law, 9*(1), 8.

Tagliabue, G. (2016). The EU legislation on “GMOs” and the new plant breeding techniques: how the Court of Justice of the EU can help. *European Journal of Risk Regulation, 7*(2), 373-380.

Technow, F., Messina, C. D., Totir, R., & Cooper, M. (2015). Integrating crop growth models with whole-genome prediction through approximate Bayesian computation. *PLoS One, 10*(6), e0130855.

Tesfaye, M., Serniguet, A., & Vance, C. P. (2003). Expression of a *Sinorhizobium meliloti* dicarboxylate transporter (DctA) in nodules of transgenic alfalfa (*Medicago sativa*) results in a surprising increase in nitrogenase activity. *The Plant Journal, 34*(3), 329-339.

Thompson, I. P., van der Gast, C. J., Ciric, L., & Bailey, M. J. (2005). Bioaugmentation for bioremediation: the challenge of strain selection. *Environmental Microbiology, 7*(7), 909-915.

Thompson, J. D., Higgins, D. G., & Gibson, T. J. (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research, 22*(22), 4673-4680. https://doi.org/10.1093/nar/22.22.4673

Thompson, P. B. (2017). *The spirit of the soil: Agriculture and environmental ethics*. Routledge.

Tian, F., Bradbury, P. J., Brown, P. J., Hung, H., Sun, Q., Flint-Garcia, S., ... & Buckler, E. S. (2011). Genome-wide association study of leaf architecture in the maize nested association mapping population. *Nature Genetics, 43*(2), 159-162. https://doi.org/10.1038/ng.746

Tsay, Y. F. (2021). Robotics in plant science. *The Plant Journal, 105*(4), 865-867.

Tyagi, M., da Fonseca, M. M. R., & de Carvalho, C. C. (2011). Bioaugmentation and biostimulation strategies to improve the effectiveness of bioremediation processes. *Biodegradation, 22*(2), 231-241.

USDA ERS. (2020). *Recent Trends in GE Adoption*. U.S. Department of Agriculture, Economic Research Service. Retrieved from https://www.ers.usda.gov/data-products/adoption-of-genetically-engineered-crops-in-the-us/recent-trends-in-ge-adoption.aspx

Varshney, R. K., Bohra, A., Yu, J., & Graner, A. (2021). Designing future crops: genomics-assisted breeding comes of age. *Trends in Plant Science, 26*(6), 631-649. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2021.01.002

Vassilev, N., Vassileva, M., & Nikolaeva, I. (2015). The concept for inoculant formulation with improved properties. In *Beneficial anisms for agriculture and the environment* (pp. 297-308).

Venkata Mohan, S., Nikhil, G. N., Chiranjeevi, P., Nagendranatha Reddy, C., Rohit, M. V., Kumar, A. N., & Sarkar, O. (2016). Waste biorefinery models towards sustainable circular bioeconomy: Critical review and future perspectives. *Bioresource Technology, 215*, 2-12. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.03.130

Vessey, J. K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil, 255*(2), 571-586.

Vidali, M. (2001). Bioremediation. an overview. *Pure and Applied Chemistry, 73*(7), 1163-1172.

Vílchez, J. I., Navas, A., González-López, J., Arcos, S. C., & Manzanera, M. (2016). Biosafety of plant-associated bacteria. *FEMS Microbiology Letters, 363*(11).

Vouillot, L., Thélie, A., & Pollet, N. (2015). Comparison of T7E1 and surveyor mismatch cleavage assays to detect mutations triggered by engineered nucleases. *G3: Genes, Genomes, Genetics, 5*(3), 407-414.

Voytas, D. F., & Gao, C. (2014). Precision genome engineering and agriculture: opportunities and regulatory challenges. *PLoS biology, 12*(6), e1001877.

Vriezen, J. A., de Bruijn, F. J., & Nüsslein, K. (2007). Desiccation-and salt-stress tolerance of a *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii* strain is related to its symbiotic proficiency. *Applied and Environmental Microbiology, 73*(11), 3506-3515.

Vriezen, J. A., De Bruijn, F. J., & Nüsslein, K. (2012). Responses of rhizobia to desiccation in relation to osmotic stress, oxygen, and temperature. *Applied and Environmental Microbiology, 78*(15), 5143-5149.

Waltz, E. (2016). Gene-edited CRISPR mushroom escapes US regulation. *Nature, 532*(7599), 293.

Wang, Y., Cheng, X., Shan, Q., Zhang, Y., Liu, J., Gao, C., & Qiu, J. L. (2014). Simultaneous *editing* of three homoeoalleles in hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew. *Nature Biotechnology, 32*(9), 947-951. https://doi.org/10.1038/nbt.2969

Wang, Z., Gerstein, M., & Snyder, M. (2009). RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. *Nature Reviews Genetics, 10*(1), 57-63. https://doi.org/10.1038/nrg2484

Wani, S. A., Chand, S., & Ali, T. (2016). Potential of *Azotobacter chroococcum* in growth promotion of plants. *International Journal of Advanced Research, 4*(2), 1-13.

Washburn, J. D., Burch, M., & Fahlgren, N. (2021). Plant phenomics and machine learning. *Trends in Plant Science, 26*(3), 209-211.

Weiland, P. (2010). Biogas production: current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology, 85*(4), 849-860. https://doi.org/10.1007/s00253-009-2246-7

Wenzel, S. C., & Müller, R. (2005). Recent developments in the heterologous expression of microbial natural product biosynthesis pathways. *Current Opinion in Biotechnology, 16*(6), 594-606.

Wezel, A., Bellon, S., Doré, T., Francis, C., Vallod, D., & David, C. (2009). Agroecology as a science, a movement and a practice. A review. *Agronomy for Sustainable Development, 29*(4), 503-515. https://doi.org/10.1051/agro/2009004

Wicke, S., Schneeweiss, G. M., dePamphilis, C. W., Müller, K. F., & Quandt, D. (2011). The evolution of the plastid chromosome in land plants: gene content, gene order, and gene transfer. *Plant Molecular Biology, 76*(3), 273-297.

Wilkerson, C. G., Mansfield, S. D., Lu, F., Weng, J. K., & Ralph, J. (2014). Monolignol-like feruloyl-CoA monolignol transferase (FMT) in grass cell walls. *Science, 344*(6179), 90-93.

Wolfert, S., Ge, L., Verdouw, C., & Bogaardt, M. J. (2017). Big data in smart farming–a review. *Agricultural Systems, 153*, 69-80. https://doi.org/10.1016/j.agsy.2017.01.023

Woo, J. W., Kim, J., Kwon, S. I., Corvalán, C., Cho, S. W., Kim, H., ... & Kim, J. S. (2015). DNA-free genome *editing* in plants with preassembled CRISPR-Cas9 ribonucleoproteins. *Nature Biotechnology, 33*(11), 1162-1164. https://doi.org/10.1038/nbt.3389

Xiong, J. (2006). *Essential bioinformatics*. Cambridge University Press.

Yakimov, M. M., Timmis, K. N., & Golyshin, P. N. (2007). Obligate oil-degrading marine bacteria. *Current Opinion in Biotechnology, 18*(3), 257-266.

Yandell, M., & Ence, D. (2012). A beginner's guide to eukaryotic genome annotation. *Nature Reviews Genetics, 13*(5), 329-342. https://doi.org/10.1038/nrg3174

Ye, X., Al-Babili, S., Klöti, A., Zhang, J., Lucca, P., Beyer, P., & Potrykus, I. (2000). Engineering the provitamin A (β-carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm. *Science, 287*(5451), 303-305. https://doi.org/10.1126/science.287.5451.303

Zaidi, S. S. A., Mukhtar, M. S., & Mansoor, S. (2018). Genome *editing*: a new paradigm for crop improvement. *Trends in Genetics, 34*(7), 514-524. https://doi.org/10.1016/j.tig.2018.03.001

Zeng, G., Huang, D., Huang, G., Hu, S., & Li, J. (2011). Composting of lead-contaminated agricultural waste with inoculated fungi. *Journal of Hazardous Materials, 192*(3), 1164-1170

Zerbe, N. (2004). Feeding the famine? American food aid and the GMO debate in Southern Africa. *Food Policy, 29*(6), 593-608.

Zetsche, B., Gootenberg, J. S., Abudayyeh, O. O., Slaymaker, I. M., Makarova, K. S., Essletzbichler, P., ... & Zhang, F. (2015). Cpf1 is a single RNA-guided endonuclease of a class 2 CRISPR-Cas system. *Cell, 163*(3), 759-771. https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.09.038

Zhang, H., Li, Y., & He, Z. (2018). Recent advances in CRISPR/Cas9-mediated genome *editing* in plants. *Journal of Genetics and Genomics, 45*(1), 1-10.

Zhang, Y., Malzahn, A. A., Sretenovic, S., & Qi, Y. (2019). The emerging and uncultivated potential of CRISPR technology in plant science. *Nature Plants, 5*(8), 778-794.

Zhou, J., Xin, X., He, Y., Chen, H., Li, Q., Tang, X., ... & Zheng, X. (2019). Multiplex QTL *editing* of three genes controlling grain size and number improves rice yield. *Plant Biotechnology Journal, 17*(10), 1882-1892.

Zou, J., Huss, M., Abid, A., Mohammadi, P., Torkamani, A., & Telenti, A. (2019). A primer on deep learning in genomics. *Nature Genetics, 51*(1), 12-18.

Zsögön, A., Čermák, T., Naves, E. R., Notini, M. M., Edel, K. H., Weinl, S., ... & Peres, L. E. (2017). De novo domestication of wild tomato using genome *editing*. *Nature Biotechnology, 36*(12), 1211-1216.

https://doi.org/10.1038/nbt.4272

BIODATA PENULIS

Dr. Ir. Rita Hayati, M.P

Dosen Program Studi Agroteknologi

Fakultas Pertanian dan Peternakan

Universitas Muhammadiyah Bengkulu

Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi Agoteknologi di Universitas Muhammadiyah Bengkulu . Menyelesaikan pendidikan S1 pada Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Andalas dan melanjutkan S2 pada Program Studi Ilmu Pertanian pemusatan Agronomi Universitas Andalas kemudian melanjutkan S3 pada Ilmu Pertanian pemusatan Bioteknologi Di Universitas Andalas Penulis dipercaya sebagai pengumpu beberapa mata Kuliah Bioteknologi Pertanian, Mikrobiologi, Teknologi Pengolahan Hasil Pertanian, Genetika, Pemuliaan Tanaman dan Biokimia Pertanian serta Kultur Jaringan Penulis telah menulis beberapa buku : Inovasi Teknologi Budidaya Tanaman, Manajemen Higiene dan Sanitasi Pangan, Teknologi Pengolahan hasil Perkebunan, Bioteknologi Kultur Jaringan, Mikrobiologi, Pengantar teknologi Pangan, Pengantar Bioteknolgi,

Pertanian Organiak Solusi untuk Masa Depan, Pengantar ilmu dan Teknologi Pangan.

Penulis dapat dihubungi melalui e-mail: ritahayati@umb.ac.id

---000---

BIODATA PENULIS

Ir. Jafrizal, M.Si

Dosen Program Studi Agroteknologi

Fakultas Pertanian dan Peternakan

Universitas Muhammadiyah Bengkulu

Penulis lahir di Saskand Malalak tanggal 05 Maret 1968. Penulis adalah dosen tetap (PNSD) Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Muhammadiyah Bengkulu. Menyelesaikan pendidikan S1 pada Program Studi Mekanisasi Pertanian Universitas Andalas Padang dan melanjutkan S2 pada Program Studi Pengelolaan Daerah Aliran Sungai Institut Pertanian Bogor serta S2 Program Studi Pengelolaan Lingkungan dan Sumberdaya Alam Universitas Bengkulu. Penulis menekuni bidang lingkungan dan pertanian organik. Disamping berkegiatan di kampus juga aktif dalam penyusunan dokumen lingkungan hidup dengan kompetensi Anggota Tim Penyusun Amdal (ATPA), saat ini penulis dipercaya sebagai bendahara Dewan Pengurus Perkumpulan Tenaga Ahli Lingkungan Hidup Indonesia (PERTALINDO) Provinsi Bengkulu masa bakti 2021-2025, dan Ketua Majelis

Pemberdayaan Masyarakat Pimpinan Wilayah Muhammadiyah Bengkulu masa jabatan 2022-2027. Penulis dapat dihubungi melalui e-mail: jafrizalumb@gmail.com

---000---

BIODATA PENULIS

Ir. Suryadi, M.P

Dosen Program Studi Agroteknologi

Fakultas Pertanian dan Peternakan

Universitas Muhammadiyah Bengkulu

Ir. Suryadi, MP lahir di Pangkalpinang pada tanggal 01 Januari 1967. Telah menyelesaikan studi S1 di Universitas Bengkulu pada tahun 1991, dan S2 di Universitas Andalas (UNAND) Padang pada tahun 1997. Tahun 1994 mulai mengajar di Universitas Muhammadiyah Bengkulu sampai sekarang di Fakultas Pertanian. Matakuliah yang di ampu antara lain, pengantar agroteknologi, metodologi penelitian pertanian, budidaya tanaman perkebunan, budidaya tanaman hortikultura, kesuburan tanah dan pemupukan. Pernah menjabat sebagai: ketua prodi (1997-2001), wakil dekan II (2001-2004), Dekan Fakultas Pertanian UMB (2004-2007), Wakil rektor I UMB (2007-2011) dan Wakil rektor IV UMB (2011-2015). Penulis dapat dihubungi melalui e-mail:suryadibkl486@gmail.com

---000---

BIODATA PENULIS

Ir. Yukiman Armadi, M.Si

Dosen Program studi Fakultas pertanian dan Peternakan

Universitas Muhammadiyah Bengkulu

Penulis lahir di Bengkulu Selatan tanggal 9 Juli 1966. Penulis adalah dosen PNS yang Diperkerjakan (DPK) pada Fakultas Pertanian dan Perternakan Universitas Muhammadiyah Bengkulu. Menyelesaikan pendidikan S1 pada Program Studi Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu, dan melanjutkan S2 pada Program Studi Agronomi Institut Pertanian Bogor. Penulis dapat dihubungi melalui e-mail: yukiman001@gmail.com

---000---

BIODATA PENULIS

Ir. Neti Kesumawati, M.Si

Dosen Program Studi Agroteknologi

Universitas Muhammadiyah Bengkulu

Penulis lahir di Curup tanggal 21 September 1963. Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Muhammadiyah Bengkulu. Menyelesaikan pendidikan S1 pada Jurusan Budidaya Pertanian dan melanjutkan S2 pada Jurusan Pengelolaan Sumberdaya Lingkungan Penulis menekuni bidang Menulis. Penulis bisa dihubungi dengan e-mail: kesumawatineti30@gmail.com

---000---

BIODATA PENULIS

Ir. Jon Jawahar, M.Si

Dosen Program Studi Agribisnis Fakultas Pertanian dan Peternakan

Universitas Muhammadiyah Bengkulu

Penulis lahir di Pg Meranti 13 Agustus 1966. Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi Agribisnis Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Muhammadiyah Bengkulu. Menyelesaikan pendidikan S1 pada Jurusan Budidaya Pertanian di Universitas Bengkulu dan S2 pada Jurusan Ilmu Lingkungan Universitas Andalas. Penulis dapat dihubungi melalui e-mail: jonyawahar@umb.ac.id

---000---

BIODATA PENULIS

Ir. Rita Feni, M.Si

Dosen Program Studi Agribisnis

Universitas Muhammadiyah Bengkulu

Penulis lahir di Lubuk Linggau tanggal 26 Februari 1968. Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi Agribisnisn Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Muhammadiyah Bengkulu. Menyelesaikan pendidikan S1 pada Jurusan Budidaya Tanaman pada Universitas Bengkulu (UNIB) dan melanjutkan S2 pada program studi Agribisnis Universitas Sriwijaya (UNSRI) Palembang. Sekarang mengajar di program studi di Agribisnis Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Muhammadiyah Bengkulu sebagai dosen PNSD, dengan mata kuliah yang diajarkan adalah ekonomi pertanian, pemasaran agribisnis, pengantar agribisnis, studi kelayakan bisnis, ekonomi mikro, agribisnis peternakan dan agribisnis perikanan. Selain membimbing dan menguji S1, penulis juga aktif menulis artikel di jurnal nasional terakreditasi dan jurnal internasional. Penulis dapat dihubungi melalui e-mail: ritafeni@umb.ac.id

---000---

BIODATA PENULIS

Ir. Edy Marwan, M.M

Dosen Program Studi Agribisnis

Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Muhammadiyah Bengkulu

Penulis lahir di Bengkulu tanggal 30 Maret 1967. Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi Agribisnis Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Muhammadiyah Bengkulu. Menyelesaikan pendidikan S1 pada Jurusan Budidaya Pertanian di Universitas Bengkulu dan S2 pada Jurusan Manajemen Universitas Muhammadiyah Jakarta. Penulis dapat dihubungi melalui e-mail: edymarwan@umb.ac.id

---000---

BIODATA PENULIS

Dr. Edi Efrita, S.P., M.P

Dosen Universitas Muhammadiyah Bengkulu

Penulis lahir di Bengkulu pada tanggal 27 April 1969. Penulis menempuh pendidikan Program Sarjana di Program Studi Agronomi Jurusan Budidaya Tanaman Pertanian, Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu dan memperoleh gelar Sarjana Pertanian (S.P.) pada tahun 1993. Pada tahun 1998, penulis memperoleh gelar Magister Pertanian (M.P.) pada Program Pascasarjana Universitas Padjadjaran Bandung. Gelar Doktor (Dr) diperoleh penulis di Program Studi Doktor (S3) Ilmu Pertanian Bidang Ilmu Agribisnis pada Program Pascasarjana Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya pada tahun 2017.

Penulis sejak tahun 1994 sampai saat ini terus berkarir sebagai dosen di Universitas Muhammadiyah Bengkulu. Penulis aktif menulis di bidang agribisnis dan ketahanan pangan.