PENDAHULUAN : REKAYASA GENETIKA

Rekayasa genetika adalah juga modifikasi genetik atau manipulasi genetik. Untuk melakukan modifikasi dan manipulasi gen suatu organisme dengan menggunakan teknologi DNA Rekombinan. Teknologi tersebut digunakan untuk mengubah susunan genetik sel, diantaranya dengan cara transfer gen antar spesies untuk menghasilkan organisme yang lebih baik atau baru. DNA baru diperoleh dengan mengisolasi dan menyalin materi genetik yang diinginkan atau dengan membuat DNA secara tiruan dengan reaksi PCR. Kegiatan konstruksi gen tersebut dilakukan untuk memasukkan DNA ini ke dalam organisme inang. Molekul DNA rekombinan pertama dibuat oleh Paul Berg pada tahun 1972 dengan cara menggabungkan DNA dari virus monyet SV40 dan virus lambda. Selain menyisipkan gen asing, proses ini juga dapat digunakan untuk menghilangkan gen. DNA baru dapat disisipkan secara acak, atau dimasukkan ke bagian genom tertentu.

Suatu organisme yang dihasilkan melalui rekayasa genetika dianggap sebagai organisme hasil rekayasa genetika/genetic modification (GM) dan individu yang dihasilkan adalah organisme hasil rekayasa genetika/ genetically modified organism (GMO). GMO pertama adalah bakteri yang dihasilkan oleh Herbert Boyer dan Stanley Cohen pada tahun 1973. Rudolf Jaenisch menciptakan hewan GM pertama ketika ia memasukkan DNA asing ke dalam tikus pada tahun 1974. **Perusahaan pertama** yang fokus pada kegiatan rekayasa genetika adalah Genentech. Perusahaan tersebut didirikan pada tahun 1976 dan memulai produksi protein manusia. Insulin manusia hasil rekayasa genetika diproduksi pada tahun 1978 dan bakteri penghasil insulin dikomersialkan pada tahun 1982.

Produk lain hasil rekayasa genetika telah dijual sejak tahun 1994, yakni tomat Flavr Savr. Flavr Savr dirancang untuk memiliki umur simpan yang lebih lama, namun sebagian besar tanaman GM saat ini dimodifikasi untuk meningkatkan ketahanan terhadap serangga dan herbisida. Dari jenis Ikan, GloFish adalah GMO pertama yang dirancang sebagai hewan peliharaan, dijual di Amerika Serikat pada bulan Desember 2003. Pada tahun 2016 salmon yang dimodifikasi dengan hormon pertumbuhan dijual.

Rekayasa genetika telah diterapkan di berbagai bidang termasuk penelitian, kedokteran, bioteknologi industri dan pertanian. Dalam penelitian, GMO digunakan untuk mempelajari fungsi dan ekspresi gen melalui hilangnya fungsi, perolehan fungsi, pelacakan dan eksperimen ekspresi. Dengan menghilangkan gen-gen yang bertanggung jawab terhadap kondisi-kondisi tertentu, maka dimungkinkan untuk menciptakan organisme model hewan yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia. Selain memproduksi hormon, vaksin, dan obat-obatan lainnya, rekayasa genetika juga berpotensi menyembuhkan penyakit genetik melalui terapi gen . Sel ovarium hamster Cina (CHO) digunakan dalam rekayasa genetika industri. Selain itu, vaksin mRNA dibuat melalui rekayasa genetika untuk mengobati virus seperti COVID-19 . Teknik yang sama yang digunakan untuk memproduksi obat-obatan juga dapat diterapkan dalam industri seperti memproduksi enzim untuk deterjen, keju, dan produk lainnya.

Maraknya tanaman hasil rekayasa genetika yang dikomersialkan telah memberikan manfaat ekonomi bagi para petani di berbagai negara, namun juga menjadi sumber sebagian besar kontroversi seputar teknologi tersebut. Hal ini sudah ada sejak awal penggunaannya; uji coba lapangan pertama dihancurkan oleh aktivis anti-GM. Meskipun terdapat konsensus ilmiah bahwa pangan yang tersedia saat ini yang berasal dari tanaman transgenik tidak menimbulkan risiko lebih besar terhadap kesehatan manusia dibandingkan pangan konvensional, para kritikus menganggap keamanan pangan transgenik sebagai perhatian utama. Aliran gen , dampak terhadap organisme non-target, kendali pasokan makanan, dan hak kekayaan intelektual juga diangkat sebagai isu potensial. Kekhawatiran ini telah mengarah pada pengembangan kerangka peraturan, yang dimulai pada tahun 1975. Hal ini telah menghasilkan perjanjian internasional, Protokol Cartagena tentang Keamanan Hayati , yang diadopsi pada tahun 2000. Masing-masing negara telah mengembangkan sistem peraturan mereka sendiri mengenai GMO, dengan perbedaan paling mencolok terjadi antara AS dan Eropa.

Perbandingan pemuliaan tanaman konvensional dengan modifikasi genetik transgenik dan cisgenik

Rekayasa genetika adalah proses yang mengubah struktur genetik suatu organisme dengan menghilangkan atau memasukkan DNA , atau memodifikasi materi genetik yang ada di tempatnya. Tidak seperti pemuliaan hewan dan tumbuhan tradisional , yang melibatkan banyak persilangan dan kemudian memilih organisme dengan fenotip yang diinginkan , rekayasa genetika mengambil gen langsung dari satu organisme dan mengirimkannya ke organisme lain. Ini jauh lebih cepat, dapat digunakan untuk menyisipkan gen apa pun dari organisme apa pun (bahkan yang berasal dari domain/kingdom berbeda ) dan mencegah penambahan gen lain yang tidak diinginkan.

Rekayasa genetika berpotensi memperbaiki kelainan genetik yang parah pada manusia dengan mengganti gen yang rusak dengan gen yang berfungsi. Cara tersebut merupakan memungkinkan fungsi gen tertentu untuk dipelajari. Obat-obatan, vaksin, dan produk lainnya diambil dari organisme yang direkayasa untuk memproduksinya. Tanaman telah dikembangkan untuk tahan terhadap penyakit dan hama. Produk tersebut membantu ketahanan pangan dengan meningkatkan hasil, nilai gizi, dan toleransi dari lingkungan yang tidak menguntungkan.

DNA dapat dimasukkan langsung ke dalam organisme inang atau ke dalam sel yang kemudian digabungkan dengan inang. Dengan Teknik DNA rekombinan akan membentuk kombinasi baru materi genetik yang diwariskan. Penggabungan materi tersebut dapat melalui sistem vektor atau melalui injeksi mikro , injeksi makro, atau enkapsulasi mikro .

Rekayasa genetika biasanya tidak mencakup pemuliaan tradisional, fertilisasi in vitro , induksi poliploidi , mutagenesis, dan teknik fusi sel yang tidak menggunakan DNA rekombinan atau organisme hasil rekayasa genetika dalam prosesnya. Rekayasa genetika secara luas mencakup pemuliaan selektif . [10] Penelitian kloning dan sel induk , meskipun tidak dianggap sebagai rekayasa genetika, produknya mempunyai nilai ilmiah yang penting. Biologi sintetik adalah disiplin ilmu baru yang membawa rekayasa genetika selangkah lebih maju dengan memperkenalkan materi yang disintesis secara buatan ke dalam suatu organisme.

Tumbuhan, hewan atau mikroorganisme yang telah diubah melalui rekayasa genetika disebut organisme hasil rekayasa genetika atau GMO. [14] Jika materi genetik dari spesies lain ditambahkan ke inang, organisme yang dihasilkan disebut transgenik . Jika materi genetik/DNA dari spesies yang sama atau spesies yang dapat berkembang biak secara alami dengan inang digunakan, maka organisme yang dihasilkan disebut cisgenik . Jika rekayasa genetika digunakan untuk menghilangkan materi genetik dari organisme target, organisme yang dihasilkan disebut organisme knockout . Di Eropa, modifikasi genetik identik dengan rekayasa genetika, sedangkan di Amerika Serikat dan Kanada, modifikasi genetik juga dapat digunakan untuk merujuk pada metode pemuliaan yang lebih alami/konvensional.

**Proses Teknik rekayasa genetika**

Reaksi berantai polimerase adalah alat ampuh yang digunakan dalam kloning molekuler .

Untuk membuat GMO perlu banyak proses yang harus dilalui. Para ahli rekayasa genetika harus terlebih dahulu memilih gen apa yang ingin mereka masukkan ke dalam organisme. Hal ini didorong oleh tujuan organisme yang dihasilkan dan dibangun berdasarkan penelitian sebelumnya. Skrining genetik dapat dilakukan untuk mengetahui gen potensial dan pengujian lebih lanjut kemudian digunakan untuk mengidentifikasi kandidat terbaik. Perkembangan Teknik microarray , transkriptomik , dan pengurutan/ sekuen genom telah mempermudah pencarian gen yang sesuai. Keberuntungan juga berperan; gen Roundup Ready ditemukan setelah para ilmuwan menemukan bakteri berkembang biak dengan adanya herbisida.

Isolasi dan kloning gen

Langkah selanjutnya adalah mengisolasi gen kandidat. Sel yang mengandung gen dirusak dan DNAnya diambil serta dimurnikan. Gen murni diambil dan dipotong dengan menggunakan enzim restriksi untuk menghasilkan potongan DNA yang lebih pendek atau reaksi berantai polimerase (PCR) untuk memperbanyak potongan gen. Potongan gen ini kemudian dapat diekstraksi melalui elektroforesis gel . Jika gen yang dipilih atau genom organisme donor telah dipublikasikan, gen tersebut mungkin sudah dapat diakses dari perpustakaan genetik . Jika urutan DNA diketahui, tetapi salinan gennya tidak tersedia, maka DNA tersebut juga dapat disintesis secara buatan. Setelah diisolasi, gen tersebut disambungkan ke dalam plasmid yang kemudian dimasukkan ke dalam bakteri. Plasmid direplikasi ketika bakteri membelah, sehingga menghasilkan salinan gen yang tidak terbatas. Plasmid RK2 terkenal karena kemampuannya untuk bereplikasi pada berbagai organisme bersel tunggal , sehingga cocok sebagai alat rekayasa genetika.

Sebelum gen dimasukkan ke dalam organisme target, gen tersebut harus digabungkan dengan unsur genetik lainnya. Ini termasuk wilayah promotor dan terminator , yang memulai dan mengakhiri transkripsi . Gen penanda yang dapat dipilih ditambahkan, yang dalam banyak kasus menyebabkan resistensi antibiotik , sehingga peneliti dapat dengan mudah menentukan sel mana yang berhasil diubah. Gen juga dapat dimodifikasi pada tahap ini untuk ekspresi atau efektivitas yang lebih baik. Manipulasi ini dilakukan dengan menggunakan teknik DNA rekombinan , seperti pemotongan restriksi, ligasi, dan kloning molekuler.

Memasukkan DNA ke dalam genom inang

Ada sejumlah teknik yang digunakan untuk memasukkan materi genetik ke dalam genom inang. Beberapa bakteri secara alami dapat mengambil DNA asing. Secara alami bakteri akan melakukan transaksi gen lewan tranformasi, konjugasi dan transduksi. Kemampuan alami ini dapat diinduksi pada bakteri lain melalui stres (misalnya kejutan panas atau listrik), yang meningkatkan permeabilitas membran sel terhadap DNA; DNA yang diambil dapat berintegrasi dengan genom atau ada sebagai DNA ekstrakromosom . DNA umumnya dimasukkan ke dalam sel hewan menggunakan mikroinjeksi , yang dapat disuntikkan melalui selubung inti sel langsung ke dalam nukleus , atau melalui penggunaan vektor virus .

Genom tanaman dapat direkayasa dengan metode fisik atau dengan menggunakan Agrobacterium untuk mengirimkan rangkaian yang dihosting dalam vektor biner T-DNA . Pada tumbuhan, DNA sering kali disisipkan menggunakan transformasi dengan perantara Agrobacterium , memanfaatkan rangkaian T-DNA Agrobacterium yang memungkinkan penyisipan materi genetik secara alami ke dalam sel tumbuhan. Metode lain termasuk biolistik , di mana partikel emas atau tungsten dilapisi dengan DNA dan kemudian ditembakkan ke sel tanaman muda, [64] dan elektroporasi , yang melibatkan penggunaan sengatan listrik untuk membuat membran sel permeabel terhadap DNA plasmid.

Karena hanya satu sel yang ditransformasikan dengan materi genetik, organisme harus diregenerasi dari sel tunggal tersebut. Pada tanaman hal ini dicapai melalui penggunaan kultur jaringan .

Pada hewan, penting untuk memastikan bahwa DNA yang disisipkan ada dalam sel induk embrio. Bakteri terdiri dari satu sel dan bereproduksi secara klon sehingga regenerasi tidak diperlukan. Penanda yang dapat dipilih digunakan untuk dengan mudah membedakan sel yang ditransformasikan dan sel yang tidak ditransformasi. Penanda ini biasanya terdapat pada organisme transgenik, meskipun sejumlah strategi telah dikembangkan untuk menghilangkan penanda terpilih dari tanaman transgenik dewasa.