



Bioteknologi Molekuler

Salman | Annisa Maulidia Rahayyu | Deniyati | Raudatul Janah
Mutiara Imansari | Yulia Ratna Dewi | R. Agus Wibowo S. | Dessy Arisanty
Maulidwina Bethasari | Zulhaerana Bahar | Melinda Remelia
Paula Mariana Kustiawan | Reny Syahruni | Kurnia Ritma Dhanti
Ni Putu Senshi Septiasari

EDITOR:
Prof. Dr. Yusuf Sabilu, M.Si
Jekmal Malau, S.Si., M.Si

Bioteknologi Molekuler

Buku Bioteknologi Molekuler yang berada ditangan pembaca ini terdiri dari 15 BAB yang menjelaskan secara terstruktur hal-hal yang terkait:

- BAB 1 Sejarah Bioteknologi
- BAB 2 Replikasi, Transkripsi dan Translasi Gen, Struktur Gen, Kromosom dan Genom
- BAB 3 Restriksi Endonuklease
- BAB 4 Vektor Kloning
- BAB 5 Transformasi Prokariot, Screening Klon dan Teknologi Hibridisasi
- BAB 6 Sintesis DNA
- BAB 7 Teknologi Sekuensing DNA
- BAB 8 Manipulasi Ekspresi Gen
- BAB 9 Produksi Protein Rekombinan pada Sel Eukariotik
- BAB 10 Mutasi Terarah
- BAB 11 Rekayasa Protein
- BAB 12 Aplikasi Bioteknologi Mikroba
- BAB 13 Aplikasi Bioteknologi Tanaman dan Hewan
- BAB 14 Genetika Molekuler Manusia
- BAB 15 Forensik dan DNA Profiling

BIOTEKNOLOGI MOLEKULER

Salman, S.Si., M.Farm
apt. Annisa Maulidia Rahayyu, S.Farm., M.S.Farm
Deniyati, S.Farm., M.Si
dr. Raudatul Janah, Sp. PA
apt. Mutiara Imansari, S.Farm., M.Si
Yulia Ratna Dewi, S.Tr.A.K., M.Biomed
Dr. R. Agus Wibowo S., S.Si., M.Sc
Dr. Dessy Arisanty, M.Sc
apt. Maulidwina Bethasari, M.S.Farm
apt. Zulhaerana Bahar, M.Si
Dr. Melinda Remelia, S.Si., M.Biomed
Paula Mariana Kustiawan, M.Sc., Ph.D
apt. Reny Syahrani, S.Farm., M.Sc
Kurnia Ritma Dhanti, S.Si., M. Biotech
Ni Putu Senshi Septiasari, S.Si., M.Si



eureka
media aksara

PENERBIT CV.EUREKA MEDIA AKSARA

BIOTEKNOLOGI MOLEKULER

Penulis : Salman, S.Si., M.Farm
apt. Annisa Maulidia Rahayyu, S.Farm.,
M.S.Farm
Deniyati, S.Farm., M.Si
dr. Raudatul Janah, Sp. PA
apt. Mutiara Imansari, S.Farm., M.Si
Yulia Ratna Dewi, S.Tr.A.K., M.Biomed
Dr. R. Agus Wibowo S., S.Si., M.Sc
Dr. Dessy Arisanty, M.Sc
apt. Maulidwina Bethasari, M.S.Farm
apt. Zulhaerana Bahar, M.Si
Dr. Melinda Remelia, S.Si., M. Biomed
Paula Mariana Kustiawan, M.Sc., Ph.D
apt. Reny Syahrani, S.Farm., M.Sc
Kurnia Ritma Dhanti, S.Si., M. Biotech
Ni Putu Senshi Septiasari, S.Si., M.Si

Editor : Prof. Dr. Yusuf Sabilu, M.Si
Jekmal Malau, S.Si., M.Si

Desain Sampul : Eri Setiawan

Tata Letak : Meuthia Rahmi Ramadani

ISBN : 978-623-120-191-1

Diterbitkan oleh : **EUREKA MEDIA AKSARA, JANUARI 2024**
ANGGOTA IKAPI JAWA TENGAH
NO. 225/JTE/2021

Redaksi:

Jalan Banjaran, Desa Banjaran RT 20 RW 10 Kecamatan Bojongsari
Kabupaten Purbalingga Telp. 0858-5343-1992

Surel : eurekamediaaksara@gmail.com

Cetakan Pertama : 2024

All right reserved

Hak Cipta dilindungi undang-undang
Dilarang memperbanyak atau memindahkan sebagian atau seluruh isi buku ini dalam bentuk apapun dan dengan cara apapun, termasuk memfotokopi, merekam, atau dengan teknik perekaman lainnya tanpa seizin tertulis dari penerbit.

KATA PENGANTAR

Dengan penuh kerendahan hati, buku ini dibuka dengan rasa syukur kepada Allah Swt, sumber segala ilmu dan kebijaksanaan. Segala puji dan syukur kami panjatkan atas nikmat-Nya yang tiada terhingga. Bioteknologi Molekuler, sebagai salah satu cabang utama bioteknologi, mempertautkan prinsip-prinsip biologi dengan teknik-teknik modern yang mengubah cara kita memahami, mengelola, dan memanfaatkan kehidupan di sekitar kita. Dalam hal ini, buku ini bertujuan memberikan wawasan mendalam tentang dasar-dasar bioteknologi molekuler, dari struktur DNA, teknologi hingga aplikasi.

Buku Bioteknologi Molekuler yang berada ditangan pembaca ini terdiri dari 15 BAB yang menjelaskan secara terstruktur hal-hal yang terkait:

- BAB 1 Sejarah Bioteknologi
- BAB 2 Replikasi, Transkripsi dan Translasi Gen, Struktur Gen, Kromosom dan Genom
- BAB 3 Restriksi Endonuklease
- BAB 4 Vektor Cloning
- BAB 5 Transformasi Prokariot, Skrining Klon, dan Teknik Hiridisasi
- BAB 6 Sintesis DNA
- BAB 7 Teknologi Sekuensing DNA
- BAB 8 Manipulasi Ekspresi Gen
- BAB 9 Produksi Protein Rekombinan pada Sel Eukariotik
- BAB 10 Mutasi Terarah
- BAB 11 Rekayasa Protein
- BAB 12 Aplikasi Bioteknologi Mikroba
- BAB 13 Aplikasi Bioteknologi Tanaman dan Hewan
- BAB 14 Genetika Molekuler Manusia
- BAB 15 Forensik dan DNA Profiling

Bioteknologi molekuler bukan hanya sekadar alat ilmiah, tetapi juga cerminan dari tekad manusia untuk menguasai dan memahami kompleksitas kehidupan. Semoga buku ini memberikan pencerahan dan menginspirasi pembaca, dari kalangan mahasiswa

hingga para profesional di bidang bioteknologi, untuk terus menggali potensi luar biasa yang ditawarkan oleh dunia mikrobiologi dan bioteknologi molekuler. Selamat membaca, dan mari bersama-sama menjelajahi arus inovasi yang terus mengalir dalam dunia ilmu pengetahuan!

Harapan kami, ilmu yang diuraikan dalam buku ini dapat memberikan kontribusi positif bagi kemajuan kesehatan dan kesejahteraan manusia. Buku ini membuka pintu bagi pembaca untuk memahami bagaimana manipulasi DNA, kloning, dan teknik terkini dalam bioteknologi molekuler dapat membentuk masa depan kesehatan, lingkungan, dan kehidupan manusia.

Penulis menyadari bahwa terdapat banyak kekurangan dalam penulisan buku ini maka itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari para pembaca demi kesempurnaan edisi berikutnya.

Terima kasih kepada semua pihak yang telah berperan dalam perjalanan pembuatan buku ini.

Medan, 04 Januari 2024

Tim Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR ISI	vi
BAB 1 SEJARAH BIOTEKNOLOGI	1
A. Pendahuluan.....	1
B. Apa itu Bioteknologi.....	2
C. Cabang Bioteknologi.....	7
D. Bioteknologi dan Berbagai Tahapan Perkembangannya	9
E. Bioteknologi Kuno (pre-1800).....	12
F. Bioteknologi Klasik	16
G. Bioteknologi Modern	18
H. Ruang Lingkup dan Pentingnya Bioteknologi.....	28
I. Penelitian Terkini di Bidang Bioteknologi.....	30
DAFTAR PUSTAKA	32
BAB 2 REPLIKASI, TRANSKRIPSI DAN TRANSLASI GEN, STRUKTUR GEN, KROMOSOM DAN GENOM	34
A. Pendahuluan.....	34
B. Replikasi, Transkripsi, dan Translasi Gen	35
C. Struktur Gen, Kromosom, dan Genom	39
D. Simpulan	45
DAFTAR PUSTAKA	46
BAB 3 RESTRIKSI ENDONUKLEASE.....	47
A. Pendahuluan.....	47
B. Sejarah Penelitian	48
C. Pengertian Restriksi Endonuklease	48
D. Tujuan Restriksi Endonuklease	48
E. Jenis-Jenis Restriksi Endonuklease	49
DAFTAR PUSTAKA	59
BAB 4 VEKTOR CLONING.....	63
A. Pendahuluan.....	63
B. Definisi Vektor Cloning	64
C. Macam - Macam Vektor Cloning	64
D. Organisasi Gen pada λ DNA	70
E. Bentuk Linear dan Circular λ DNA	71
DAFTAR PUSTAKA	74

BAB 5 TRANSFORMASI PROKARIOT, SKRINING KLON, DAN TEKNIK HIBRIDISASI	77
A. Transformasi Genetik Prokariot	77
B. Skrining Klon	82
C. Teknik Hibridisasi	89
DAFTAR PUSTAKA	96
BAB 6 SINTESIS DNA	97
A. Pengantar Sintesis DNA	97
B. Replikasi DNA	99
C. Mekanisme Sintesis DNA	100
D. Model Replikasi DNA	105
E. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Replikasi DNA	106
F. Teknik-Teknik Sintesis DNA	107
DAFTAR PUSTAKA	110
BAB 7 TEKNOLOGI SEKUENSING DNA	112
A. Sejarah Pengurutan DNA	112
B. Pengurutan DNA Generasi Pertama – AWAL Era Genomik	119
DAFTAR PUSTAKA	138
BAB 8 MANIPULASI EKSPRESI GEN	141
A. Pendahuluan	141
B. Apa itu Ekspresi Gen	143
C. Modifikasi dan Manipulasi Ekspresi Gen	145
DAFTAR PUSTAKA	165
BAB 9 PRODUKSI PROTEIN REKOMBINAN PADA SEL EUKARIOTIK	168
A. Pendahuluan	168
B. Sel Inang	169
C. Produksi Protein Rekombinan pada Sel Mamalia	170
D. Produksi Protein Rekombinan pada Sel Khamir	177
E. Sistem Ekspresi Eukaryot	185
DAFTAR PUSTAKA	186
BAB 10 MUTASI TERARAH	189
A. Pendahuluan	189
B. Mekanisme Mutasi Terarah	189
C. Teknik Mutasi Terarah	194

D. Aplikasi Mutasi Terarah.....	197
DAFTAR PUSTAKA	199
BAB 11 REKAYASA PROTEIN.....	200
A. Pendahuluan.....	200
B. Sejarah Perkembangan Teknik Rekayasa Protein.....	202
C. Pemahaman Struktur dan Fungsi Protein	203
D. Metode Analisis Struktur Protein	208
E. Metode Optimasi Protein.....	208
F. Pendekatan dalam Rekayasa Protein	209
DAFTAR PUSTAKA	212
BAB 12 APLIKASI BIOTEKNOLOGI MIKROBA	213
A. Prinsip Dasar Bioteknologi Mikroba	213
B. Bioteknologi Mikroba dalam Fermentasi Makanan ...	215
C. Bioteknologi Mikroba dalam Pertanian	216
D. Bioteknologi Mikroba dalam Peternakan dan Perikanan.....	218
E. Bioteknologi Mikroba dalam Farmasi dan Kesehatan	218
F. Bioteknologi Mikroba dalam Pertambangan	221
G. Bioteknologi Mikroba dalam Pelestarian Lingkungan.....	222
H. Bioteknologi Mikroba dalam Bioinformatika.....	224
DAFTAR PUSTAKA	226
BAB 13 APLIKASI BIOTEKNOLOGI TANAMAN DAN HEWAN	228
A. Pendahuluan.....	228
B. Aplikasi Bioteknologi pada Tanaman.....	229
C. Aplikasi Bioteknologi pada Hewan.....	236
DAFTAR PUSTAKA	242
BAB 14 GENETIKA MOLEKULER MANUSIA.....	245
A. Dasar Informasi Genetik	245
B. Genetika Molekuler	246
C. Pewarisan Gen dalam Keluarga.....	247
D. Penyakit Genetik	249
E. Genetika Molekuler Dalam Bidang Kesehatan	250
DAFTAR PUSTAKA	256

BAB 15 FORENSIK DAN DNA PROFILING	257
A. Sejarah Perkembangan Ilmu Forensik	257
B. Klasifikasi Ilmu Forensik.....	259
C. Identifikasi Personal dengan Analisis DNA.....	263
DAFTAR PUSTAKA.....	276
TENTANG PENULIS	277



BIOTEKNOLOGI MOLEKULER

Salman, S.Si., M.Farm
apt. Annisa Maulidia Rahayyu, S.Farm., M.S.Farm
Deniyati, S.Farm., M.Si
dr. Raudatul Janah, Sp. PA
apt. Mutiara Imansari, S.Farm., M.Si
Yulia Ratna Dewi, S.Tr.A.K., M.Biomed
Dr. R. Agus Wibowo S., S.Si., M.Sc
Dr. Dessy Arisanty, M.Sc
apt. Maulidwina Bethasari, M.S.Farm
apt. Zulhaerana Bahar, M.Si
Dr. Melinda Remelia, S.Si., M.Biomed
Paula Mariana Kustiawan, M.Sc., Ph.D
apt. Reny Syahrani, S.Farm., M.Sc
Kurnia Ritma Dhanti, S.Si., M. Biotech
Ni Putu Senshi Septiasari, S.Si., M.Si

BAB

1

SEJARAH BIOTEKNOLOGI

Salman, S.Si., M.Farm

A. Pendahuluan

Pemanfaatan proses biologis, organisme, atau sistem dengan tujuan menghasilkan produk yang dapat meningkatkan kualitas kehidupan manusia dikenal sebagai bidang bioteknologi. Secara umum, bioteknologi dapat diartikan sebagai manipulasi organisme untuk keperluan manusia. Definisi ini juga mencakup penguasaan keterampilan yang diperlukan untuk memanfaatkan sistem kehidupan atau mengubah proses alam demi menghasilkan produk, sistem, atau lingkungan yang mendukung kemajuan manusia.

Pada saat ini, fokus bioteknologi lebih tertuju pada pembentukan gen hibrida yang kemudian ditransfer ke dalam organisme yang biasanya tidak mengandung gen tersebut secara keseluruhan atau sebagian. Sejak zaman prasejarah, praktik bioteknologi yang sederhana telah diterapkan oleh petani dalam pengembangan spesies tumbuhan dan hewan dengan kualitas yang lebih baik, melibatkan teknik penyerbukan silang atau perkawinan silang.

Bentuk-bentuk bioteknologi pada masa lampau mencakup kegiatan pelatihan dan pembiakan hewan secara selektif, budidaya tanaman, serta pemanfaatan mikroorganisme untuk menghasilkan berbagai produk seperti keju, yogurt, roti, bir, dan anggur. Perkembangan pertanian awal lebih difokuskan pada produksi pangan sebagai tujuan utama.

DAFTAR PUSTAKA

- Van den Belt, H. (2009) 'Playing God in Frankenstein's footsteps: synthetic biology and the meaning of life', *Nanoethics*, 3, pp. 257–268.
- Beppu, T. (2000) *History of modern biotechnology I*. Springer Science & Business Media.
- Bhatia, S. (2018) 'History, scope and development of biotechnology', *Introduction to Pharmaceutical Biotechnology, Volume 1*. IOP Publishing, pp. 1–61. doi: 10.1088/978-0-7503-1299-8ch1.
- Buchholz, K. and Collins, J. (2014) *Concepts in biotechnology: History, science and business*. John Wiley & Sons.
- Campbell, C. S. (2003) 'Biotechnology and the fear of Frankenstein', *Cambridge Quarterly of Healthcare Ethics*, 12(4), pp. 342–352.
- Collins English Dictionary* (2023) *Collins English Dictionary*. Available at:
www.collinsdictionary.com/dictionary/english/biotechnology (Accessed: 5 December 2023).
- CSIR/NISCAIR (1992) 'Golden Treasury of Science and Technology'. Pub & Informn Directorate.
- Demain, A. L. (2007) 'REVIEWS: The business of biotechnology', *Industrial Biotechnology*, 3(3), pp. 269–283. doi: 10.1089/ind.2007.3.269.
- Demain, A. L. *et al.* (2017) 'History of industrial biotechnology', *Industrial biotechnology: microorganisms*, 1, pp. 1–84.
- Diversity, C. O. B. (1992) 'Convention on biological diversity Handbook 3rd', in, p. 364. Available at: <https://www.cbd.int/doc/handbook/cbd-hb-01-en.pdf>.
- Gibbs, D. and Greenhaign, M. (1983) 'Biotechnology: Chemical feedstocks and energy utilization'.
- Gupta, R. and Rajpal, T. (2012) *Concise notes on biotechnology*. Tata McGraw Hill.

- Koltuniewicz, A. B. (2014) *Sustainable process engineering: prospects and opportunities*. Walter de Gruyter GmbH & Co KG.
- Mathuriya, A. S. (2010) 'General introduction to biotechnology Industrial Biotechnology'. New Delhi: Ane Books Pvt) p.
- Ratledge, C. and Kristiansen, B. (2006) *Basic biotechnology*. Cambridge University Press.
- Verma, A. S. *et al.* (2011) 'Biotechnology in the realm of history', *Journal of pharmacy and bioallied sciences*, 3(3), p. 321.
- Yeung, A. W. K. *et al.* (2019) 'Current research in biotechnology: Exploring the biotech forefront', *Current Research in Biotechnology*, 1, pp. 34–40. doi: <https://doi.org/10.1016/j.crbiot.2019.08.003>.

BAB 2

REPLIKASI, TRANSKRIPSI DAN TRANSLASI GEN, STRUKTUR GEN, KROMOSOM DAN GENOM

apt. Annisa Maulidia Rahayyu, S.Farm., M.S.Farm

A. Pendahuluan

Setiap makhluk di dunia ini, memiliki genom yang mengandung informasi biologis yang berperan dalam kehidupan. Sebagian besar genom, termasuk manusia dan beberapa makhluk hidup lainnya dibentuk dari gen seperti *Deoxyribonucleic acid* (DNA), namun beberapa makhluk hidup lainnya seperti virus memiliki genom dari gen *Ribonucleic acid* (RNA).

DNA dan RNA merupakan molekul polimer yang terbuat dari beberapa rantai subunit monomer yang dikenal dengan istilah nukleotida. Setiap molekul DNA terdiri dari gabungan dua polinukleotida yang membentuk untaian heliks ganda. Untaian heliks ganda ini merupakan nukleotida yang berdekatan dan berikatan secara kimia yang disebut sebagai pasangan basa. Dalam biologi molekuler, proses-proses seperti replikasi, transkripsi, dan translasi berperan penting dalam pembentukan DNA maupun RNA tersebut (Maddox, 2002).

Pembahasan mengenai genom dan prosesnya merupakan ilmu dasar. Oleh karena itu, pada bab ini akan dibahas mengenai replikasi, transkripsi, dan translasi gen serta struktur gen, kromosom, dan genom.

DAFTAR PUSTAKA

- Brown, T. A. (2023). Genomes 5.
- Cremer, T., & Cremer, M. (2010). Chromosome territories. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 2(3), a003889.
- Dresden, D. (1984). Inside the double helix. *The story of Rosalind Franklin (A play)*. Madison, WI: Broom Street Theater.
- javatpoint. (2021). *Chromosome: definition, structure, types, and composition*. Retrieved 06 December from <https://www.javatpoint.com/chromosome>
- Klug, A. (1968). Rosalind Franklin and the discovery of the structure of DNA. *Nature*, 219(5156), 808-810.
- Maddox, B. (2002). *Rosalind Franklin: The dark lady of DNA*. HarperCollins New York.
- Minchin, S., & Lodge, J. (2019). Understanding biochemistry: structure and function of nucleic acids. *Essays in biochemistry*, 63(4), 433-456.
- Mullard, A. (2011). 2010 FDA drug approvals. *Nature reviews Drug discovery*, 10(2), 82.
- Rich, A., & Zhang, S. (2003). Z-DNA: the long road to biological function. *Nature Reviews Genetics*, 4(7), 566-572.
- Ruth, E. B. (1984). Replication, Transcription, and Translation. *The American Biology Teacher*, 470-472.
- Watson, J. (1980). The Double Helix. Reprinted in Stent, GS. In: Norton Critical Edition with text, commentary, reviews & original papers
- Watson, J. D., & Crick, F. H. (1953). Molecular structure of nucleic acids: a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*, 171(4356), 737-738.

BAB 3

RESTRIKSI ENDONUKLEASE

Deniyati, S.Farm., M.Si

A. Pendahuluan

Endonuklease restriksi telah menjadi alat dasar biologi molekuler dengan banyak vendor komersial dan lini produk yang luas. Meskipun banyak hal yang telah dipelajari tentang keragaman enzim restriksi, organisasi genom, dan mekanismenya, hal ini terus menjadi bidang penelitian aktif dan membantu upaya klasifikasi. Baru-baru ini, salah satu fokusnya adalah kekhususannya yang luar biasa untuk rangkaian pengenalan yang tepat dan kurangnya homologi di antara enzim yang mengenali rangkaian DNA yang sama. Beberapa pertanyaan juga masih ada mengenai fungsi *in vivo*. Mutagenesis terarah dan protein fusi berdasarkan endonuklease yang diketahui menjanjikan pembelahan yang dirancang khusus. Pemahaman tentang enzim dan sifat-sifatnya dapat meningkatkan penerapan produktifnya dengan mempertahankan parameter pencernaan yang penting dan meningkatkan atau menghindari aktivitas alternatif (Williams, 2003).

Endonuklease restriksi mengenali rangkaian DNA pendek dan membelah DNA beruntai ganda pada lokasi tertentu di dalam atau di sekitar rangkaian pengenalan. Pembatasan pembelahan DNA endonuklease menjadi fragmen-fragmen terpisah adalah salah satu prosedur paling dasar dalam biologi molekuler (Bloch, 1992). Endonuklease restriksi, yang

DAFTAR PUSTAKA

- Belfort, M. and Roberts, R. J. (1997) Homing endonucleases: keeping the house in order. *Nuc. Acids Res.* 25, 3379–3388.
- Bdp, N. C. I. (2011). Title : *Restriction Endonuclease Enzyme Digestion of Plasmid DNA “ Uncontrolled Copy – For Training And Reference Purposes Only .”*
- Bitinaite, J., Wah, D. A., Aggarwal, A. K., and Schildkraut, I. (1998) FokI dimerization is required for DNA cleavage. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 95, 10570–10575.
- Bloch, K. D. (1992). Digestion of DNA with Restriction Endonucleases . *Current Protocols in Immunology*, 2(1). <https://doi.org/10.1002/0471142735.im1008s02>
- Colandene, J. D. and Topal, M. D. (2000) Evidence for Mutations That Break Communication between the Endo and Topo Domains in NaeI Endonuclease/ Topoisomerase. *Biochemistry* 39, 13703–13707.
- Conrad, M., and Topal, M. (1992) Modified DNA fragments activate NaeI cleavage of refractory DNA sites. *Nuc. Acids Res.* 20, 5127–5130.
- Dibner, D., James, F., Battey, M.D. (1986). *Restriction Endonucleases (REs) and Their Use 5-4. Restriction Endonucleases.*
- Engler, L. E., Sapienza, P., Dorner, L. F., Kucera, R., Schildkraut, I., and Jen-Jacobson, L. (2001) The Energetics of the Interaction of BamHI Endonuclease with its Recognition Site GGATCC. *J. Mol. Biol.* 307, 619–636.
- Galburt, E. A., Chevalier, B., Tang, W., Jurica, M. S., Flick, K. E., Monnat, R. J., and Stoddard, B. L. (1999) A novel endonuclease mechanism directly visualized for I-PpoI. *Nature Struct. Biol.* 6, 1096–1099.
- Horton, N. C. and Perona, J. J. (2000) Crystallographic snapshots along a protein-induced DNA-bending path way. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 97, 5729–5734.

- Huai, Q., Colandene, J. D., Chen, Y., Luo, F., Zhao, Y., Topal, M. D., and Ke, H. (2000) Crystal structure of NaeI—an evolutionary bridge between DNA endo nuclease and topoisomerase. *EMBO J.* 19, 3110–3118.
- Huai, Q., Colandene, J. D., Chen, Y., Luo, F., Zhao, Y., Topal, M. D., and Ke, H. (2000) Crystal structure of NaeI—an evolutionary bridge between DNA endo nuclease and topoisomerase. *EMBO J.* 19, 3110–3118.
- Janulaitis, A., Petrusyte, M., Maneliene, Z., Klimasauskas, S., and Butkus, V. (1992) Purification and properties of the Eco57I restriction endonuclease and methylase — prototypes of a new class (type IV). *Nucl. Acids Res.* 20, 6043–6049.
- Jeltsch, A., and Pingoud, A. (1998) Kinetic Character ization of Linear Diffusion of the Restriction Endonu clease EcoRV on DNA. *Biochemistry* 37, 2160–2169.
- Jo, K. and Topal, M. D. (1998) Step-wise DNA relax ation and decatenation by NaeI-43K. *Nucleic Acids Res.* 26, 2380–2384.
- Kong, H. (1998) Analyzing the Functional Organiza tion of a Novel Restriction Modification System, the BcgI System. *J. Mol. Biol.* 279, 823–832.
- Kong, H. and Smith, C. L. (1998) Does BcgI, a Unique Restriction Endonuclease, Require Two Recognition Sites for Cleavage? *Biol. Chem.* 379, 605–609.
- Kong, H. and Smith, C. L. (1997) Substrate DNA and cofactor regulate the activities of a multi-functional restriction-modification enzyme, Bcg I. *Nucl. Acids Res.* 25, 3687–3692.
- Kovall, R. A. and Matthews, B. W. (1999) Type II restriction endonucleases: structural, functional and evolutionary relationships. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 3, 578–583.
- Kovall, R. A. and Matthews, B. W. (1998) Structural, functional, and evolutionary relationships between λ exonuclease and the type II restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 95, 7893–7897.

- Kubareva, E. A., Thole, H., Karyagina, A. S., Oretskaya, T. S., Pingoud, A., and Pingoud, V. (2000) Identification of a base-specific contact between the restriction endonuclease SsoII and its recognition sequence by photocross-linking. *Nucl. Acids Res.* 28, 1085–1091.
- Lukacs, C. M., Kucera, R., Schildkraut, I., and Aggarwal, A. K. (2000) Understanding the immutability of restriction enzymes: crystal structure of BglIII and its DNA substrate at 1.5 Å resolution. *Nature Struct. Biol.* 7, 134–140.
- Nobbs, T. J., Williams, S. A., Connolly, B. A., and Halford, S. E. (1998) Phosphorothioate Substrates for the SfiI Restriction Endonuclease. *Biol. Chem.* 379, 599–604.
- Oller, A. R., Broek, W. V., Conrad, M., and Topal, M. (1991) Ability of DNA and Spermidine To Affect the Activity of Restriction Endonucleases from Several Bacterial Species. *Biochemistry* 30, 2543–2549.
- Pein, C. D., Reuter, M., Meisel, A., Cech D., and Kruger, D. H. (1991) Activation of restriction endonuclease EcoRII does not depend on the cleavage of stimulator DNA. *Nuc. Acids Res.* 19, 5139–5142.
- Pingoud, A., Jeltsch, A. (2001) Structure and function of type II restriction endonucleases. *Nuc. Acids Res.* 29, 3705–3727.
- Pingoud, A. and Jeltsch, A. (1997) Recognition and cleavage of DNA by type-II restriction endonucleases. *Eur. J. Biochem.* 246, 1–22.
- Reuter, M., Kupper, D., Meisel, A., Schroeder, C., and Kruger, D. H. (1998) Cooperative Binding Properties of Restriction Endonuclease EcoRII with DNA Recognition Sites. *J. Biol. Chem.* 273, 8294–8300.
- Scheuring, E. S., Santagata, S., and Aggarwal, A. K. (2001) FokI Requires Two Specific DNA Sites for Cleavage. *J. Mol. Biol.* 309, 69–78.

- Senesac, J. H. and Allen, J. R. (1995) Oligonucleotide Activation of the Type IIe Restriction Enzyme NaeI for Digestion of Refractory Sites. *BioTechniques* 19, 990-993.
- Wah, D. A., Hirsch, J. A., Dorner, L. F., Schildkraut, I., and Aggarwal, A. K. (1997) Structure of the multimodular endonuclease FokI bound to DNA. *Nature* 388, 97-100.
- Williams, R. J. (2003). Restriction endonucleases. *Gene Amplification and Analysis, 1*, 1-246.
- Williams, R. J. (2001), Restriction Endonucleases and Their Uses, in *The Nucleases* (Schein, C. H., ed.), Humana Press, New York, NY, pp. 409-429.

BAB

4

VEKTOR CLONING

dr. Raudatul Janah, Sp. PA

A. Pendahuluan

Munculnya teknologi DNA rekombinan telah membawa serangkaian perubahan dramatis dalam biologi. Hal ini menawarkan peluang baru bagi inovasi untuk menghasilkan berbagai produk terapeutik. Teknologi DNA rekombinan mengacu pada serangkaian prosedur yang digunakan untuk menghasilkan molekul DNA rekombinan (rDNA). Langkah pertama dalam teknologi DNA rekombinan adalah memilih sepotong DNA untuk dimasukkan ke dalam vektor. Langkah kedua adalah memotong potongan DNA tersebut dengan enzim restriksi dan kemudian mengikat sisipan DNA ke dalam vektor dengan DNA Ligase. Dan langkah ketiga adalah memasukkan kombinasi tersebut ke dalam sel host. Vektor adalah sepotong kecil molekul DNA, yang digunakan sebagai kendaraan untuk membawa materi genetik asing secara artifisial ke dalam sel inang, di mana materi tersebut dapat direplikasi dan/atau diekspresikan. Vektor memiliki tiga fitur utama: asal replikasi, beberapa situs kloning, dan penanda yang dapat dipilih. Vektor kloning dan vektor ekspresi adalah dua jenis vektor yang digunakan dalam teknologi DNA rekombinan (Adane and Adeladlew, 2016).

Guna dapat disebut vektor cloning, fragmen DNA membutuhkan sejumlah karakteristik diantaranya harus berukuran kecil (<10kb), karena dengan molekul yang besar

DAFTAR PUSTAKA

- Adane, M. and Adeladlew, T. (2016) 'Review on Cloning Vector and Expression Vector', *International Journal of Veterinary Sciences and Animal Husbandry*, 1(5), pp. 14–19.
- Azhar, M. (2016) *Biomolekul Sel Karbohidrat, Protein dan Enzim*, *Journal of Chemical Information and Modeling*.
- Karimi, M. *et al.* (2016) 'Bacteriophages and phage-inspired nanocarriers for targeted delivery of therapeutic cargos', *Advanced Drug Delivery Reviews*, 106, pp. 45–62. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.03.003>.
- Kiyat, W. El, Mentari, D. and Santoso, N. (2019) 'Review: Potensi mikroba selulase, xilanase, dan protease dalam fermentasi kopi luwak (*Paradoxurus hermaphroditus*) secara *in vitro*', *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 22(2), pp. 58–66. Available at: <https://doi.org/10.14710/jksa.22.2.58-66>.
- Molekuler, P., Aulia Candra, I. and Dola Syamsu, F. (2020) 'Ifan Aulia Candra & Fetro Dola Syamsu, 2020. Interaksi Tanaman Pasca Geminivirus Berdasarkan Perspektif Molekuler', *Journal Viabel Pertanian*, 14(2), pp. 34–41. Available at: <http://ejournal.unisbablitar.ac.id/index.php/viabel>.
- Mulatsari, E. *et al.* (2023) 'Edukasi Penggunaan Antibiotik secara Tepat sebagai Upaya Melindungi Masyarakat dari Bahaya Resistensi', *Jurnal Pengabdian Masyarakat Indonesia*, 3(3), pp. 413–418. Available at: <https://doi.org/10.52436/1.jpmi.1081>.
- Reflinur, R. and Lestari, P. (2016) 'Penentuan Lokus Gen Dalam Kromosom Tanaman Dengan Bantuan Marka Dna', *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian*, 34(4), p. 177. Available at: <https://doi.org/10.21082/jp3.v34n4.2015.p177-186>.
- Ridwansyah, R., Faizah, S. and Achyani, Y.E. (2021) 'Mengidentifikasi Jenis Virus Menggunakan Sistem Pakar Berbasis Metode Forward Chaining', *Paradigma - Jurnal*

Komputer dan Informatika, 23(1), pp. 49–54. Available at: <https://doi.org/10.31294/p.v23i1.10048>.

Sasongko hadi (2014) 'Uji Resistensi Bakteri Escherichia Colidari Sungai Boyong Kabupaten Sleman terhadap Antibiotik Amoksisilin, Kloramfenikol, Sulfametoxasol, dan Streptomisin', *Jurnal BIOEDUKATIKA*, 2(1), pp. 25–29.

Shoviantari, F. *et al.* (2019) 'Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia Vol. 4 No. 2 Desember 2017 60', *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 6(2), pp. 69–73. Available at: <https://e-journal.unair.ac.id/JFIKI/article/view/12452/7995>.

Sippy, J. and Feiss, M. (2004) 'Initial cos cleavage of bacteriophage λ concatemers requires proheads and gpFI in vivo', *Molecular Microbiology*, 52(2), pp. 501–513. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2004.03990.x>.

Sukertiasih, N.K. *et al.* (2021) 'Studi Retrospektif Gambaran Resistensi Bakteri terhadap Antibiotik', *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 7(2), pp. 108–111. Available at: <https://doi.org/10.36733/medicamento.v7i2.2177>.

Suryandari, N. and Haidarravy, S. (2020) 'Pembuatan Cairan Desinfektan dan Bilik Desinfektan sebagai Upaya Pencegahan Virus Covid 19 di Mlajah Bangkalan Madura', *Jurnal Abdidas*, 1(5), pp. 345–351. Available at: <https://doi.org/10.31004/abdidas.v1i5.70>.

Syafaruddin and Nasution, M. (2012) 'Keragaman 17 Aksesi Plasma Nutfah Kakao Berdasarkan Penanda Morfologi Dan Molekuler Variation of 17 Cocoa Accessions Germplasm Based on', *Buletin RISTRI*, 3(2), pp. 177–184.

SYAFARUDDIN, S. and SANTOSO, T.J. (2020) 'OPTIMASI TEKNIK ISOLASI DAN PURIFIKASI DNA YANG EFISIEN DAN EFEKTIF PADA KEMIRI SUNAN (Reutalis trisperma (Blanco) Airy Shaw)', *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*, 17(1),

p. 11. Available at:
<https://doi.org/10.21082/jlitri.v17n1.2011.11-17>.

Vahanian, N. *et al.* (2017) 'Natural history of a viral cohesive end site: cosN of the λ -like phages', *Virology*, 509(June), pp. 140-145. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.virol.2017.06.016>.

Zhang, G. and Tandon, A. (2012) 'Quantitative assessment on the cloning efficiencies of lentiviral transfer vectors with a unique clone site', *Scientific Reports*, 2, pp. 1-8. Available at: <https://doi.org/10.1038/srep00415>.

BAB 5

TRANSFORMASI PROKARIOT, SKRINING KLON, DAN TEKNIK HIBRIDISASI

apt. Mutiara Imansari, S.Farm., M.Si

A. Transformasi Genetik Prokariot

1. *Transfer DNA ke Escherichia coli*

Transformasi adalah proses pengenalan DNA bebas ke sel bakteri (Glick and Pasternak, 2010). Tujuan transformasi yang digunakan untuk studi biologi molekuler tingkat lanjut adalah diagnostic *in vivo*, terapi gen, dan kebutuhan untuk memperkenalkan material genetik eksogenous ke sel inang lain (overekspresi protein terapeutik dan produk biosimilar) (Brown, 2010; Das et al., 2017). Penerimaan plasmid DNA biasanya terjadi pada fase log mid dengan pemberian kalsium klorida (CaCl_2) dingin beku dan memaparkannya selama 2 menit kemudian suhu tinggi (42°C) (Glick and Pasternak, 2010). Perlakuan yang disebut dengan metode *heat shock* ini akan membuat sel bakteri menjadi **kompeten** (Gambar 5.1) (Brown, 2010; Das et al., 2017). Sel yang kompeten akan terjadi peningkatan permeabilitas dinding sel. Dinding sel akan terbuka sementara kemudian molekul DNA dapat masuk ke dalam sitoplasma (Glick and Pasternak, 2010). Metode ini memiliki frekuensi transformasi maksimal sekitar 1 sel transformasi per 1000 sel (yaitu 10^{-3}).

Efisiensi transformasi terpenuhi apabila sekitar 10^7 sampai 10^8 koloni yang tertransformasi per mikrogram plasmid DNA utuh. Walaupun frekuensi transformasi 100% ideal, terkadang pemilihan skema sel tertransformasi

DAFTAR PUSTAKA

- Brown, T.A., 2010. *Gene Cloning and DNA Analysis*. New Jersey: Wiley-Blackwell.
- Das, M., Raythata, H., Chatterjee, S., 2017. *Bacterial transformation: What? Why? How? and When?* **Annu Res Rev Biol.** 16 (6): 1 - 11.
- Glick, B.R., Pasternak, J.J., Patten, C. L., 2010. *Fourth Edition Molecular Biotechnology Principles and Applications of Recombinant DNA*. Washington DC: ASM Press.
- Glick, B.R., Patten, C.L., 2022. *Sixth Edition Molecular Biotechnology Principles and Applications of Recombinant DNA*. Washington DC: ASM Press.

BAB

6

SINTESIS DNA

Yulia Ratna Dewi, S.Tr.A.K., M.Biomed

A. Pengantar Sintesis DNA

Dahulu kala, para peneliti membuka tirai misteri materi genetik yang tersembunyi di dalam struktur kompleks yang disebut kromosom, terbenam dalam inti sel atau nukleus. Pada tahun 1927, langkah signifikan diambil oleh Griffith dan Avery, yang mengungkapkan bahwa bakteri dapat mengekspresikan sifat-sifat yang berbeda, meski belum sepenuhnya memahami penyebabnya. Penelitian lebih lanjut oleh trio peneliti Avery, MacLeod, dan McCarthy pada tahun 1944 membawa terang bahwa perbedaan sifat ini berkaitan erat dengan struktur mirip tangga, terdiri dari dua pita berlawanan arah, yang kita kenal sebagai DNA (Ratna Pertiwi, 2015).

Tahun 1953 menjadi tonggak sejarah genetika saat James Watson dan Francis Crick berhasil mengungkap struktur molekuler DNA. Model heliks ganda ini tidak hanya menjadi panduan cetak biru bagi kehidupan sel, tetapi juga memberikan jawaban atas cara informasi genetik dapat disalin dan diperbanyak selama pembelahan sel. Dari sini, muncul pemahaman bahwa sifat dan ciri fisik kita berasal dari pewarisan genetik orang tua, dan akan dilanjutkan ke keturunan berikutnya (Ratna Pertiwi, 2015).

Asam nukleat, sebagai molekul biologis esensial, menjadi fokus utama dalam penyimpanan, replikasi, dan transkripsi informasi genetik. Salah satu bentuknya, Asam

DAFTAR PUSTAKA

- Corvianindya, Y. R. and Auerkari, E. I. (2001) 'Studi Molekuler pada Instabilitas Genetik: Mekanisme Kerusakan DNA dan Proses Perbaikannya', *Journal of Dentistry Indonesia*, 8(3), pp. 44–50. doi: 10.14693/jdi.v8i3.936.
- Ford, S. A. J. M. (2023) 'p53 and regulation of DNA damage recognition during nucleotide excision repair', *DNA Repair (Amst)*, 2(9), pp. 947–54. doi: 10.1016/s1568-7864(03)00087-9. PMID: 12967652.
- Ghannam MG, V. M. (2022) 'Biochemistry, Polymerase Chain Reaction.', In: *StatPearls [Internet] Treasure Island (FL): StatPearls Publishing;*
- Guanabara, E. et al. (2022) *Marks Basic Medical Biochemistry A Clinical Approach, 6th Ed, Lieberman-Peet.*
- Kadri, K. (2019) 'Polymerase Chain Reaction (PCR): Principle and Applications. Synthetic Biology – New in Terdisciplinary Science', *IntechOpen*, 19(5), pp. 138–142. Available at: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.86491>
- Kayama, K. et al. (2021) 'Prediction of PCR amplification from primer and template sequences using recurrent neural network', *Scientific Reports*, 11(1), pp. 1–24. doi: 10.1038/s41598-021-86357-1.
- M B Kastan , O Onyekwere, D Sidransky, B Vogelstein, R. W. C. (2010) 'Participation of p53 protein in the cellular response to DNA damage', *Cancer Res*, (123), pp. 6304–11.
- Minchin, S. and Lodge, J. (2019) 'Understanding biochemistry: Structure and function of nucleic acids', *Essays in Biochemistry*, 63(4), pp. 433–456. doi: 10.1042/EBC20180038.
- Norrissa, V. (2019) 'Does the semiconservative nature of DNA replication facilitate coherent phenotypic diversity?', *Journal of Bacteriology*, 201(12), pp. 1–7. doi: 10.1128/JB.00119-19.

O'Donnell, M., Langston, L. and Stillman, B. (2013) 'Principles and concepts of DNA replication in bacteria, archaea, and eukarya', *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 5(7), pp. 1-13. doi: 10.1101/cshperspect.a010108.

Ratna Pertiwi, K. (2015) 'Penerapan Teknologi DNA dalam Identifikasi Forensik', *Jurnal Ilmiah WUNY*, 16(4). doi: 10.21831/jwuny.v16i4.3518.

BAB 7

TEKNOLOGI SEKUENSING DNA

Dr. R. Agus Wibowo S., S.Si., M.Sc

A. Sejarah Pengurutan DNA

Perkembangan ilmu biologi molekuler terutama DNA berkembang sangat pesat di akhir dekade ini. Catatan terbesar dalam sejarah perkembangan biologi molekuler adalah selesainya proyek pemetaan genom manusia (*Human Genome Project*) yang dimulai di tahun 1990 dan selesai di tahun 2003. Sejarah perkembangan ilmu terkait DNA diawali dengan ditemukannya struktur heliks ganda DNA pada tahun 1953 oleh James Watson dan Francis Crick. Watson dan Crick menerima hadiah Nobel pada tahun 1962 atas kontribusi mereka yang luar biasa terhadap ilmu pengetahuan, diikuti oleh Robert Holley pada tahun 1968 karena menjadi orang pertama yang mengurutkan molekul RNA. Setelah Watson-Crick menemukan struktur heliks ganda DNA, tahun berikutnya Rosalind Franklin seorang ahli kristalografi sinar-X asal Inggris memberikan kontribusi besar dan berperan penting dalam pemahaman struktur molekul DNA. Kombinasi dari penemuan-penemuan ilmuwan ini membuka jalan bagi pengurutan DNA (<https://frontlinegenomics.com/a-brief-history-of-next-generation-sequencing-ngs/>; Heather and Chain, 2016).

Pengurutan DNA mengacu pada teknik laboratorium untuk menentukan urutan nukleotida, atau basa, dalam molekul DNA. DNA adalah cetak biru kehidupan yang terdiri dari bahan penyusun kimia yang disebut nukleotida. DNA terdiri dari tiga

DAFTAR PUSTAKA

- Athanasopoulou, K. *et al.* (2022) 'Third-generation sequencing: The spearhead towards the radical transformation of modern genomics', *Life*, 12(1). doi: 10.3390/life12010030.
- Balzer, S. *et al.* (2011) 'Characteristics of 454 pyrosequencing data-enabling realistic simulation with flowsim', *Bioinformatics*, 27(13), pp. i420–i425. doi: 10.1093/bioinformatics/btq365.
- Eren, K., Taktakoğlu, N. and Pirim, I. (2022) 'DNA Sequencing Methods: From Past to Present', *Eurasian Journal of Medicine*, 54(February), pp. S47–S56. doi: 10.5152/eurasianjmed.2022.22280.
- Escalante, A. E. *et al.* (2014) 'The study of biodiversity in the era of massive sequencing', *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85(4), pp. 1249–1264. doi: 10.7550/rmb.43498.
- Feng, Y. *et al.* (2015) 'Nanopore-based fourth-generation DNA sequencing technology', *Genomics, Proteomics and Bioinformatics*. The Authors, 13(1), pp. 4–16. doi: 10.1016/j.gpb.2015.01.009.
- França, L. T. C., Carrilho, E. and Kist, T. B. L. (2002) 'A review of DNA sequencing techniques', *Quarterly Reviews of Biophysics*, 35(2), pp. 169–200. doi: 10.1017/S0033583502003797.
- Hardin SH (2001) 'DNA sequencing', *Encycl Life Sci*, 291, pp. 1304–1351.
- Heather, J. M. and Chain, B. (2016) 'The sequence of sequencers: The history of sequencing DNA', *Genomics*. Elsevier B.V., 107(1), pp. 1–8. doi: 10.1016/j.ygeno.2015.11.003.
- <https://frontlinegenomics.com/dna-sequencing-how-to-choose-the-right-technology/> (no date) *DNA Sequencing: How to Choose the Right Technology*.
- <https://www.pacb.com/blog/the-evolution-of-dna-sequencing-tools> (no date) 'Sequencing 101: the evolution of DNA sequencing tools'.

- Liu, L. *et al.* (2012) 'Comparison of next-generation sequencing systems', *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012. doi: 10.1155/2012/251364.
- Maxam, A. M. and Gilbert, W. (1992) 'A new method for sequencing DNA. 1977.', *Biotechnology (Reading, Mass.)*, 24(2), pp. 99–103.
- McPherson, J. D. (2014) 'A defining decade in DNA sequencing', *Nature Methods*. Nature Publishing Group, 11(10), pp. 1003–1005. doi: 10.1038/nmeth.3106.
- Mohammadi, M. M. and Bavi, O. (2022) 'DNA sequencing: an overview of solid-state and biological nanopore-based methods', *Biophysical Reviews*. Springer Berlin Heidelberg, 14(1), pp. 99–110. doi: 10.1007/s12551-021-00857-y.
- Nyrén, P. (2015) 'The history of Pyrosequencing®', in *Methods in Molecular Biology*, pp. 3–15. doi: 10.1007/978-1-4939-2715-9_1.
- Rhoads, A. and Au, K. F. (2015) 'PacBio Sequencing and Its Applications', *Genomics, Proteomics and Bioinformatics*. Beijing Institute of Genomics, Chinese Academy of Sciences and Genetics Society of China, 13(5), pp. 278–289. doi: 10.1016/j.gpb.2015.08.002.
- Rubin, C. M. and Schmid, C. W. (1980) 'Pyrimidine-specific chemical reactions useful for DNA sequencing', *Nucleic Acids Research*, 8(20), pp. 4613–4620. doi: 10.1093/nar/8.20.4613.
- Salmaninejad, A. *et al.* (2019) 'Next-generation sequencing and its application in diagnosis of retinitis pigmentosa', *Ophthalmic Genetics*. Taylor & Francis, 40(5), pp. 393–402. doi: 10.1080/13816810.2019.1675178.
- Satam, H. *et al.* (2023) 'Next-Generation Sequencing Technology: Current Trends and Advancements', *Biology*, 12(7), pp. 1–25. doi: 10.3390/biology12070997.
- Satpal Singh Bisht ; Amrita Kumari Panda (2013) 'DNA Sequencing: Methods and Applications', in *Advances in Biotechnology*, pp. 1–259. doi: 10.1007/978-81-322-1554-7.

Shendure, J. *et al.* (2017) 'DNA sequencing at 40: Past, present and future', *Nature*. Nature Publishing Group, 550(7676). doi: 10.1038/nature24286.

Sridevi, P. (2023) 'Biotechnology - Gene , Genomics and Genetics'. Dept. of Biotechnology Faculty of Science Indira Gandhi National Tribal University Amarkantak, MP, India.

BAB 8

MANIPULASI EKSPRESI GEN

Dr. Dessy Arisanty, M.Sc

A. Pendahuluan

Setiap sel manusia memiliki antara 30.000 dan 100.000 gen, yang merupakan blueprint untuk semua kemungkinan struktur dan fungsi sel tersebut. Dalam sel tertentu, hanya beberapa dari gen-gen ini, mungkin 20.000, diekspresikan sebagai mRNA, tergantung pada jenis jaringan, sel, dan kondisi lingkungan. Lebih lanjut, ekspresi dari beberapa persen gen dimodifikasi dalam sel abnormal sebagai penyakit, contohnya pada kanker. Dengan demikian, profil ekspresi memberikan informasi mendasar mengenai dasar molekuler suatu sel mulai dari proses normal seperti diferensiasi hingga pathogenesis suatu penyakit (Appasani, 2003).

Keberadaan suatu sel, sifatnya, kerjanya bukan karena hanya gen yang mereka miliki, tetapi karena gen yang diekspresikannya, yaitu gen mana yang aktif dan mana yang tidak aktif. Apa yang membuat sel berbeda dan bagaimana mereka berubah dari satu jenis ke jenis lain selama perkembangan bergantung pada mekanisme yang diekspresikannya.

Kita telah menemukan bahwa gen dalam sel mamalia ditranskripsi menjadi pembawa pesan RNA, atau mRNA, yang kemudian diterjemahkan menjadi polipeptida. Ini adalah "Dogma Sentral". Perkembangan, diferensiasi, dan proliferasi sel diatur oleh ekspresi gen yang tepat. Gangguan atau

DAFTAR PUSTAKA

- Appasani, K. 2003. Perspective in Gene Expression. ISBN 1881299163. Biotechnology Press. Eaton Publishing. <https://archive.org/details/perspectivesinge0000unse/page/n2/mode/1up?view=theater>
- Asadi, S., amali J., Mohammadzadeh, H. , Tohidirad, M., dan Fatahi, M .2018. Target Zinc Finger Nucleases in Genome Engineering. Chronicle Journal of Allergy and Immunology. 1[1]: 001.
- Chuan Tsai, H., Pietrobon, V , Pen, M., Wang, S., Zhao, L., Marincola, F.M., dan Cai, Q . 2022. Current strategies employed in the manipulation of gene expression for clinical purposes. Journal of Translational Medicine. (2022) 20:535. <https://doi.org/10.1186/s12967-022-03747-3>
- Feschotte C, Pritham EJ (2007). DNA transposons and the evolution of eukaryotic genomes. *Annual Review of Genetics*. **41**: 331–68. [doi:10.1146/annurev.genet.40.110405.090448](https://doi.org/10.1146/annurev.genet.40.110405.090448). [PMC 2167627](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18076328/). [PMID 18076328](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18076328/).
- Kapitonov, Vladimir V.; Jurka, Jerzy. 2006. "[Self-synthesizing DNA transposons in eukaryotes](#)". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **103** (12): 4540–4545. [Bibcode: 2006PNAS..103.4540K](#). [doi:10.1073/pnas.0600833103](https://doi.org/10.1073/pnas.0600833103). [ISSN 0027-8424](#). [PMC 1450207](#). [PMID 16537396](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16537396/)
- Krupovic, M. dan Koonin, E.V. 2016. Self-synthesizing transposons: unexpected key players in the evolution of viruses and defense systems. *Current Opinion in Microbiology*. **31**: 25–33. [doi:10.1016/j.mib.2016.01.006](https://doi.org/10.1016/j.mib.2016.01.006). [PMC 4899294](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26836982/). [PMID 26836982](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26836982/).
- [Lam, J, K, W.](#), [Chow, M, Y, T.](#), [Zhang, Y.](#), [Leung, S, W, S.](#) 2015. siRNA Versus miRNA as Therapeutics for Gene Silencing. *Molecular Therapy – Nucleic Acids*. [volume 4](#), e252, 2015. DOI:<https://doi.org/10.1038/mtna.2015.23>

- Muñoz-López, M dan García-Pérez, J.L. 2010. DNA Transposons: Nature and Applications in Genomics. *Current Genomics*. Vol 11 (2). doi: [10.2174/138920210790886871](https://doi.org/10.2174/138920210790886871). PMC2874221
- Negi , S., Imanishi , M., Hamori , M., Kawahara Nakagawa, Y., Nomura, W., Kishi, K., Shibata, N., Sugiura, Y. 2023. The past, present, and future of artificial zinc finger proteins: design strategies and chemical and biological applications. *Journal of Biological Inorganic Chemistry JBIC* 28:249-261. <https://doi.org/10.1007/s00775-023-01991-6>
- Otieno MO. 2015. CRISPR-Cas9 Human Genome Editing: Challenges, Ethical Concerns and Implications. *Journal Clinical Resist Bioethic*. 2015;6:253.
- Raikwar, S.P., Raikwar, A.S., Chaurasia, S.S., Mohan, R.R. 2016. Gene editing for corneal disease management. *World Journal of Translational Medicine*. ISSN 2220-6132 (12; 5(1): DOI: 10.5528/wjtm.v5.i1.00
- Satoh, D., Abe, S., Kobayashi, K., Nakajima, Y., Oshimura, M., Kazuki, Y. 2018. [Human and Mouse Artificial Chromosome Technologies for Studies of Pharmacokinetics and Toxicokinetics](http://www.journals.elsevier.com/drug-metabolism-and-pharmacokinetics). *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*. 33 (2018) 17-30. <http://www.journals.elsevier.com/drug-metabolism-and-pharmacokinetics>
- Sigma report. 2023. <https://www.sigmaldrich.com/ID/en/technical-documents/technical-article/genomics/gene-expression-and-silencing/shrna-process-and-shrna-diagram>. © 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany
- Thomas, J dan Pritham, E.J. 2015. [Helitrons, the Eukaryotic Rolling-circle Transposable Elements](https://doi.org/10.1128/microbiolspec.MDNA3-0049-2014)". *Microbiology Spectrum*. 3 (4): 893-926. doi:10.1128/microbiolspec.MDNA3-0049-2014. ISBN 9781555819200. PMID 26350323.
- Thomas, J., Phillips, C.D., Baker, R.J. dan Pritham, E.J. 2014. [Rolling-Circle Transposons Catalyze Genomic Innovation in](https://doi.org/10.1128/microbiolspec.MDNA3-0049-2014)

[a Mammalian Lineage". *Genome Biology and Evolution*. 6 \(10\): 2595–2610. doi:10.1093/gbe/evu204. PMC 4224331. PMID 25223768](#)

Turner, BM. 2001. Chromatin an Gene Regulation: Mechanisms in Epigenetics. Book chapter. ISBN 0-865-42743-7. Blackwell Science. www.blackwell-science.com

Zhang HX, Zhang Y, Yin H. Genome editing with mRNA encoding ZFN, TALEN, and Cas9. *Mol Ther J Am Soc Gene Ther*. 2019;27(4):735–46.

Zhang, H., , Qin, C., An,C., Zheng, X., Wen, S., Chen, W., et al. , 2021. Application of the CRISPR/Cas9-based gene editing technique in basic research, diagnosis, and therapy of cancer. *Mol Cancer* 20:126 . <https://doi.org/10.1186/s12943-021-01431-6>

BAB 9

PRODUKSI PROTEIN REKOMBINAN PADA SEL EUKARIOTIK

apt. Maulidwina Bethasari, M.S.Farm

A. Pendahuluan

Pada tahun 1970-an, Teknologi DNA rekombinan ditemukan di laboratorium biologi molekuler. Sel bakteri umumnya dianggap sebagai sel inang universal untuk ekspresi protein rekombinan. Namun, karena ketidakmampuan mereka untuk memproses protein kompleks dengan memadai dan kemampuan sekresi protein yang tidak mencukupi, sistem ekspresi prokariotik saat ini umumnya digunakan untuk produksi protein dan peptida yang tidak kompleks. Untuk menghasilkan protein rekombinan manusia yang kompleks, sistem ekspresi eukariotik dikembangkan dalam beberapa dekade terakhir (Geisse et al., 1996; Gutierrez and Lewis, 2015; Müller et al., 2006).

Sistem ekspresi eukariotik mendominasi industri protein terapeutik, dan memberikan kontribusi yang signifikan terhadap penjualan tahunan sekitar 140 miliar USD. Protein rekombinan yang diekspresikan di sitoplasma bakteri seringkali tidak larut dan tidak aktif dan Protein yang larut dan bioaktif seringkali dapat diperoleh dari sel-sel eukariotik. Selain itu, sel-sel eukariotik memiliki kapasitas untuk melakukan modifikasi pasca translasi seperti glikosilasi, fosforilasi pada residu tirosin, serin, dan treonin, atau penambahan rantai asam lemak terakhir (Geisse et al., 1996; Gutierrez and Lewis, 2015; Müller et al., 2006).

DAFTAR PUSTAKA

- Amen, T., Kaganovich, D., 2017. Integrative modules for efficient genome engineering in yeast. *Microb Cell* 4, 182-190. <https://doi.org/10.15698/mic2017.06.576>
- Betenbaugh, M., Arden, N., Nivitchanyong, T., 2004. Cell Engineering Blocks Cell Stress and Improves Biotherapeutic Production. *BioProcessing Journal* 3(2), 23-28.
- Brondyk, W.H., 2009. Chapter 11 Selecting an Appropriate Method for Expressing a Recombinant Protein, in: Burgess, R.R., Deutscher, M.P. (Eds.), *Methods in Enzymology, Guide to Protein Purification*, 2nd Edition. Academic Press, pp. 131-147. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(09\)63011-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(09)63011-1)
- Cereghino, G.P.L., Cereghino, J.L., Ilgen, C., Cregg, J.M., 2002. Production of recombinant proteins in fermenter cultures of the yeast *Pichia pastoris*. *Current Opinion in Biotechnology* 13, 329-332. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(02\)00330-0](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(02)00330-0)
- Deer, J.R., Allison, D.S., 2004. High-Level Expression of Proteins in Mammalian Cells Using Transcription Regulatory Sequences from the Chinese Hamster EF-1 α Gene. *Biotechnology Progress* 20, 880-889. <https://doi.org/10.1021/bp034383r>
- Finn, G.K., Kurz, B.W., Cheng, R.Z., Shmookler Reis, R.J., 1989. Homologous plasmid recombination is elevated in immortalized transformed cells. *Mol Cell Biol* 9, 4009-4017.
- Geisse, S., Gram, H., Kleuser, B., Kocher, H.P., 1996. Eukaryotic expression systems: a comparison. *Protein Expr Purif* 8, 271-282. <https://doi.org/10.1006/prep.1996.0101>
- Gutierrez, J.M., Lewis, N.E., 2015. Optimizing eukaryotic cell hosts for protein production through systems biotechnology and genome-scale modeling. *Biotechnology Journal* 10, 939-949. <https://doi.org/10.1002/biot.201400647>
- Karbalaei, M., Rezaee, S.A., Farsiani, H., 2020. *Pichia pastoris*: A highly successful expression system for optimal synthesis of

- heterologous proteins. *J Cell Physiol* 235, 5867–5881.
<https://doi.org/10.1002/jcp.29583>
- Khan, K.H., 2013. Gene Expression in Mammalian Cells and its Applications. *Adv Pharm Bull* 3, 257–263.
<https://doi.org/10.5681/apb.2013.042>
- Le Hir, H., Nott, A., Moore, M.J., 2003. How introns influence and enhance eukaryotic gene expression. *Trends in Biochemical Sciences* 28, 215–220. [https://doi.org/10.1016/S0968-0004\(03\)00052-5](https://doi.org/10.1016/S0968-0004(03)00052-5)
- Liu, Z., Liang, Y., Ang, E.L., Zhao, H., 2017. A New Era of Genome Integration—Simply Cut and Paste! *ACS Synth. Biol.* 6, 601–609. <https://doi.org/10.1021/acssynbio.6b00331>
- Makrides, S.C., 2003. Vectors for gene expression in mammalian cells. *New Comprehensive Biochemistry* 38, 9–26.
[https://doi.org/10.1016/S0167-7306\(03\)38002-0](https://doi.org/10.1016/S0167-7306(03)38002-0)
- Makrides, S.C., 1999. Components of Vectors for Gene Transfer and Expression in Mammalian Cells. *Protein Expression and Purification* 17, 183–202.
<https://doi.org/10.1006/prep.1999.1137>
- Matasci, M., Hacker, D.L., Baldi, L., Wurm, F.M., 2008. Recombinant therapeutic protein production in cultivated mammalian cells: current status and future prospects. *Drug Discovery Today: Technologies, Protein therapeutics* 5, e37–e42.
<https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2008.12.003>
- Müller, D., Bayer, K., Mattanovich, D., 2006. Potentials and limitations of prokaryotic and eukaryotic expression systems for recombinant protein production – a comparative view. *Microbial Cell Factories* 5, P61.
<https://doi.org/10.1186/1475-2859-5-S1-P61>
- Ng, R., 2008. *Drugs: From Discovery to Approval*, 2nd Edition.
- Pallavicini, M.G., DeTeresa, P.S., Rosette, C., Gray, J.W., Wurm, F.M., 1990. Effects of methotrexate on transfected DNA stability in mammalian cells. *Mol Cell Biol* 10, 401–404.

- Pronk, J.T., 2002. Auxotrophic Yeast Strains in Fundamental and Applied Research. *Appl Environ Microbiol* 68, 2095–2100. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.5.2095-2100.2002>
- Ringold, G., Dieckmann, B., Lee, F., 1981. Co-expression and amplification of dihydrofolate reductase cDNA and the *Escherichia coli* XGPRT gene in Chinese hamster ovary cells. *Journal of molecular and applied genetics*.
- Safder, I., Khan, S., Islam, I., Kazim, M., Bibi, Z., Waqas, M., n.d. *Pichia pastoris* expression system: a potential candidate to express protein in industrial and biopharmaceutical domains. *Biomedical Letters*.
- Stewart, G.G., 2015. 2 - Yeast quality assessment, management and culture maintenance¹, in: Hill, A.E. (Ed.), *Brewing Microbiology*, Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. Woodhead Publishing, Oxford, pp. 11–29. <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-331-7.00002-2>
- Vieira Gomes, A.M., Souza Carmo, T., Silva Carvalho, L., Mendonça Bahia, F., Parachin, N.S., 2018. Comparison of Yeasts as Hosts for Recombinant Protein Production. *Microorganisms* 6, 38. <https://doi.org/10.3390/microorganisms6020038>

BAB

10

MUTASI TERARAH

apt. Zulhaerana Bahar, M.Si

A. Pendahuluan

Mutasi terarah atau *site directed mutagenesis* (SDM) adalah metode biologi molekuler yang bertujuan untuk mengubah urutan DNA pada posisi tertentu yang spesifik dan menganalisis struktur-fungsi molekul DNA, RNA, protein. SDM dapat digunakan dalam pengembangan produk dan rekayasa protein, serta untuk mengubah selektivitas substrat enzim.

Konsep dasar dari metode ini adalah mutagenesis yang terjadi secara random dan spontan di alam. Mutagenesis adalah peristiwa mutasi atau perubahan materi genetik suatu organisme yang diinisiasi oleh mutagen seperti radiasi, senyawa kimia, virus, atau kesalahan pada proses metabolisme sel.

B. Mekanisme Mutasi Terarah

Mutasi terarah dilakukan secara *in vitro* yang umumnya dikombinasikan dengan teknologi rekombinan DNA untuk memodifikasi gen atau bagian tertentu dari gen. Rekayasa protein melibatkan perubahan urutan basa DNA dan perubahan kodon pada gen yang mengkode asam amino tersebut. Perbaikan yang diinginkan dapat berupa peningkatan stabilitas terhadap suhu, perubahan rentang pH dan substrat, maupun reduksi pada inhibisi umpan balik negatif.

DAFTAR PUSTAKA

- Forum Peneliti Muda Indonesia. (2018). *Metode Site-Directed Mutagenesis dalam Pengembangan Biologi Molekuler dan Bioteknologi*.
<https://www.researchgate.net/publication/329505376>
- Singh Sandhu, S., al, et, Sareen Pathak, S., & Rajak, R. (2017). MUTATION STUDIES ON FUNGAL GLUCOAMYLASE: A REVIEW. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 5(2), 297-308.
www.ijpbs.com or www.ijpbsonline.com
- Wang, L., Ding, M. Y., Wang, J., Gao, J. G., Liu, R. M., & Li, H. T. (2022). Effects of Site-Directed Mutagenesis of Cysteine on the Structure of Sip Proteins. *Frontiers in Microbiology*, 13.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.805325>.
- Yang, Z., Chen, Z., & Zhang, Y. (2022). A simple and economical site-directed mutagenesis method for large plasmids by direct transformation of two overlapping PCR fragments. *BioTechniques*, 73(5), 239-245. <https://doi.org/10.2144/btn-2022-0085>.
- <https://my.clevelandclinic.org/health/body/23095-genetic-mutations-in-humans>. Diakses pada 10 Desember 2023 pukul 21.00.
- <https://www.neb.com/en/products/e0554-q5-site-directed-mutagenesis-kit#Product%20Information>. Diakses pada 10 Desember 2023 pukul 17.00.
- <https://sg.idtdna.com/pages/education/decoded/article/methods-for-site-directed-mutagenesis>. Diakses pada 10 Desember 2023 pukul 20.00.

BAB

11

REKAYASA PROTEIN

Dr. Melinda Remelia, S.Si., M. Biomed

A. Pendahuluan

Rekayasa protein adalah teknik memanipulasi atau memodifikasi protein dengan tujuan untuk meningkatkan aktivitas enzim atau mendesain protein dengan fungsi tertentu. Teknik rekayasa protein ini melibatkan manipulasi genetik atau modifikasi kimia pada materi genetik agar mensintesis protein dengan sifat yang diinginkan. Rekayasa protein memiliki aplikasi yang luas dalam berbagai bidang, seperti kedokteran, pertanian, industri, dan lingkungan. (Aiping Zheng, Sophie C. Frizzell, 2020)

Contoh aplikasi pemanfaatan teknik rekayasa protein yaitu produksi enzim protease rekombinan yang dihasilkan pada khamir *Saccharomyces cerevisiae*. Secara alami, protease merupakan enzim yang disekresikan oleh lambung, pankreas, dan usus halus. Enzim protease ini berfungsi untuk memecah protein menjadi asam amino di dalam saluran cerna. Dengan teknik rekayasa protein enzim protease menjadi alternatif yang lebih mudah, lebih baik dan lebih efisien dibandingkan dengan teknik produksi enzim konvensional, contohnya dengan ekstraksi secara langsung dari tanaman seperti papain yang berasal dari pepaya atau jasad lain. Enzim rekombinan diharapkan juga berpotensi untuk pengembangan industri dan kesehatan. (Prastujati *et al.*, 2022)

DAFTAR PUSTAKA

- Aiping Zheng, Sophie C. Frizzell, S.M.K.& P.H.T. (2020) 'Protein Structure & Folding', *Basic Epithelial Ion Transport Principles and Function*, 1, p. pp 159–206.
- Bansal, S. and Kundu, B. (2022) 'Protein engineering: Methods and applications', *Advances in Protein Molecular and Structural Biology Methods*, pp. 641–668.
- Chizuko Yamamuro, Jian-Kang Zhu, Z.Y. (2017) 'Protein engineering for improving and diversifying natural products biosynthesis', *Physiology & behavior*, 176(12), pp. 139–148.
- Hsieh, C. and Mclellan, J.S. (2020) 'Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID- 19 . The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect , the company ' s public news and information ' , (January).
- Ismaya, W.T. *et al.* (2013) 'Chemical modification of saccharomycopsis fibuligera r64 α -amylase to improve its stability against thermal, chelator, and proteolytic inactivation', *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 170(1), pp. 44–57.
- Kouba, P. *et al.* (2023) 'Machine Learning-Guided Protein Engineering', *ACS Catalysis*, 13(21), pp. 13863–13895.
- Prastujati, A.U. *et al.* (2022) 'Optimization of Single Cell Protein (SCP) Production using Saccharomyces Cerevisiae by Response Surface Methodology (RSM) on Cell Biomass and Protein Percentage', *Proceedings of the International Conference on Improving Tropical Animal Production for Food Security (ITAPS 2021)*, 20(Itaps 2021), pp. 483–489.
- Ranjani, V. *et al.* (2014) 'Protein engineering of selected residues from conserved sequence regions of a novel Anoxybacillus α -amylase', *Scientific Reports*, 4, pp. 1–8.

BAB 12

APLIKASI BIOTEKNOLOGI MIKROBA

Paula Mariana Kustiawan, M.Sc., Ph.D

A. Prinsip Dasar Bioteknologi Mikroba

Penggunaan mikroorganisme pada skala industri memiliki sejarah yang cukup panjang. Bahkan terdapat implementasi atau aplikasi pemanfaatan mikroba jauh sebelum Masehi. Pembuatan produk fermentasi menjadi cikal bakal pemanfaatan mikroba di awal peradaban, seperti roti, keju dan bir.

Mikroba atau mikroorganisme adalah bentuk kehidupan yang berukuran sangat kecil dan hanya bisa dilihat menggunakan bantuan mikroskop dengan jumlah maupun total biomassa yang cukup besar. Mikroba dapat berevolusi dengan spektrum keanekaragaman, fungsional, dan metabolik yang dapat melebihi spektrum organisme lain dalam kehidupan. Mikroba memiliki keunggulan dalam kemampuannya untuk beradaptasi dengan lingkungan yang ekstrim dan dapat menjadi salah satu indikator lingkungan.

Keberadaan mikroba hampir di seluruh biosfer dan keragaman aktivitasnya menjadikan mikroba sebagai agen penting dalam ekosistem. Mikroba dapat memediasi dan mengatur siklus biogeokimia serta daur ulang bahan dan limbah biologis, merupakan produsen utama dan penyerap gas rumah kaca, sehingga juga berperan dalam penentuan iklim. Mikroba juga terlibat dalam perubahan struktur dan kesuburan tanah,

DAFTAR PUSTAKA

- Ali N, Hameed A, Ahmed S (2009) Physicochemical characterization and bioremediation perspective of textile effluent, dyes and metals by indigenous bacteria. *J Hazard Mater* 164:322–328
- Ahluwalia, S.S., Goyal, D. (2007) Microbial and plant derived biomass for removal of heavy metals from wastewater. *Bioresour Technol* 98:2243–2257
- Batista, B. D., & Singh, B. K. (2021). Realities and hopes in the application of microbial tools in agriculture. *Microbial Biotechnology*, 14(4), 1258-1268.
- Brierley, C. L. (2008). How will biomining be applied in future?. *Transactions of nonferrous metals society of China*, 18(6), 1302-1310.
- Jerez, C.A. (2011). Bioleaching and biomining for industrial recovery of metals. M.Y. Murray (Ed.), *Comprehensive Biotechnology: Industrial Biotechnology and Commodity Products*, Elsevier B.V., Spain, pp. 717-728
- Karnwal, A., Shrivastava, S., Al-Tawaha, A. R. M. S., Kumar, G., Singh, R., Kumar, A., ... & Malik, T. (2023). Microbial Biosurfactant as an Alternate to Chemical Surfactants for Application in Cosmetics Industries in Personal and Skin Care Products: A Critical Review. *BioMed Research International*, 2023.
- Mohapatra, R. K., Behera, S. S., Patra, J. K., Thatoi, H., & Parhi, P. K. (2020). Potential application of bacterial biofilm for bioremediation of toxic heavy metals and dye-contaminated environments. In *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering: Microbial biofilms* (pp. 267-281). Elsevier.
- Rainha, J., Rodrigues, J.L., Rodrigues, L.R. (2021) CRISPR-Cas9: A Powerful Tool to Efficiently Engineer *Saccharomyces cerevisiae*. *Life*.11(1):13. <https://doi.org/10.3390/life11010013>.

- Theron, L.W., Divol, B. (2014). Microbial aspartic proteases: current and potential applications in industry. *Appl Microbiol Biotechnol* 98, 8853–8868. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-6035-6>
- Uthayakumar H, Radhakrishnan P, Shanmugam K, Kushwaha OS (2022) Growth of MWCNTs from Azadirachta indica oil for optimization of chromium (VI) removal efficiency using machine learning approach. *Environ Sci Pollut Res* 29(23):1–20
- Watling, H. (2016) Microbiological Advances in Biohydrometallurgy. *Minerals*, 6(2), p. 49. doi: 10.3390/min6020049.

BAB 13

APLIKASI BIOTEKNOLOGI TANAMAN DAN HEWAN

apt. Reny Syahrani, S.Farm., M.Sc

A. Pendahuluan

Produk dari sumber bahan alam telah digunakan selama berabad-abad. Pengolahan hasil alam untuk mendapatkan manfaat yang signifikan telah menjadi prioritas di setiap era ilmu pengetahuan. Bioteknologi merupakan teknologi maju yang terlibat dalam pengembangan produk baru dan inovatif untuk tujuan penerapan tertentu dengan memanfaatkan organisme hidup dan/atau zat darinya. Produk-produk ini berasal dari berbagai organisme atau sistem biologis yang ada.

Bioteknologi mengalami perkembangan pesat. Kemajuan ilmu pengetahuan dalam berbagai bidang ikut memicu laju perkembangan bioteknologi dari bioteknologi konvensional yang memanfaatkan organisme dalam memodifikasi suatu bahan untuk menghasilkan produk optimal hingga ke arah bioteknologi modern yang melibatkan rekayasa genetika untuk menghasilkan produk yang diinginkan. Ini telah membantu memodifikasi sistem yang ada dan menghasilkan organisme atau sistem canggih yang lebih tahan dan efektif. Bioteknologi banyak digunakan di berbagai bidang untuk beralih dan menghasilkan produk yang berguna bagi kepentingan manusia. Dengan kemajuan besar dan kemampuan untuk merekayasa sistem biologis dalam beberapa dekade terakhir, bioteknologi menawarkan generasi produk yang lebih unggul dengan biaya lebih ekonomis dan dampak lingkungan yang minimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdalla, N., El-Ramady, H., Seliem, M. K., El-Mahrouk, M. E., Taha, N., Bayoumi, Y., Shalaby, T. A., & Dobránszki, J. (2022). An Academic and Technical Overview on Plant Micropropagation Challenges. *Horticulturae*, 8(8), 677. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8080677>
- Begna, T. (2020). Review on Somatic Hybridization and its Role in Crop Improvement. *International Journal of Research Studies in Agricultural Sciences*, 6(6). <https://doi.org/10.20431/2454-6224.0606004>
- Fazili, M. A., Bashir, I., Ahmad, M., Yaqoob, U., & Geelani, S. N. (2022). In vitro strategies for the enhancement of secondary metabolite production in plants: A review. *Bulletin of the National Research Centre*, 46(1), 35. <https://doi.org/10.1186/s42269-022-00717-z>
- Filová, A. (2014). *Production of Secondary Metabolites in Plant Tissue Cultures*. 46(1), 236–245.
- Hadgu, A., & Fesseha, H. (2020). Reproductive Biotechnology Options for Improving Livestock Production: A Review. *Advances in Food Technology and Nutrition Sciences – Open Journal*, 6(1), 13–20. <https://doi.org/10.17140/AFTNSOJ-6-164>
- Isah, T., Umar, S., Mujib, A., Sharma, M. P., Rajasekharan, P. E., Zafar, N., & Fruk, A. (2018). Secondary metabolism of pharmaceuticals in the plant in vitro cultures: Strategies, approaches, and limitations to achieving higher yield. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 132(2), 239–265. <https://doi.org/10.1007/s11240-017-1332-2>
- Jumin, H. B. (2018). Somatic Hybridization of Cells between Citrus and *Murraya paniculata* by Electro-Fusion. *Eco. Env. & Cons.*, 24(1), 145–152.

- Muchlis, A., Sonjaya, H., & Toleng, A. L. (2022). Article Review: Penerapan Bioteknologi Dalam Produksi Ternak Untuk Meningkatkan Produk Asal Hewan. *J. Ilmu dan Teknologi Peternakan Terpadu*, 2(1), 95–100.
- Murphy, D. J. (2004). Overview of Applications of Plant Biotechnology. In *Handbook of Plant Biotechnology* (Vol. 1). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/0470869143.kc002>
- Oladosu, Y., Rafii, M. Y., Abdullah, N., Hussin, G., Ramli, A., Rahim, H. A., Miah, G., & Usman, M. (2016). Principle and application of plant mutagenesis in crop improvement: A review. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 30(1), 1–16. <https://doi.org/10.1080/13102818.2015.1087333>
- Raharjo, S. H. T. (2013). Bioteknologi Tanaman dalam Perspektif Pertanian Tanaman Pangan dan Holtikultura. In *Sintesis Pemikiran Ilmiah Untuk Pembangunan Wilayah Kepulauan di Indonesia: Kumpulan Pidato Guru Besar Unpatti* (I, pp. 356–385). C.V. Anugerah Sejati Ambon.
- Said, S., Agung, P. P., Putra, W. P. B., & Kaiin, E. M. (2020). The role of biotechnology in animal production. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 492(1), 012035. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/492/1/012035>
- Subekti, H., Handriyan, A., Purnomo, A. R., Wulandari, F. E., & Widiansyah, A. T. (2019). *Bioteknologi: Sebuah Pembelajaran Terintegrasi STEM Pada Mata Kuliah Bioteknologi Bagi Mahasiswa Calon Guru IPA*. Graniti.
- Sutarno. (2016). Rekayasa Genetik dan Perkembangan Bioteknologi di Bidang Peternakan. *Proceeding Biology Education Conference*, 13(1), 23–27.
- Suza, W., Lee, D., Hanneman, M., & Hain, P. (2021). Genetic Engineering. In *Genetics, Agriculture, and Biotechnology*. Iowa State University Digital Press.

- Vohra, S., Salunkhe, P., Mahajan, M., Dhama, S., B, P., & Trivedi, D. (2021). Biotechnological Techniques to Engineer Disease Free Plants. *Research & Reviews in Biotechnology & Biosciences*, 8(1), 193-214. <https://doi.org/10.5281/ZENODO.5118381>
- Wijerathna-Yapa, A., Ramtekey, V., Ranawaka, B., & Basnet, B. R. (2022). Applications of In Vitro Tissue Culture Technologies in Breeding and Genetic Improvement of Wheat. *Plants*, 11(17), 2273. <https://doi.org/10.3390/plants11172273>
- Yata, V. K. (2022). Introduction to Sperm Sexing. In *Sperm Sexing and its Role in Livestock Production*. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-19-1790-5_1

BAB 14

GENETIKA MOLEKULER MANUSIA

Kurnia Ritma Dhanti, S.Si., M. Biotech

A. Dasar Informasi Genetik

1. Makromolekul Hayati

Materi genetik merupakan cetak biru yang akan menentukan bentuk dan sifat dari makhluk hidup. Asam nukleat merupakan salah satu makromolekul yang memegang peranan sangat penting dalam kehidupan organisme karena menyimpan informasi genetik. Asam nukleat adalah suatu molekul yang kompleks dan tersusun atas banyak unsur, sehingga disebut makromolekul. Asam nukleat disebut juga sebagai polinukleotida karena tersusun dari banyak molekul nukleotida sebagai monomernya. Struktur penyusun dari tiap nukleotida berupa gugus fosfat, gula pentosa, dan basa nitrogen atau basa nukleotida (basa N).

Berdasarkan struktur ribosanya, terdapat dua macam asam nukleat, yaitu *Deoxyribonucleic Acid* (DNA) dan *n* (RNA) yang memberikan dasar kimia bagi semua sel. Kesamaan dari kedua asam nukleat ini yaitu unit-unit mononukleotida yang melalui jembatan fosfodiester antara posisi 3' suatu mononukleotida dan posisi 5' pada mononukleotida lainnya.

2. Gen

Tidak keseluruhan daerah pada asam nukleat memiliki urutan nukleotida yang dapat dikodekan menjadi asam amino dan terekspresikan sebagai sifat makhluk hidup.

DAFTAR PUSTAKA

- Blay, J. Y., Lacombe, D., Meunier, F., & Stupp, R, 2012. Personalised medicine in oncology: questions for the next 20 years. *The Lancet Oncology*, 13(5), pp. 448-449.
- Cahyono, F., 2011. Kombinatorial dalam Hukum Pewarisan Mendel. *Jurnal Sistem dan Teknologi Informasi*, pp. 32-39.
- Druz, R. S. & Pelter, M. N., 2022. Precision Medicine: Hype or Hope? *Trends in Cardiovascular Medicine*.
- Jianhui Wu, Xuemei Li, Fei Luo, Jun Yan, Kuo Yang, 2020. Screening key miRNAs and genes in prostate cancer by microarray analysis. *Transational Cancer Research*, 9(2).
- Manafi, A., 2017. Analisis hukum islam terhadap hasil pembuktian hasil tes DNA dalam sumpah lian terkait penentuan nasab anak.. *Jurnal uin sunan ampel.*, 10(2), pp. 61-66.
- Santoso, D., 2023. Mendorong kedokteran presisi. *Kompas*, 16 Januari.
- Witari, N., 2014. In Situ Hybridization pada Kanker Payudara. *JKKI*, 6(3).
- Yuwono, T., 2005. *Biologi Molekular*. Jakarta: Erlangga.

BAB 15

FORENSIK DAN DNA PROFILING

Ni Putu Senshi Septiasari, S.Si., M.Si.

A. Sejarah Perkembangan Ilmu Forensik

Penegakan keadilan pada kasus hukum memerlukan penerapan sains atau ilmu pengetahuan. Dalam hal ini ilmu forensiklah yang dapat membantu upaya tersebut. Ilmu forensik merupakan ilmu yang dapat menghubungkan orang, individu dan hal-hal dalam kegiatan kriminal serta dapat membantu menyelidiki dan mengadili kasus pidana dan perdata. Berdasarkan kamus Inggris di Oxford penggunaan frasa ilmu forensik pertama kali digunakan untuk menggambarkan ilmu campuran, karena ilmu forensik merupakan campuran dari berbagai disiplin ilmu untuk melayani keadilan dan menerapkannya di depan pengadilan. Forensik yang melibatkan berbagai kelompok ilmu dasar seperti ilmu fisika forensik, kimia forensik, biologi forensik, kedokteran forensik, serta ilmu terapan di bidang sosial dan IT. Ilmu forensik bermula dari rasa keingintahuan dan takhayul karena sangat sulit mengetahui hubungan antara kedokteran dan hukum/norma. Sejarah mengenai interaksi ilmu kedokteran dan hukum sangat terbatas mengacu pada catatan-catatan sejarah mengenai hal tersebut. Penulis mengumpulkan beberapa pustaka mengenai Sejarah ilmu forensik dan kedokteran forensik yang akan dijabarkan sebagai berikut (Jason Payne-James, 2005; Houck, 2015):

DAFTAR PUSTAKA

- Houck, M.M. (2015) *Ilmu Forensik. Metode Modern untuk Memecahkan Kejahatan*. AS: Elsevier.
- Jason Payne-James (2005) *History and Development of Clinical Forensic Medicine*. Edited by Margaret M. Stark LL.M. London: Humana Press Inc. Available at: <https://doi.org/10.1385/1-59259-913-3:001>.
- Khan, F.A. (2014) *Biotechnology in Medical Sciences*. United States: CRC Press.
- Yu, Karen; Karwowska, S.; Sharma, A.; Liesenfeld, O.; Scudder, S.A. (2019) *Companion and Complementary Diagnostics: Polymerase Chain Reaction*. United States: Elsevier.
- Yudianto, A. (2019) *DNA Touch dalam Identifikasi Forensik*. Surabaya: Scopindo Media Pustaka.
- Yudianto, A. (2020) *Buku Referensi Pemeriksaan Forensik DNA Tulang dan Gigi*. Surabaya: CV. Sintesa Prophetica.

TENTANG PENULIS



Salman, S.Si, M.Farm dilahirkan di Kota Lhokseumawe Provinsi Aceh, 9 April 1985. Pendidikan sarjana S-1 diperoleh pada Jurusan Kimia Fakultas MIPA, Universitas Syiah Kuala. Kemudian melanjutkan pendidikan S2 di Fakultas Farmasi, Universitas Andalas, dengan bidang peminatan Sains dan Teknologi Farmasi. Saat ini penulis mengabdikan diri sebagai dosen di Universitas Tjut Nyak Dhien Medan, dan mendapat amanah jabatan sebagai Wakil Rektor II, disela-sela kesibukan sebagai dosen, penulis juga disibukkan dengan kegiatan sebagai peneliti independen dan juga konsultan formulasi untuk produk obat herbal, kosmetik dan makanan. Penulis memfokuskan riset di bidang *polymeric drug delivery system* terutama untuk *hydrocolloid polymer* dan *Naturapolyceutics*. Beberapa artikel penelitian telah diterbitkan pada jurnal internasional terindeks Scopus dan jurnal nasional.



apt. Annisa Mauldiia Rahayyu, S.Farm., M.S.Farm. lahir di Bengkulu, pada 19 Agustus 1993. Ia tercatat sebagai lulusan S1 Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, kemudian penulis melanjutkan studi S2 di Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung. Saat ini, penulis berprofesi menjadi seorang dosen di Program studi Farmasi, Institut Teknologi Sumatera. Penulis menjadi dosen yang tertarik pada bidang teknologi farmasi dan pengembangan penghantaran obat baru yang

berkaitan dan *gene therapy*, sesuai dengan penelitian yang beliau lakukan saat menempuh studi S2.



Deniyati S.Farm., M.Si, lahir di Palama Donggo, pada 10 Desember 1992. Ia tercatat sebagai lulusan Universitas Hasanuddin. Wanita yang kerap disapa Yati ini adalah anak dari pasangan H. Ibrahim Bin Usman (ayah) dan Aminah Binti Ahmad (ibu). **Deniyati** bukanlah orang baru di dunia literasi. Ia aktif dalam menulis jurnal, menulis buku ajar dan *book chapter*. Ia juga merupakan seorang Dosen Pengampu Mata Kuliah Farmakologi dan Biofarmasetika. Dalam waktu kurang dari 6 bulan pada tahun 2023, Yati berhasil menulis 12 *book chapter*.



dr. Raudatul Janah, Sp.PA lahir di Banyumas, pada 24 Oktober 1986. Ia tercatat sebagai lulusan Patologi Anatomi FK UNDIP tahun 2017. Wanita yang kerap disapa Uul ini adalah anak pertama dari pasangan DRS. H. Mustofa, Mpd (ayah) dan Sri Marwati (ibu). **Raudatul Janah** kesehariannya sebagai PNS di PMN RS Mata Cicendo dan Dosen di Stikes Dharma Husada Bandung. Uul berhasil memperoleh beasiswa kemenkes sewaktu menempuh pendidikan spesialis. Sudah banyak buku dan publikasi yang diterbitkan serta sekarang sedang menempuh pendidikan S3 di Purwokerto.



apt. Mutiara Imansari, S. Farm., M. Si., lahir di Bandung, pada 8 Desember 1992. Ia tercatat sebagai lulusan Universitas Airlangga dan Institut Teknologi Bandung. Wanita yang kerap disapa Mutiara ini adalah anak dari pasangan Mudjojono (ayah) dan Puspitasari Di Agini (ibu). Sejak mengikuti praktik kerja profesi apoteker di Bio Farma, ia memilikiketertarikan terhadap asam nukleat, protein, dan ilmu bioteknologi farmasi. Ia berpikir agar dapat memanfaatkan ilmu tersebut untuk membuat obat-obatan penyakit degeneratif dan paliatif. Saat ini, ia berkarir dosen Farmasi di Universitas Muhammadiyah Bandung.



Yulia Ratna Dewi, S.Tr.A.K., M.Biomed, lahir di Ambarawa pada tanggal 16 Juli. Lulusan Program Studi Teknologi Laboratorium Medik Universitas Muhammadiyah Semarang tahun 2019 dan telah meraih gelar Magister Ilmu Biomedik dari Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia pada tahun 2023. Yulia Ratna Dewi tercatat sebagai seorang Dosen di D4 Teknologi laboratorium medis di Politeknik Indonusa Surakarta.



Dr. R. Agus Wibowo S., S.Si; M.Sc Menyelesaikan studi Doktoral pada Program Studi Ilmu Kedokteran dan Kesehatan FKKMK Universitas Gadjah Mada Yogyakarta dengan peminatan Biomedis. Penulis menekuni bidang penelitian Biologi molekuler, dan bekerja pada Balai Litbangkes Magelang, Badan Kebijakan Pembangunan

Kesehatan dan sekarang bertransformasi menjadi Balai Laboratorium Kesehatan Masyarakat Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.



Dr. Dessy Arisanty, M.Sc lahir di Padang, pada 12 Januari 1979. Ia tercatat sebagai lulusan Universitas Andalas (S1 dan S3) dan Master (S2) Universiti Putra Malaysia. Wanita yang kerap disapa Dessy ini adalah anak dari pasangan Anwar Manan (ayah) dan Dasmiaty (ibu). **Dessy Arisanty** bukanlah orang baru di dunia Pendidikan. Berbagai kegiatan ilmiah dan banyak artikel yang sudah dipublikasikan. Penghargaan yang pernah diraih adalah sebagai lulusan terbaik Fakultas MIPA dan Medali Perak pada ITEX exhibition Malaysia.



Apt. Maulidwina Bethasari, M.S.Farm, lahir di Cimahi, pada 9 Agustus 1995. Saat ini menjadi dosen program studi farmasi Universitas Muhammadiyah Bandung.



apt. Zulhaerana bahar, S.Farm., M.Si. lahir di Waepute tanggal 17 Mei 1993. Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi Farmasi, Universitas Mulawarman. Menyelesaikan pendidikan S1 pada Jurusan Sains dan Teknologi Farmasi ITB dan melanjutkan Profesi Apoteker dan S2 pada Jurusan Bioteknologi Farmasi ITB. Penulis menekuni bidang Teknologi Farmasi dan Bioteknologi Farmasi.



Dr. Melinda Remelia, S.Si, M.Biomed lahir di Jakarta, pada 28 September 1986. Ia tercatat sebagai lulusan Sarjana Biologi FMIPA UI, Magister Biomedik FKUI, dan Doktor Ilmu Biomedik FKUI. **Melinda Remelia** mengawali karir sebagai asisten peneliti penyakit menular di laboratorium US Namru-2 di Jakarta dan berkontribusi dalam penelitian penyakit menular, khususnya bidang Virologi. Ia juga berkiprah dalam penelitian terapi seluler untuk pasien hati di THCT Untar dan terapi sel punca di SCI, Kalbe. Pada tahun 2016-2018, ia menjabat sebagai kepala laboratorium pengolahan stromal vaskular sel di Hayandralab, Klinik Hayandra. Tahun 2022. Saat ini, Ia juga bekerja aktif sebagai dosen tetap di Departemen Histologi FKUKI.



Paula Mariana Kustiawan, Ph.D. lahir di Samarinda, pada 14 Maret 1989. Ia tercatat sebagai lulusan Sarjana Kehutanan di Universitas Mulawarman 2010, Magister Ilmu Farmasi di Universitas Gadjah Mada 2012 dan Doktor bidang Bioteknologi di *Chulalongkorn University*, Thailand 2016. Penelitian yang dilakukan Paula dipublikasikan dan didiseminasikan dalam berbagai jurnal dan seminar dalam dan luar negeri. Paula saat ini adalah dosen di Fakultas Farmasi UMKALTIM.



apt. Reny Syahrani, S.Farm., M.Sc. Lahir di Wawotobi, 30 Maret 1984. Menyelesaikan Pendidikan Sarjana Farmasi dan Profesi Apoteker dari Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar. Pada tahun 2012 lulus Magister Ilmu Farmasi dengan konsentrasi Penemuan Obat di UGM Yogyakarta. Saat ini penulis aktif sebagai tenaga pendidik di Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Almarisah Madani di Makassar dengan mengampu mata kuliah seperti Farmakognosi, Fitokimia, Fitotoksin, Metabolit Sekunder, Bioteknologi Produksi Metabolit, Obat Tradisional, dan Etnobotani Tumbuhan Sulawesi. Penulis juga aktif meneliti di bidang bahan alam (Farmakognosi, Fitokimia, Metabolomik). Karya berupa buku yang telah dihasilkan yaitu Teknologi Farmasi: Formulasi Bahan Alam dan Metabolit Sekunder.



Kurnia Ritma Dhanti, S. Si., M. Biotech lahir di Magelang, 31 Maret dan saat ini berdomisili di Purwokerto Penulis menempuh Pendidikan Strata 1 pada program studi Biologi Universitas Sebelas Maret dan mengambil master pada bidang Bioteknologi Universitas Gadjah Mada. Saat ini, penulis berkarir sebagai dosen di Program Studi Teknologi Laboratorium Medik DIV, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Purwokerto, dengan fokus riset pada bidang Biologi Molekuler.



Ni Putu Senshi Septiasari, S.Si., M.Si, dilahirkan di Denpasar, pada 29 September 1990, putri pertama dari pasangan Bapak I Putu Suardana dan Ibu Ni Nyoman Suriyati. Pendidikan Sekolah Dasar, Sekolah Menengah Pertama dan Sekolah Menengah Atas diselesaikan di Kabupaten Badung-Bali. Memperoleh gelar sarjana Biologi dan Magister Ilmu Biologi dari Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana. Beliau menikah dengan I Putu Barry Sudarman dan dikaruniai 2 (dua) orang putra.

Penulisdulunya seorang Pranata Laboratorium Pendidikan (PLP) di Fakultas Kedokteran Universitas Udayana dan sekarang menjadi seorang dosen Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis di Universitas Bali Internasional.

Penulis memiliki keahlian kompetensi di bidang Biologi Molekuler yang telah mengembangkan riset keragaman genetik masyarakat Bali untuk aplikasi kepentingan forensik. Penulis juga aktif mengikuti pelatihan-pelatihan dasar dan aplikasi di bidang laboratorium medis dan mendapatkan berbagai penghargaan pada pertemuan ilmiah yaitu Juara Oral Presentasi tingkat Nasional dan Juara Penulisan Artikel tingkat Nasional.