

PERKEMBANGAN PEMANFAATAN, REGULASI, DAN METODE DETEKSI PRODUK REKAYASA GENETIKA PERTANIAN DI INDONESIA

Development of Utilization, Regulation, and Detection Methods of Agricultural Genetically Modified Products in Indonesia

Bahagiawati dan Toto Hadiarto

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian
Jalan Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111
Telp. (0251) 8337975, Faks. (0251) 8338820
E-mail: bahagiawati@indo.net.id

Diterima: 27 Januari 2020; Revisi: 18 Juni 2020; Disetujui: 25 Juli 2020

ABSTRAK

Pemanfaatan tanaman produk rekayasa genetik (PRG) telah berkembang cepat dan mendunia walaupun sampai saat ini masih terjadi kontroversi. Luas penanamannya telah mencapai 191,7 juta ha dan ditanam oleh 26 negara di lima benua. Keamanan hayati PRG secara global maupun domestik telah dijamin oleh peraturan pada tingkat undang-undang, peraturan pemerintah, peraturan kementerian terkait, dan pedoman pelaksanaannya. Secara umum peraturan-peraturan tersebut telah dijalankan sehingga keamanan hayati dari pemanfaatan PRG terjamin di Indonesia. Sayangnya di Indonesia PRG yang sudah diberi izin edar hanya ditanam secara terbatas seperti tebu toleran kekeringan di beberapa kebun milik PTPN. Indonesia juga telah memberikan sertifikat aman hayati pada beberapa varietas PRG diantaranya 27 PRG pangan, tujuh PRG pakan, dan 16 PRG benih (lingkungan). Implementasi peraturan yang telah ada memerlukan sistem pengawasan yang dilengkapi dengan fasilitas laboratorium deteksi PRG dengan kapasitas yang memadai. Indonesia telah mempunyai beberapa laboratorium tersebut. Metode deteksi PRG telah berkembang dari teknik yang sangat mendasar yaitu deteksi untuk skrining kualitatif PRG sampai teknik penentuan spesifik *event* yang menetapkan jenis/sifat PRG, bahkan teknik deteksi secara kuantitatif yang bersifat tunggal maupun multiplex. Metode-metode deteksi tersebut memiliki keunggulan masing-masing. Laboratorium pengujian PRG di Indonesia masih perlu ditingkatkan kemampuannya dengan penguasaan teknologi yang berkembang dengan pesat. Makalah ini memberikan informasi perkembangan pemanfaatan PRG global termasuk di Indonesia dan perkembangan regulasi dan metode deteksi serta prospek dan tantangan.

Kata kunci: Genetika, rekayasa, regulasi, metode deteksi

ABSTRACT

Genetically modified crops (GM crops) have developed very fast globally, although to date controversies over the GM crop uses are still occurring. GM crops have been planted on over 191.7 million hectare area and cultivated in 26 countries in five continents. Biosafety of GM crops both globally and domestically are guaranteed through regulations made at the level of law,

government regulations, related ministerial regulation including the guidelines. In general, those regulations have been implemented, thus the biosafety of GM crop utilization is guaranteed in Indonesia. Unfortunately, although Indonesia gave a certification for released permit for drought tolerant sugarcane, it only grown in a limited areas belongs to state-owned agricultural company (PTPN XI). The country has certified 27, 7, and 16 GM events for food, feed, and seeds for environment safety, respectively. The implementation of these regulations needs a monitoring system that is equipped with facilities of GMO detection laboratory with adequate capacity. Indonesia has several such laboratories. The methods of GMO detections have developed from very basic techniques, i.e. qualitative screening to the determination of specific events that define the type of trait of GMO, even quantitative detection, both single and multiplex. Each method has its own advantages. The capacities of GMO detection laboratory in Indonesia still need to be upgraded to master the fast-developing technology. The purpose of this review is to provide information on the development of global GM crops utilization including in Indonesia and the development of regulations and detection methods with their prospects and challenges.

Keywords: Genetics, modification, regulation, detection methods

PENDAHULUAN

Dengan berkembangnya teknologi rekayasa genetika, kini telah dilepas berbagai produk rekayasa genetika (PRG). PRG adalah organisme hidup, bagian-bagiannya, dan/atau hasil olahannya yang mempunyai susunan genetik baru dari hasil penerapan bioteknologi modern. Meskipun telah ditanam luas di beberapa negara di dunia dan telah terbukti bermanfaat secara ekonomi dan tidak merusak kesehatan manusia maupun lingkungan (James 2017; Brookes and Barfoot 2018), tanaman PRG masih menjadi isu kontroversial sejak pertama kali dikomersialisasikan pada tahun 1996. Isu risiko pemanfaatan PRG yang selalu disampaikan ke publik ialah tanaman PRG berdampak negatif terhadap lingkungan dan kesehatan manusia serta merugikan petani. Namun isu

dampak negatif ini belum memiliki fakta ilmiah yang mendukung (Bahagiawati and Herman 2008; Fagerström *et al.* 2012; Parrott 2010; Fedoroff 2013; Gilbert 2013; Maskar *et al.* 2015).

Isu-isu negatif yang banyak dikhawatirkan adalah mengenai donor gen, baik gen interes, promotor, terminator maupun marka seleksi yang beberapa di antaranya berasal dari mikroba, seperti virus dan bakteri dimana mikroba tersebut secara ilmiah sudah terbukti aman karena bukan patogen terhadap manusia. Beberapa marka seleksi yang bersifat antibiotik yang digunakan dalam proses perakitan tidak dijumpai lagi pada produk akhir PRG (*event*) yang dilepas. Beberapa aspek lainnya seperti *gene-flow* dan *horizontal resistance* hanya terjadi secara teoritis dan tidak terjadi di alam. Keterangan yang lengkap mengenai hal tersebut sudah dipublikasikan oleh beberapa peneliti (Fedoroff, 2013; Gilbert, 2013; Bahagiawati and Herman 2008).

Sejak tahun 1996, untuk menghindari dugaan dampak negatif tersebut, pelepasan tanaman PRG diatur dengan beberapa peraturan yang mengharuskan perlunya pengkajian keamanan hayati (aman pangan, pakan dan lingkungan) sebelum dimanfaatkan secara luas oleh masyarakat. Pengkajian dilakukan berdasarkan standard internasional sebagaimana tertuang dalam Codex Alimentarius GAC/GL 45-2003 (*guideline to conduct risk assesment for food derived from GMOs*) (Amirhusin 2011; Bahagiawati *et al.* 2019).

Indonesia telah menetapkan beberapa peraturan yang mengharuskan pengkajian keamanan hayati PRG sebelum diedarkan, yang salah satunya tertuang dalam PP 21 tahun 2005 (Kementerian Koordinator Perekonomian 2019). Peraturan ini mengatur tentang pedoman pengkajian keamanan hayati bagi PRG impor dan PRG rakitan di dalam negeri. Indonesia juga telah mempunyai Komisi Keamanan Hayati PRG yang dibentuk berdasarkan SK Presiden pada tahun 2010. Komisi Keamanan Hayati ini kemudian dibantu oleh Tim Teknis Keamanan Hayati yang terdiri atas tiga bidang, yaitu pangan, pakan, dan lingkungan. Sampai tahun 2019 Indonesia telah menyetujui dan memberi sertifikat aman pangan untuk 28 PRG, dan aman pakan untuk delapan PRG, serta 12 PRG dinyatakan ramah lingkungan untuk dimanfaatkan. PRG tersebut antara lain berupa komoditas pertanian seperti kedelai, jagung, tebu, kentang, dan berbagai vaksin ternak ayam (Tabel 1).

Beberapa laporan menyatakan bahwa untuk memenuhi kebutuhan nasional sejak tahun 1999 Indonesia mengimpor kedelai, terutama dari Amerika Serikat, Argentina, dan Brasil, yang merupakan negara utama penanam kedelai PRG (James 2017; Aryaraja 2013; Facino 2012). Kedelai impor tersebut digunakan terutama sebagai bahan baku tahu dan tempe. Pada dekade terakhir Indonesia mengimpor kedelai rata-rata 3 juta ton per tahun untuk memenuhi kebutuhan pangan dan industri (BPS, 2019; Kementan 2018). Selain itu, Indonesia juga telah mengimpor bungkil kedelai yang

merupakan hasil samping pengolahan kedelai untuk menghasilkan minyak makan. Beberapa jagung PRG juga telah dimpor terutama untuk pakan ternak, tetapi karena adanya program swasembada maka impor jagung PRG menurun secara bertahap sejak tahun 2014, bahkan pada tahun 2018 menurun drastis sampai kurang dari 1 juta ton per tahun.

Indonesia telah meratifikasi protokol Cartagena yang mengatur perpindahan PRG lintas negara yang dikembangkan lebih lanjut oleh PP 21 tahun 2005 dan beberapa keputusan kementerian terkait serta semua institusi di bawahnya. Pada beberapa peraturan tersebut dinyatakan sebelum diedarkan secara komersial, PRG harus dikaji keamanannya terhadap kesehatan manusia, ternak, dan lingkungan (Prawirodiputro and Muharsini 2017). Untuk mengawasi peredaran PRG perlu dimonitor di lapangan, termasuk kepatuhan importir dalam menjalankan peraturan tersebut (*compliance*). Untuk kegiatan monitoring diperlukan kapasitas deteksi PRG yang akurat sehingga dapat mendeteksi beberapa *event* yg sudah disetujui (dinyatakan aman oleh institusi berwenang) dan beredar di pasar domestik. Peraturan pengawasan terkait keamanan pangan PRG sudah diterapkan oleh BPOM, sedangkan peraturan terkait dengan pengawasan peredaran benih dan tanaman PRG sedang dalam proses finalisasi di Kementerian Pertanian.

Kapasitas dan fasilitas laboratorium untuk deteksi PRG telah diinformasikan oleh Bahagiawati dan Sutrisno (2007). Tinjauan ini bertujuan untuk memberikan informasi terkini tentang perkembangan pemanfaatan PRG, regulasi, dan metode deteksi PRG di dunia serta prospek dan tantangan pengembangan metode deteksi PRG di Indonesia.

PERKEMBANGAN KOMERSIALISASI PRODUK REKAYASA GENETIKA SECARA GLOBAL

Untuk meningkatkan produksi dan produktivitas pangan dan pertanian diperlukan varietas unggul untuk masing-masing komoditas pangan dan pertanian (Kementerian Koordinator Perekonomian 2019). Dalam beberapa dekade terakhir telah dihasilkan varietas unggul tanaman pangan yang merupakan hasil pemuliaan konvensional. Benih varietas unggul tersebut telah memberikan kontribusi yang sangat besar bagi ketahanan pangan nasional. Meskipun demikian, pemuliaan konvensional mempunyai berbagai kelemahan, di antaranya persilangan tanaman terbatas pada kerabat dekat dan keragaman genetik plasma nutfah yang tersedia dengan sifat yang diinginkan juga terbatas, sehingga penyilangan untuk mendapatkan sifat tertentu yang diharapkan tidak berhasil dilakukan (Bahagiawati 2001; Oliver 2014). Untuk itu dibutuhkan inovasi teknologi dalam pemuliaan tanaman, antara lain melalui rekayasa genetika (bioteknologi) yang dimulai penanamannya sejak tahun 1996.

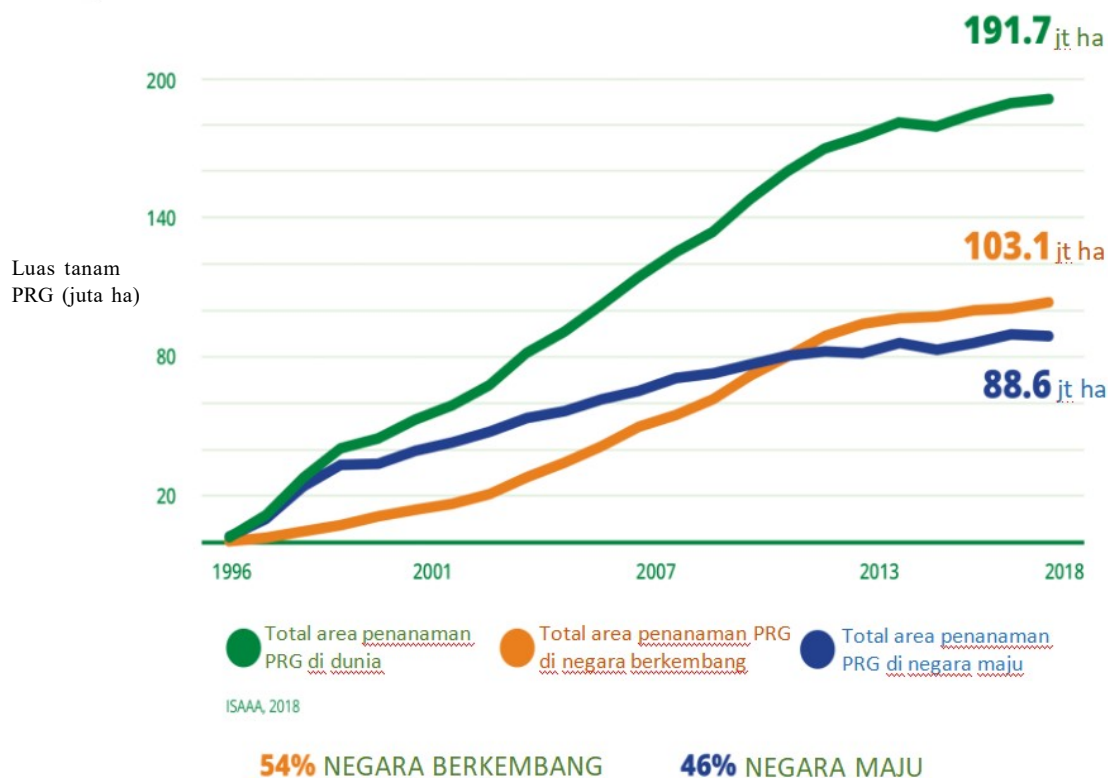
Sampai saat ini telah banyak dihasilkan varietas unggul dengan bantuan teknologi rekayasa genetik atau benih PRG. Keunggulan varietas tersebut telah dibuktikan dengan makin meningkatnya produksi dan pemanfaatannya (Brookes and Barfoot 2018). Varietas unggul PRG yang banyak ditanam di dunia ialah kapas (saat ini sudah mencapai 68% dari seluruh tanaman kapas komersial), kedelai (82%), jagung (30%), dan kanola (25%). Luasan pertanaman varietas unggul PRG meningkat lebih dari 100 kali lipat dalam periode 20 tahun terakhir. Pada tahun 1996 luas areal tanaman PRG hanya 1,7 juta ha yang tersebar di hanya enam negara, yaitu Amerika Serikat, Kanada, Argentina, Australia, China, dan Meksiko (James 2003; Kementerian Koordinator Perekonomian 2019). Namun pada tahun 2018 penanaman tanaman PRG telah menyebar ke 26 negara, di antaranya Brasil, India, Filipina, dan Vietnam dengan luas total 191,7 juta ha (ISAAA 2018). Sebaliknya, terdapat lebih dari 40 negara yang tidak menanam, tetapi mengimpor PRG untuk keperluan pangan dan pakan di negaranya. Gambar 1 memperlihatkan perkembangan penanaman varietas PRG secara global dalam periode 1996-2018.

Data pada Gambar 1 menunjukkan perkembangan areal pertanaman PRG mengalami peningkatan yang signifikan walaupun berbagai isu negatif disebarkan oleh pihak anti-PRG. Kenyataannya, isu negatif tersebut seperti merusak lingkungan dan kesehatan manusia tidak dijumpai di lapangan (Kementerian Koordinator Perekonomian 2019; Klumper and Qaim 2014). Informasi

tentang perkembangan luas pertanaman dan pertambahan jumlah negara penanam dan pengimpor PRG menunjukkan PRG dibutuhkan oleh produsen makanan dan minuman, petani, dan konsumen lainnya (Eenenaaam and Young 2014; BPS 2019; Kementan 2018).

Semula tanaman PRG terutama yang tahan hama dan toleran herbisida di isukan berpotensi menyebabkan kerusakan lingkungan seperti terbunuhnya musuh alami dan serangga berguna. Kenyataannya di Brasil sebagai negara mega biodiversitas setelah menanam PRG sejak 1998 tidak menurunkan biodiversitas karena mereka tidak banyak membuka hutan baru (deforestasi) untuk meningkatkan produksi pertanian menjadi 207% dengan hanya membuka lahan baru 57% dari kebutuhan pembukaan lahan baru (Brondani 2018). James (2011) mengatakan secara global pada tahun 2010 terdapat penambahan produksi sebesar 44,1 juta ton sandang, pangan, dan pakan. Jika tambahan produksi 44,1 juta ton tersebut dengan hanya mengembangkan varietas tanaman non-PRG, maka dibutuhkan 14 juta ha lahan baru. Dengan demikian, PRG telah menyelamatkan pembukaan lahan baru sebagai sumber biodiversitas (deforestasi) seluas 14 juta ha (Brookes and Barfoot 2011; Carpenter 2011).

Tanaman PRG tahan hama dan toleran herbisida merupakan generasi pertama PRG, yang penggunaannya masih terkait dengan dukungan pestisida. Tanaman PRG generasi kedua yang sebagian sudah dilepas toleran terhadap masalah abiotik seperti kekeringan dan tanaman



Gambar 1. Perkembangan luasa areal tanaman PRG di dunia (Sumber: ISAAA 2018).

PRG memiliki nilai nutrisi yang lebih baik seperti jagung dan kedelai yang menghasilkan minyak goreng yang lebih sehat karena mengandung lemak sehat yang tinggi seperti omega-3 yang baik bagi kesehatan. Contoh lain ialah padi emas (*golden rice*) yang mengandung provitamin A yang baik untuk pencegahan kebutaan dan padi yang mengandung mineral seperti besi dan zink (*biofortified*) yang diperlukan manusia untuk mengatasi malnutrisi atau *stunting* (Hefferon 2015).

Produk PRG generasi kedua saat ini sedang diteliti dan dirakit untuk menghasilkan varietas toleran kekeringan dan atau rendaman. Khusus untuk tanaman generasi kedua ini potensi dampak lingkungannya lebih rendah dari tanaman PRG generasi pertama karena tidak ada keterkaitannya dengan pestisida. Kesemua jenis PRG tersebut, baik generasi pertama maupun kedua, sebelum dilepas harus dikaji keamanan hayatinya, yang lolos dari pengkajian dan yang dinyatakan aman saja yang akan dilepas sehingga keamanan penggunaannya terjamin. Pemuliaan tanaman dengan metode rekayasa genetika memakai teknologi yang relatif baru, sehingga keamanannya sering dipertanyakan. Untuk itu, sejak tahun 1996 pemanfaatan dan peredaran PRG diatur dengan ketat (Estiati and Herman 2015; Kementerian Koordinator Perekonomian 2019). Semua PRG yang diedarkan atau dikomersialisasikan harus dikaji dahulu keamanannya terhadap pangan, pakan, dan lingkungan. Standard pengkajian yang digunakan berdasarkan *Codex Alimentarius*.

Walaupun dasar pengkajian antarnegara sama, tetapi *framework* untuk lembaga yang berwenang mengkaji keamanan dan menerbitkan sertifikasi aman kenyataannya bervariasi atau berbeda. Usaha harmonisasi sering dilakukan secara global melalui FAO, WHO, APEC, UNEP, dan juga regional melalui ASEAN. Semua pengkajian keamanan diberlakukan untuk menjamin bahwa PRG yang diedarkan tidak merugikan kesehatan manusia dan tidak merusak lingkungan.

PERKEMBANGAN PERATURAN DAN SERTIFIKASI PRODUK REKAYASA GENETIKA DI INDONESIA

Indonesia telah menyusun dan menerbitkan beberapa peraturan terkait PRG melalui undang-undang, keputusan pemerintah atau keputusan presiden, dan keputusan menteri terkait. Beberapa undang-undang dan peraturan lama juga sudah direvisi (Herman 2013; Kementerian Koordinator Perekonomian 2019). Beberapa peraturan-peraturan tersebut adalah sebagai berikut:

a. UU No. 7 tahun 1996 tentang Pangan kemudian direvisi menjadi UU No. 18 tahun 2012 tentang Pangan mengharuskan semua pangan yang berasal

dari produk bioteknologi sebelum diberi izin untuk diedarkan harus dikaji terlebih dahulu keamanannya dan memperoleh sertifikasi aman pangan oleh institusi berwenang.

- b. UU No. 32 tahun 2009 tentang Perlindungan dan Pengelolaan Lingkungan Hidup menyebutkan pelarangan bagi siapa saja untuk melepas produk bioteknologi ke lingkungan hidup tanpa menaati peraturan perundangan yang berlaku.
- c. PP No. 28 tahun 2004 tentang Keamanan, Mutu dan Gizi Pangan yang pada pasal 14 mengatur tentang pemeriksaan atau pengkajian keamanan pangan produk bioteknologi.
- d. PP No. 21 tahun 2005 tentang Keamanan Hayati PRG menyatakan produk bioteknologi harus dikaji keamanan hayatinya sebelum diedarkan.
- e. Permentan RI No. 61/Permentan/OT.140/10/2011 tentang Pengujian, Penilaian, Pelepasan dan Penarikan Varietas, termasuk bagi tanaman PRG.
- f. Peraturan MLHK No.69/MenLHK/sekjen/KUM.1/8/2016 tentang pengujian keamanan lingkungan tanaman PRG di LUT (Lapangan Uji Terbatas) mengatur tentang tata cara pengujian di lapangan dengan skala luasan terbatas untuk tanaman PRG.
- g. Permentan No. 38 tahun 2019 tentang pelepasan varietas yang pasal 41 sampai 63 mengatur tentang tata cara pelepasan varietas PRG.

Beberapa pedoman pengkajian keamanan produk bioteknologi juga telah diterbitkan sebagai berikut:

- Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor Hk.03.1.23.03.12.1563 tahun 2012 tentang pedoman pengkajian keamanan pangan PRG.
- Peraturan BaPOM No. HK.03.1.23.03.12.1564 tahun 2012 tentang pengawasan pelabelan PRG.
- Peraturan Menteri Lingkungan Hidup No. 25 tahun 2012 tentang pedoman penyusunan dokumen analisis risiko lingkungan PRG.
- Peraturan Menteri Pertanian Nomor 36/Permentan/LB.070/8/2016 tentang Pengkajian Keamanan Pakan Produk Rekayasa Genetika.
- Peraturan BPOM No.6 tahun 2018 tentang pengawasan pangan produk rekayasa genetika.

Mengingat sebagian peraturan tentang pemanfaatan PRG sudah lama sehingga perlu *update* sesuai dengan perkembangan ilmu pengetahuan dan pengalaman Indonesia dan negara lain setelah menanam dan memanfaatkan PRG selama lebih dari dua decade (Prasetya 2019). Beberapa peraturan masih perlu dibuat untuk melengkapi peraturan yang ada, seperti peraturan pemanfaatan hasil *genome editing*.

PERKEMBANGAN PENGAJIAN KEAMANAN HAYATI PRODUK REKAYASA GENETIKA DI INDONESIA

Sejak tahun 2011 terdapat 27 produk PRG termasuk *ice structuring protein* yang telah mendapatkan sertifikat keamanan pangan, tujuh produk PRG telah memperoleh sertifikat keamanan pakan, dan 16 produk PRG telah memperoleh sertifikat keamanan lingkungan. Sebagian besar produk PRG yang dinyatakan aman pangan atau pakan adalah komoditas jagung dan kedelai, sedangkan produk PRG yang dinyatakan aman lingkungan sebagian besar adalah vaksin. Rangkuman dari produk PRG tersebut dapat dilihat pada Tabel 1. Secara detail, informasi terkait PRG yang sudah memperoleh sertifikat keamanan hayati dapat diakses di <http://indonesiabch.menlhk.go.id/keputusan-aman/pangan>.

PERKEMBANGAN METODE DETEKSI PRODUK REKAYASA GENETIKA

Pengembangan metode deteksi sudah dimulai sejak perakitan PRG. Pengembangan metode deteksi terjadi pada teknik ekstraksi DNA dari bahan PRG, teknik deteksi, dan alat yang digunakan. Pada awalnya, metode deteksi hanya digunakan untuk skrining menentukan keberadaan komponen PRG dalam suatu produk (Griffith *et al.* 2002). Metode deteksi terbagi dua yaitu berdasarkan DNA dan protein. Metode deteksi berdasarkan DNA dilakukan

dengan PCR untuk menentukan adanya promotor 35S-CaMV dan terminator T-Nos yang terdapat dalam PRG. Metode deteksi berdasarkan protein dahulu hanya menggunakan *lateral flow strip* (LFS) dan ELISA, yang keduanya juga dilakukan untuk skrining (Malik *et al.* 2018). Seiring dengan perkembangan teknologi, metode deteksi juga berkembang ke arah *event* spesifik, yaitu deteksi yang tidak hanya mengetahui keberadaan PRG tetapi juga jenis PRG itu sendiri. Selain itu, metode deteksi juga berkembang ke arah kuantitatif dengan menggunakan *real time* PCR.

Dalam proses deteksi PRG terdapat beberapa tahap yang juga ikut menentukan keakuratan hasil deteksi, yaitu teknik pengambilan contoh (*sampling*) dan ekstraksi yang digunakan. Jika kedua tahap ini tidak dilakukan dengan tepat, maka hasil deteksi diragukan kebenarannya (Raymond *et al.* 2009).

Teknik Pengambilan Contoh (*Sampling*)

Teknik pengambilan contoh merupakan hal yang sangat penting bagi keakuratan hasil deteksi PRG. Beberapa standard pengambilan sampel telah dikeluarkan oleh beberapa institusi, di antaranya Joint Research Center (JRC) di Uni Eropa (JRC 2014). Di samping itu, teknik baku untuk pengambilan contoh biji-bijian juga dikeluarkan oleh ISTA (International Seed Testing Agency) yaitu ISTA *Handbook on seed sampling*. Informasi dari hand book ini dapat dilihat pada <http://www.seedtest.org/Cartease/item-detail.ctm?ID=0.10&storeid=1>

Tabel 1. Komoditas PRG yang sudah mendapat sertifikat keamanan pangan, pakan atau lingkungan di Indonesia sejak tahun 2011.

| Komoditas | Nama PRG | Sertifikat keamanan |
|-----------------------------|---|--------------------------------|
| Jagung | MON 89034, NK603, MIR 162, GA21, BT11, MIR604, event 3272, TC1507, MON 87427, MON 87460, MON 810, MON 87411, MON 88017 | Pangan |
| | NK603, MON 89034, BT 11, GA 21, MIR162, MIR604 | Pakan |
| | NK603, GA21 | Lingkungan |
| Kedelai | MON 89788, GTS 40-3-2, MON 87701, MON 87705, MON 87708, MON87769, event 305423, SYHT0H2, MON 87751 | Pangan |
| Tebu | NXI-1T, NXI-4T, NXI-6T NXI-4T | Pangan dan lingkungan Pakan |
| Kentang | SP951 | Pangan dan lingkungan |
| Jasad renik (vaksin ternak) | Ingelvac Circoflex, Vectormune HVT NDV + RIspons, Himmvac Dalguban N Plus Oil, Himmvac Dalguban BEN Plus Oil, Vectormune HVT NDV, Vaxxitek HVT + IBD, Nobilis rHVT-ND, Himmvac Dalguban BN Plus Oil, Nobilis rHVT ILT, Porcilis ® PCV M Hyo | Lingkungan |

Sumber: <http://indonesiabch.menlhk.go.id/keputusan-aman/pangan>

Kementerian Pertanian telah mengeluarkan pedoman pengambilan contoh melalui Kepmentan No.635/HK.150/C/07/2015 tentang Pedoman Teknis Pengambilan Contoh Benih dan Pengujian/Analisis Mutu Benih Tanaman Pangan yang merujuk pada pedoman yang diterbitkan oleh ISTA. Di samping itu, Badan Karantina Pertanian Indonesia juga mengeluarkan buku pedoman untuk pengambilan contoh atau *sampling* (Rusli *et al.* 2007). Kedua pedoman tersebut juga berlaku untuk *sampling* deteksi PRG. Kesalahan yang selalu dijumpai pada proses *sampling* disebabkan karena kesalahan dalam penentuan skema *sampling*, rencana *sampling*, dan akurasi metode yang digunakan. Sampel harus mewakili lot yang disampel dan dalam jumlah yang mencukupi.

Metode Ekstraksi

Salah satu tahap yang penting dalam deteksi PRG ialah ekstraksi DNA maupun protein yang akan digunakan sebagai sumber informasi keberadaan DNA asing dalam produk PRG (Gould *et al.* 2016; Turci *et al.* 2010). Keberhasilan serta kemudahan ekstraksi DNA maupun protein bergantung pada bahan yang akan diuji. Bahan yang diuji dapat berupa bahan mentah, bahan setengah jadi atau bahan yang sudah diproses. Bahan mentah seperti benih tanaman merupakan materi yang memiliki kandungan DNA dan protein yang lebih lengkap dibandingkan dengan bahan setengah jadi dan olahan, sehingga materi ini lebih mudah diuji dibandingkan dengan bahan yang lain.

Jenis bahan yang diuji juga menentukan metode ekstraksi DNA atau protein. Untuk bahan mentah, metode ekstraksi biasanya tersedia dalam berbagai publikasi ilmiah (Randhawa *et al.* 2016). Metode ekstraksi untuk bahan setengah jadi atau olahan biasanya memerlukan modifikasi dari teknik dasar ekstraksi dan hal ini terkadang dilakukan berulang-ulang hingga memperoleh hasil yang optimal (Ali *et al.* 2017; Fraiture *et al.* 2015).

Ekstraksi DNA pada awalnya hanya dilakukan secara kimiawi menggunakan bahan seperti SDS (sodium dodesil sulfat), CTAB (cetyltrimethylammonium bromide/ setiltrimetilamonium bromida), fenol-kloroform-isoamil alkohol atau Triton X100 (Xia *et al.* 2019; Matthes *et al.* 2020). Namun, saat ini ekstraksi DNA dapat dilakukan secara fisik (dengan memanfaatkan sifat fisik DNA). Kebanyakan ekstraksi DNA jenis ini dipasarkan dalam bentuk kit seperti silika-spin kolom, anionik resin atau magnetic beads (Ali *et al.* 2017).

Ekstraksi protein secara umum dilakukan dengan menghancurkan sampel secara mekanis. *Protease inhibitor* ditambahkan untuk mencegah degradasi protein. Detergen adakalanya ditambahkan untuk memecah membran sel (Cilia *et al.* 2009). Hasil dari ekstraksi protein ini kemudian dapat dimanfaatkan dalam proses deteksi.

Deteksi dengan Protein

Secara umum, protein dapat dideteksi dengan beberapa metode. Protein hasil ekstraksi dapat dipisahkan antara satu dan lainnya dengan teknik elektroforesis. Protein spesifik dapat dipisahkan melalui immunoassai. Teknik yang memanfaatkan antibodi ini dapat digunakan untuk deteksi PRG. Protein yang dihasilkan oleh PRG diekstrak dari produk yang diuji. Persiapan ekstraksi protein biasanya dilakukan secara sederhana.

Metode berbasis immunoassai yang dimanfaatkan untuk mengidentifikasi PRG adalah ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) dan LFS (*Lateral Flow Strip*) (Huang *et al.* 2014). Dua metode ini sudah lama dimanfaatkan, dari sejak deteksi PRG hingga kini (Kamle *et al.* 2018; Hernandez *et al.* 2005). Antibodi yang digunakan dalam metode ini didesain secara spesifik untuk mengenali protein yang dihasilkan oleh PRG. Beberapa perusahaan sudah membuat ELISA dan/atau LFS untuk mendeteksi PRG yang mengandung CP4 EPSPS pada tanaman seperti kedelai, kapas, dan kanola (Wu *et al.* 2012; Wang *et al.* 2015).

Metode ELISA dan LFS dapat mendeteksi secara spesifik protein yang hanya terdapat pada PRG yang tidak dihasilkan oleh non-PRG (Holst-Jensen 2009). Persiapan sampel untuk metode ELISA dan LFS dapat dikatakan sederhana hingga moderat, kadang deteksi dapat dilakukan *on-site* dan hasilnya dapat langsung diperoleh. Selain itu, teknik deteksi ini memerlukan biaya yang relatif lebih murah dibandingkan dengan deteksi DNA.

Namun, PRG kadang memiliki protein yang sudah rusak karena pemrosesan, sehingga deteksi dengan memanfaatkan protein adakalanya tidak dapat dilakukan. Dengan demikian, opsi lainnya ialah menggunakan DNA untuk mendeteksi PRG. Meskipun deteksi DNA terkait keberadaan PRG memakan waktu yang lebih lama dan memerlukan biaya yang lebih mahal, deteksi ini lebih akurat, dapat dihitung konsentrasinya (kuantifikasi) dan dapat digunakan pada PRG yang sudah diproses.

Deteksi dengan DNA

Deteksi ini dilakukan dengan menganalisis DNA dalam suatu sampel. Teknik yang berdasar pada analisis DNA dapat dikelompokkan menjadi tiga jenis, yaitu kualitatif, kuantitatif, dan semikuantitatif. Metode kualitatif digunakan untuk deteksi awal keberadaan PRG (*screening*). Beberapa metode kualitatif yang dapat digunakan untuk deteksi PRG antara lain PCR, *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP), *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP), dan *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD). Metode kuantitatif digunakan untuk melihat jumlah DNA sisipan yang dikandung PRG dibanding total DNA genom pada organisme/produk tersebut. *Real-time PCR* (qPCR) merupakan teknik yang paling banyak digunakan untuk

kuantifikasi DNA. *Real-time* PCR atau qPCR termasuk teknik kuantifikasi DNA yang memiliki akurasi cukup tinggi (Broeders *et al.* 2014; Waiblinger *et al.* 2008). Pada beberapa kondisi, teknik PCR dimodifikasi agar tetap memberikan hasil yang dapat dipercaya dengan tingkat akurasi yang cukup. Untuk hal tersebut digunakan metode semikuantitatif PCR (Chen *et al.* 1999). Dengan kata lain, metode ini memberikan informasi pengukuran kualitatif dengan tambahan informasi kuantitatif secukupnya.

Metode kualitatif merupakan pendekatan awal yang sangat sering dipakai untuk menentukan PRG. Metode kualitatif paling sederhana yaitu mendeteksi keberadaan bagian-bagian (Lipp *et al.* 2005) DNA yang banyak dimanfaatkan dalam pembuatan tanaman transgenik seperti promoter CaMV35S (atau p35S) dan NOS terminator (atau T-NOS) menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Tahap *screening* ini sangat umum digunakan dalam mendeteksi PRG dalam sampel (Zhang and Guo 2011).

Tahap selanjutnya dalam metode kualitatif ialah menentukan *event* PRG. Metode ini dilakukan untuk mengetahui jenis komponen DNA yang dimasukkan ke dalam PRG tersebut. Tahap identifikasi dilakukan dengan teknik PCR. Primer yang digunakan ialah primer spesifik untuk gen-gen tertentu yang terdapat pada PRG yang sudah melalui proses regulasi keamanan hayati. Beberapa gen yang dimanfaatkan dalam pembuatan PRG antara lain gen *cry* untuk ketahanan terhadap serangga, gen *5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase* (*EPSPS*) dan gen *phosphinothricin N-acetyltransferase* (*pat*) untuk toleransi terhadap herbisida, dan sebagainya (<https://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/gmtraitslist/default.asp>).

Informasi molekuler pada sampel dapat dikuantifikasi sehingga jumlah salinan (*copy*) komponen DNA transgenik dapat diketahui. Teknik ini dilakukan menggunakan qPCR yang memanfaatkan fluoresen dari target yang spesifik. Fluoresen seperti FAM atau HEX yang berkorelasi dengan jumlah DNA sampel dicatat sehingga dapat dikuantifikasi. Metode qPCR menjadi standar berkelas untuk mengukur level DNA beberapa tahun lalu (Hijjawi *et al.* 2018).

Perkembangan Teknik Deteksi Produk Rekayasa Genetika Berbasis Protein

Dalam mendeteksi PRG melalui protein, metode LFS dapat dikatakan lebih sederhana dibandingkan dengan ELISA. Namun, LFS hanya dapat mendeteksi keberadaan satu jenis protein. Untuk meningkatkan efisiensi deteksi, LFS dapat dikembangkan agar dapat mendeteksi beberapa protein. Antibodi yang dapat mengenali protein yang linear (bukan protein dengan struktur alami), dapat dikembangkan sehingga protein yang terdapat pada makanan olahan dapat berikatan dengan antibodi tersebut

dan mendeteksi PRG. Selain itu, pengembangan antibodi yang dapat berikatan dengan protein pada kondisi ekstrem seperti pH rendah/tinggi dan salinitas rendah/tinggi dapat dilakukan untuk memberikan hasil yang lebih sensitif. Teknik deteksi untuk beberapa protein (atau DNA) dikenal dengan multiplex. Selain LFS, multiplex juga dikembangkan pada ELISA untuk deteksi protein (Korn *et al.* 2009).

Perkembangan Teknik Deteksi Produk Rekayasa Genetika Berbasis DNA

Perkembangan metode kualitatif. Pengembangan teknik multiplex juga terjadi pada deteksi DNA PRG. PCR yang biasa dilakukan menggunakan satu pasang primer untuk satu tabung reaksi (Tsuji *et al.* 2018). Dengan multiplex PCR dapat dilakukan dengan menambah beberapa pasang primer pada satu tabung reaksi. Hernandez *et al.* (2005b) mempublikasikan metode multiplex yang secara bersamaan dapat mendeteksi PRG jagung Bt11, Mon810, T25 dan GA21. Multiplex PCR untuk PRG jagung dan kapas dikembangkan oleh Singh *et al.* (2016), sedangkan multiplex PCR untuk PRG jagung dan kedelai dikembangkan oleh Datukishvili *et al.* (2015). Secara umum, teknik multiplex PCR menggabungkan PCR dari beberapa reaksi ke dalam satu tabung reaksi (Chaouachi *et al.* 2014). Teknik ini lebih menguntungkan karena menghemat biaya dan waktu.

Secara global, multiplex yang sudah dikembangkan untuk deteksi PRG secara kualitatif ialah teknik mikroarrai. Teknik ini berbasis pada hibridisasi antara DNA sampel dengan *probe* yang terdapat pada *chip microarray* (Salisu *et al.* 2017). Apabila *probe* yang digunakan adalah fragmen-fragmen DNA terkait dengan DNA PRG yang tersedia secara global, maka sampel PRG akan terdeteksi positif melalui hibridisasi, dan juga *event* PRG yang ada dapat diidentifikasi. Xu *et al.* (2006) mempublikasikan teknik skrining PRG dengan multiplex PCR yang digabungkan dengan mikroarrai. Teknik ini kemudian dikembangkan oleh Li *et al.* (2016) dalam identifikasi jagung PRG.

Selain mikroarrai, teknik lain yang saat ini sudah mulai berkembang untuk deteksi PRG secara multiplex ialah PCR *capillary gel electrophoresis* dan LAMP (*Loop-Mediated Isothermal Amplification*). PCR *capillary gel electrophoresis* merupakan modifikasi dan penggabungan antara teknik PCR dan *capillary electrophoresis* (Lindstedt *et al.* 2004; Salisu *et al.* 2017). LAMP adalah teknik amplifikasi DNA berbasis PCR yang memanfaatkan modifikasi primer sehingga produk akhirnya ialah fragmen dengan ujung berbentuk loop. Keunggulan dari LAMP ialah waktu amplifikasi sangat singkat dan dapat mendeteksi sampel dalam jumlah yang sangat kecil (Li *et al.* 2017; Salisu *et al.* 2017; Zhang *et al.* 2013).

Perkembangan metode kuantitatif. Metode kuantifikasi DNA juga mewarnai perkembangan teknik deteksi PRG. Meskipun qPCR masih banyak digunakan untuk kuantifikasi DNA, teknik ini memiliki beberapa kekurangan seperti perlunya dibuat kurva standar untuk menentukan kuantitas DNA dan adanya sinyal fluoresen pada latar belakang (*background*) sehingga mempengaruhi deteksi sinyal pada fluoresen yang spesifik terhadap target. Fluoresen yang tidak spesifik pada *background* dapat mengakibatkan kuantifikasi tidak akurat, tetapi hal ini dapat diatasi menggunakan garis batas (*threshold line*) atau Cq yang merupakan nilai kuantifikasi siklus PCR. Namun, nilai Cq atau *threshold* yang terlalu tinggi dapat menyebabkan hasil yang tidak maksimal.

Teknik baru yang mulai dimanfaatkan sebagai pengganti qPCR ialah digital PCR (dPCR). Teknik dPCR berbasis pada pemisahan cetakan (*template*) yang terdapat dalam *reaction mix* ke dalam sekat-sekat atau droplet sehingga akan terbentuk sekat atau droplet yang masing-masing berisi rata-rata satu *template* dalam *reaction mix*. Droplet yang dihasilkan dari partisi ini sangat banyak untuk selanjutnya diamplifikasi melalui reaksi PCR. Oleh karena itu, hasil yang diperoleh dari teknologi ini lebih akurat dan *reproducible* (Taylor *et al.* 2017). Keunggulan lain dari teknologi dPCR ialah tidak memerlukan kurva standar yang berasal dari materi referensi lain. Beberapa teknik dPCR yang dikembangkan oleh perusahaan ilmu hayati dan bioteknologi antara lain *droplet-based PCR*, *droplet in chamber*, *chamber-based digital PCR*.

LABORATORIUM DETEKSI PRODUK REKAYASA GENETIKA DI INDONESIA

Indonesia sejak tahun 2005 telah memberi perhatian dalam hal deteksi PRG dan sejak itu pula telah tersedia beberapa laboratorium yang memberikan pelayanan kepada publik untuk deteksi PRG (Bahagiawati and Sutrisno 2007). Laboratorium tersebut ialah laboratorium deteksi PRG di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian (BB Biogen), PT Saraswanti, dan BPOM. Laboratorium tersebut sudah diakreditasi dan juga telah mengikuti beberapa uji profesiensi di tingkat regional ASEAN maupun tingkat global seperti uji profesiensi oleh APLAC, China, dan dengan Inggris. Di samping itu, sejak tahun 2005 telah dibentuk jejaring laboratorium deteksi PRG di Indonesia yang bertemu setiap tahun untuk berbagi pengalaman dan juga saling membantu untuk meningkatkan kapasitasnya.

Upaya untuk mengembangkan kapasitas laboratorium deteksi PRG dilakukan dengan mengikuti berbagai pelatihan dan workshop terutama melalui ASEAN GM Food Testing network yang merupakan *task force* di bawah AMAF (*ASEAN Ministry of Agriculture and*

Forestry) di forum ASEAN yang mengadakan pertemuan setiap tahun sejak tahun 2005. Saat ini, laboratorium deteksi PRG di BB Biogen, BPOM, dan PT Saraswanti telah mempunyai kompetensi menguji tidak saja untuk skrining tetapi juga mendeteksi spesifik *event* (Bahagiawati *et al.* 2015). Beberapa laboratorium lainnya juga mempunyai kompetensi untuk uji deteksi PRG secara kuantitatif dengan metode *realtime PCR*. Pelayanan publik banyak dilakukan oleh PT Saraswanti untuk menguji berbagai sampel terutama untuk tujuan ekspor guna mendapatkan sertifikasi non-GMO.

PROSPEK DAN TANTANGAN PENGEMBANGAN KAPASITAS LABORATORIUM DETEKSI PRODUK REKAYASA GENETIKADI INDONESIA

Beberapa metode deteksi spesifik *event* berbasis DNA maupun protein telah divalidasi dan beberapa telah diaplikasikan untuk mendeteksi PRG, Jumlah metode yang sudah divalidasi masih sedikit dibandingkan dengan jumlah *event* PRG beserta elemen genetika yang sudah dinyatakan aman di dunia. Hal ini menyulitkan untuk memonitor keberadaan PRG di lapangan. Di samping itu, metode deteksi untuk *event* yang belum disetujui oleh satu pun negara di dunia karena masih dalam tahap pengembangan juga tidak tersedia, sehingga menyulitkan mendeteksi *event* yang belum disetujui tersebut yang tanpa sengaja ada dalam suatu pengiriman (*shipment*) impor atau ekspor.

Metode deteksi yang memiliki akurasi tinggi seperti qPCR tergolong metode yang memerlukan biaya operasional yang tidak sedikit. Sebagian laboratorium hanya menggunakan metode deteksi sederhana seperti PCR dengan alasan keterbatasan dana. Oleh karena itu masih diperlukan pengembangan metode deteksi yang efisien dan akurat tetapi juga murah dan mudah dilaksanakan. Efisien di sini dapat diartikan sebagai metode yang dapat digunakan untuk mendeteksi beberapa *event* PRG secara bersamaan (*multiplex*), sehingga dapat mengurangi biaya operasional untuk deteksi dengan cakupan *event* PRG yang lebih banyak.

Saat ini, teknik ddPCR memiliki kelebihan dari beberapa metode lain yang digunakan untuk deteksi PRG. Teknik ddPCR dapat mendeteksi kuantitas secara akurat sampai volume sampel yang sedikit. Metode ini termasuk mahal dan memerlukan alat khusus untuk membuat droplet. Namun, apabila ddPCR digunakan secara *multiplex*, biaya yang digunakan dapat ditekan karena terjadi efisiensi waktu dan penggunaan bahan. Metode ini sudah mulai dikembangkan untuk analisis *multiplex* lebih dari 10 tahun yang lalu. Namun pengembangan teknik *multiplexing* lebih diutamakan pada bidang medis. Dengan demikian pengembangan untuk deteksi PRG di bidang pertanian perlu segera dilakukan.

Kemungkinan pengembangan metode deteksi dapat dibantu dengan Next Generation Sequencing (NGS), yang merupakan teknologi yang dapat melakukan pengurutan (*sequencing*) sampel secara paralel dan dalam jumlah besar (Querci *et al.* 2010). Kemampuannya yang besar (*high throughput*) untuk menghasilkan data urutan DNA genomik dari organisme membuat teknologi baru NGS ini menjadi favorit di berbagai laboratorium di dunia karena mempunyai keunggulan dibandingkan dengan beberapa teknik pengurutan DNA yang lain. Teknik ini telah digunakan untuk menentukan urutan DNA yang memiliki mutasi (Polko *et al.* 2012) dengan kualitas hasil yang memiliki akurasi memuaskan. Bahkan penelitian dengan teknik NGS dapat memberikan informasi dengan tingkat kelengkapan pada level genomik, seperti daerah *flanking* (Campbell *et al.* 2008; Milavec *et al.* 2014). Dengan demikian pemanfaatan teknik NGS sangat menjanjikan, tetapi pembiayaan dengan teknik ini perlu dipertimbangkan mengingat kebutuhannya sangat tinggi. Dalam satu dekade terakhir, beberapa metode *high throughput* lain juga dikembangkan untuk deteksi PRG (Brod *et al.* 2014).

Indonesia telah mempunyai beberapa laboratorium yang mampu mendeteksi PRG sebagai dasar untuk pengembangan metode deteksi yang mutakhir. Beberapa SDM terutama yang telah dilatih di luar negeri mempunyai kemampuan untuk mengembangkan metode dan fasilitas deteksi sesuai dengan perkembangan dunia.

Teknik yang tepat untuk dikembangkan di Indonesia harus sesuai dengan kebutuhan dan kemampuan, baik biaya maupun SDM dari masing-masing laboratorium deteksi PRG, karena tiap metode mempunyai spesifisitas tertentu.

KESIMPULAN

Pemanfaatan tanaman PRG telah berkembang pesat di dunia yang luasannya dalam waktu 23 tahun terakhir telah melebihi 100 kali lipat dari sejak pertama diedarkan. Peredaran tanaman PRG telah diatur dalam berbagai peraturan berbasis pedoman internasional. Peraturan pemanfaatan PRG juga telah berkembang di Indonesia sejak 1996 sampai sekarang, dan beberapa peraturan telah mengalami revisi. Namun demikian, beberapa peraturan masih memerlukan perbaikan sesuai dengan perkembangan jaman. Di Indonesia, beberapa PRG telah masuk dan mendapatkan sertifikasi keamanan pangan, pakan dan lingkungan. Di samping itu, beberapa fasilitas laboratorium deteksi PRG sudah ada di Indonesia sejak 2005.

Metode deteksi PRG berbasis DNA dan protein telah mengalami kemajuan yang cukup signifikan. Teknik yang digunakan lebih mengarah pada pemanfaatan instrumen maupun kit untuk mendeteksi dan mengidentifikasi lebih dari satu *event* dalam satu eksperimen. Sebaiknya laboratorium di Indonesia juga mengikuti perkembangan

metode deteksi PRG, terutama metode deteksi yang menggunakan DNA agar lebih efisien dan akurat.

Implikasi dari perkembangan metode deteksi di dunia ini adalah selayaknya laboratorium deteksi di Indonesia dilengkapi dengan dana, SDM, dan fasilitas yang memadai untuk mendeteksi PRG sesuai dengan perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi di dunia. Dengan demikian, laboratorium pengujian tidak hanya mendeteksi PRG secara skrining dan kualitatif, tapi juga mampu mendeteksi hingga ke tingkat *event* spesifik dan kuantitatif, agar dapat mengawasi peredaran PRG di Indonesia dengan sebaik-baiknya.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, N., Rampazzo, R.C.P., Costa, A.D.T. and Krieger, M.A. (2017). Current Nucleic Acid Extraction Methods and Their Implications to Point-of-Care Diagnostics. *Biomed Research International*, 2017: 9306564.
- Amirhusin, B. (2011). Agricultural Biotechnology R&D and its application in Indonesia. *Tech Monitor*. May-April 2011.
- Aryaraja, A.M. (2013). *Dominasi Amerika Serikat Dalam Perdagangan Kedelai Impor Indonesia Tahun 1998-2000. Skripsi Thesis, Universitas Airlangga. Http://Journal.Unair.Ac.Id/Download-Fullpapers-Jahi7b8dd46cbb2full.Pdf.*
- Bahagiawati (2001). Manajemen resistensi serangga hama pada pertanaman tanaman transgenik Bt. *Buletin Agrobio* 4(1):1-8.
- Bahagiawati and Herman, M. (2008). Isu dan fakta tentang tanaman produk bioteknologi. *Balai Besar Penelitian Dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. Badan Litbang Pertanian, Departemen Pertanian.* p. 17.
- Bahagiawati, Satyawan, D. and Santoso, T.J. (2019). Tanaman Hasil Genome Editing dan Tantangan Pengaturan Keamanannya di Indonesia. *Jurnal Agrobiogen* 15(2):93-106.
- Bahagiawati and Sutrisno (2007). Pemanfaatan tanaman hasil rekayasa genetik: status, regulasi dan metode deteksi di Indonesia. *Jurnal Agrobiogen* 3(1):40-48.
- Bahagiawati, T.J., S. and Refflinur (2015). Teknik PCR kuantitatif untuk deteksi produk rekayasa genetik jagung event Bt11 dan GA21. *Jurnal Agrobiogen* 11(2):65-72.
- Brod, F.C., Dijk, J.P. van, Voorhuijzen, M.M., Dinon, A.Z., Guimaraes, L.H., Scholtens, I.M., Arisi, AC, and Kok, E.J. (2014). A high-throughput method for GMO multi-detection using a microfluidic dynamic array. *Anal Bional Chem* 405(5):1397-1410.
- Broeders, S., Huber, I., Grohmann, L., Berben, G., Taverniers, I., Mazzara, M., Roosens, N., and Morisset, D. (2014). Guidelines for validation of qualitative real-time PCR methods. *Trends in Food Science and Technology* 37:115-126.
- Brondani, A. (2018). Using biotechnology to address environment sustainability and biodiversity in Brazil. *A Presentation at APEC High Level Policy Dialogue on Agriculture Biotechnology, Piura, Peru, September 19-20, 2016.*
- Brookes, G. and Barfoot, P. (2011). *GM Crops: Global Socio-Economic and Environmental Impacts 1996-2009. P.G. Economics Ltd, Dorchester, UK.http://www.pgeconomics.co.uk/pdf/2011globalimpactstudy.pdf.*
- Brookes, G. and Barfoot, P. (2018). Farm income and production impacts of using GM crop technology 1996-2016. *GM Crops & Food* 9:59-89.

- Campbell, P.J., Stephens, P.J., Pleasance, E.D., O'Meara, S., Li, H., Santarius, T., Stebbings, L. A., Leroy, C., Edkins, S., Hardy, C., Teague, J. W., Menzies, A., Goodhead, I., Turner, D. J., Clee, C. M., Quail, M. A., Cox, A., Brown, C., Durbin, R., and Futreal, P.A. (2008). Identification of somatically acquired rearrangements in cancer using genome-wide massively parallel paired-end sequencing. *Nature Genetics* **40**(6):722–729. doi: <https://doi.org/10.1038/ng.128>.
- Carpenter, J.E. (2011). Impact of GM Crops on Biodiversity. *GM Crops* **2**(1):7–23.
- Chaouachi, M., Zellama, M.S., Nabi, N., Hafsa, A.B. and Said, K. (2014). Molecular identification of four genetically modified maize (Bt11, Bt176, Mon810 and T25) by duplex quantitative Real-Time PCR. *Food Analytical Methods* **7**:224–233.
- Chen, L., Segal, D.M. and Mash, D.C. (1999). Semi-quantitative reverse-transcriptase polymerase chain reaction, an approach for the measurement of target gene expression in human brain. *Brain Research Protocols* **4**:132–139.
- Cilia, M., Fish, T., Yang, X., Mclaughlin, M., Thannhauser, T.W. and Gray, S. (2009). A comparison of protein extraction methods suitable for gel-based proteomic studies of Aphid proteins. *J. of Biomolecular Techniques* **20**:201–215.
- Datukishvili, N., Kutateladze, T., Gabriadze, I., Bitskinashvili, K. and Vishnepolsky, B. (2015). New multiplex PCR methods for rapid screening of genetically modified organisms in foods. *Frontiers in Microbiology* **6**:757–764.
- Eenennaam and Young (2014). Prevalence and impacts of genetically engineered feed stuffs on livestock populations. *J. Anim. Sci* **92**:4255–4278. doi: <https://doi.org/10.2527/jas2014-8124>.
- Estiati, A. and Herman, M. (2015). Regulasi Keamanan Hayati Produk Rekayasa Genetik di Indonesia. *Analisis Kebijakan Pertanian* **13**(2):129–146.
- Facino, A. (2012). *Penawaran Kedelai Dunia Dan Permintaan Impor Kedelai Indonesia Serta Kebijakan Perkedelai Nasional*. Departemen Agribisnis Fakultas Ekonomi Dan Manajemen IPB. <https://repository.ipb.ac.id/bitstream/handle/123456789/58077/H12afal.pdf?sequence=10&isAllowed=y>.
- Fagerström, T., Dixelius, C., Magnusson, U. and Sundström, J.F. (2012). Stop worrying; start growing. *EMBO reports* **13**(6):493–497. doi: <https://doi.org/10.1038/embor.2012.59>.
- Fedoroff, N. (2013). *GM Crops: Facts and Myths*. *World Economic Forum*. <https://www.weforum.org/agenda/2013/02/gm-crops-facts-and-myths/>.
- Fraiture, M.-A., Herman, P., Taverniers, I., Loose, M. De, Deforce, D. and Roosens, N.H. (2015). Current and New Approaches in GMO Detection: Challenges and Solutions. *Biomed Research International*. doi: <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1155/2015/39287>.
- Gilbert, N. (2013). A Hard Look at 3 Myths about Genetically Modified Crops: Superweeds? Suicides? Stealthy Genes? The True, The False and The Still Unknown about Transgenic Crops. *Nature magazine on May 1, 2013*.
- Gould, F., Amasino, R.M., Brossard, D., Buell, C.R., Dixon, R.A., Falck-Zepeda, J.B., and Al., E. (2016). *Chapter 9: Regulation of Current and Future Genetically Engineered Crops in Genetically Engineered Crops: Experiences and Prospects*.
- Griffith, K., Partis, L., Croan, D., Wang, N. and Emslie, K.R. (2002). Review of Technologies for Detecting Genetically Modified Materials in Commodities and Food. Australian Government Analytical Laboratories. *Department of Agriculture, Fish and Forestry Australia*. pp. 1–1186.
- Hefferon, K.L. (2015). Nutritionally enhanced food crops: progress and perspectives. *International of Molecular Science* **6**:3895–3914.
- Herman, M. (2013). *Tanaman produk rekayasa genetik dan kebijakan pengembangannya*. Volume 1 cekatakan kedua 2013. *Balai Besar Penelitian dan Pengembangan dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Badan Litbang Pertanian, Kementerian Pertanian*. p. 106.
- Hernandez, M., Rodriguez-Lazaro, D. and Ferrando, A. (2005). Current methodology for detection, identification and quantification of genetically modified organisms. *Current analytical chemistry* **1**:203–221.
- Hernandez, M., Rodriguez-Lazaro, D., Zhang, D., Esteve, T., Pla, M. and Prat, S. (2005). Interlaboratory Transfer of a PCR Multiplex Method for Simultaneous Detection of Four Genetically Modified Maize Lines: Bt11, MON810, T25 and GA21. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**(3333–3337).
- Hijjawi, N., Yang, R., Hatmal, M., Yassin, Y., Mharib, T., Mukbel, R., Mahmoud, S., Al-Shudifat, A., and Ryan, U. (2018). Comparison of ELISA, nested PCR and sequencing and a novel qPCR for detection of Giardia isolates from Jordan. *Experimental Parasitology* **185**:23–28.
- Holst-Jensen, A. (2009). Testing for genetically modified organisms (GMOs): past, present and future perspectives. *Biotechnology Advances* **27**:107–1082.
- Huang, X., Zhai, C., You, Q. and Chen, H. (2014). Potential of cross-priming amplification and DNA-based lateral-flow strip biosensor for rapid on-site GMO screening. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **406**(4243–4249).
- ISAAA (2018). Global status of commercialized biotech/GM crops in 2018: Biotech crops continue to help market meet the challenges of increased population and climate change. *ISAAA Brief No. 54*.
- James, C. (2003). Preview: Global status of commercially transgenic crops: 2003. *ISAAA Brief No. 30*. Ithaca, New York.
- James, C. (2011). Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2011. *ISAAA Brief No. 43*. ISAAA: Ithaca, NY.
- James, C. (2017). Global status of commercialized biotech/GM Crops in 2017. *ISAAA Brief No. 53*.
- Kamle, S., Li, D., Ojha, A. and Kumar, A. (2018). Development of an Enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of GM proteins in transgenic crops/produce in Transgenic cotton. *Springer Nature*. pp. 159–166.
- Kementan (2018). Outlook Kedelai: Komoditas Pertanian Tanaman Pangan. *Pusat Data Dan Sistem Informasi Pertanian. Sekretaris Jenderal, Kementan*. 2018. <http://Epublikasi.Pertanian.Go.Id/Arsip-Outlook/81-Outlook-Tanaman-Pangan/682-Outlook-Kedelai-Dibuat-2019#2/24-Februari-2019;Diunduh-22-Juni-2020>.
- Kementerian Koordinator Perekonomian (2019). Peta jalan pengembangan benih produk rekayasa genetik (PRG). *Deputi Bidang Koordinasi Pangan dan Pertanian. Kementerian Koordinator Bidang Perekonomian*. p. 96.
- Klumper, W. and Qaim, M. (2014). A meta-analysis of the impacts of genetically modified crops. *Plos One November 2014* **9**(11).
- Korn, T., Bettelli, E., Oukka, M. and Kuchroo, V.K. (2009). IL-17 and Th17 cells. *Annual review of immunology* **27**:485–517.
- Li, Y., Fan, P., Zhou, S. and Zhang, L. (2017). Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): A novel rapid detection platform for pathogens. *Microbial Pathogenesis* **107**:54–61.
- Li, Y., Xiong, T., Wu, H. and Yang, Y. (2016). Visual DNA microarray coupled with multiplex-PCR for the rapid detection of twelve genetically modified maize. *BioChip Journal* **10**:42–47.
- Lindstedt, B.-A., Vardund, T., Aas, L. and Kapperud, G. (2004). Multiple-locus variable-number tandem-repeats analysis of Salmonella enterica subsp. Enterica serovar Typhimurium using

- PCR multiplexing and multicolor capillary electrophoresis. *Journal of Microbiological Methods* **59**:163–172.
- Lipp, M., Shillito, R., Giroux, R., Spiegelhalter, F., Charlton, S., Pinero, D. and Song, P. (2005). Polymerase Chain Reaction Technology as an analytical tool in Agricultural Biotechnology. *Journal of AOAC International* **88**(1):36–155.
- Malik, K., Sadia, H. and Basit, M.H. (2018). Protein-Based Detection Methods for Genetically Modified Crops. *Protein-Protein Interaction Assays*. InTech.
- Maskar, D.H., Hardinsyah, Damayanthi, E., Astawan, M. and Wresdiyati, T. (2015). Evaluasi Kesepadanan mutu gizi tempe kedelai pangan rekayasa genetik (PRG) dan non-PRG serta dampak konsumsi pada tikus percobaan. *J. Gizi Pangan* **10**(3):207–216.
- Matthes, N., Westphal, K., Haldemann, C., Egert, M., Jokisch, C. and Speck, B. (2020). Validation of a modified CTAB method for DNA extraction from protein-rich maize feedstuffs. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*. doi: <https://doi.org/10.1007/s00003-020-01285-y>.
- Milavec, M., Dobnik, D., Yang, L., Zhang, D., Gruden, K. and Žel, J. (2014). GMO quantification: valuable experience and insights for the future. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **406**(26):6485–6497. doi: <https://doi.org/10.1007/s00216-014-8077-0>.
- Oliver, M.J. (2014). Why we need GMO crops in Agriculture. *Mo Med*. 2014 Nov-Dec **111**(6):492–507.
- Parrott, W. (2010). Genetically modified myths and realities. *New Biotechnology* **27**(5):545–551. doi: <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2010.05.016>.
- Polko, J.K., Temanni, M.-R., van Zanten, M., van Workum, W., Iburg, S., Pierik, R., Voesenek, L.A.C.J., and Peeters, A.J.M. (2012). Illumina Sequencing Technology as a Method of Identifying T-DNA Insertion Loci in Activation-Tagged Arabidopsis thaliana Plants. *Molecular Plant* **5**(4):948–950. doi: <https://doi.org/10.1093/mp/sss022>.
- Prasetya, B. (2019). *Regulasi Produk Rekayasa Genetik Di Indonesia*. FGD KTNA, Jakarta, 1 Oktober 2019.
- Prawirodiputro, B.R. and Muharsini, S. (2017). Tanaman pakan dan bahan pakan transgenik di Indonesia. Peluang dan kendala pengembangannya. *Wartazoa* **23**(4):159–165.
- Querci, M., Bulcke, M. Van den, Zel, J., Eede, G. Van den and Broll, H. (2010). New approaches in GMO detection. *Analytical and Bioanalytical chemistry* **396**:1991–2002.
- Randhawa, G., Singh, M. and Sood, P. (2016). DNA-based methods for detection of genetically modified events in food and supply chain. *Current Science* **110**:1000–1009.
- Raymond, P., Gendron, L., Khalf, M., Paul, S., Dibley, K.L., Bhat, S., and Emslie, K.R. (2009). Detection and identification of multiple genetically modified events using DNA insert fingerprinting. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **396**:2091–2102.
- Rusli, E.S., Samodra, H., Permana, N.D., Aini, L., Noerachman, T., Hudri, A.S., and Suryaman, I. (2007). Pedoman teknik pengambilan sampel biji-bijian untuk benih. *Pusat Karantina Tumbuhan, Badan Karantina Pertanian*. p. 58.
- Salisu, I.B., Shahid, A.A., Yaqoob, A., Ali, Q., Bajwa, K.S., Rao, A.Q. and Husnain, T. (2017). Molecular Approaches for High Throughput Detection and Quantification of Genetically Modified Crops: A Review. *Frontiers in Plant Science* **8**:1–11.
- Singh, M., Bhoge, R.K. and Randhawa, G. (2016). Crop-specific GMO matrix-multiplex PCR: A cost-efficient screening strategy for genetically modified maize and cotton events approved globally. *Food Control* **70**:271–280.
- Taylor, S.C., Laperriere, G. and Germain, H. (2017). Droplet digital PCR versus qPCR for gene expression analysis without low abundant targets: from variable nonsense to publication quality data. *Scientific reports* **7**:2409.
- Tsuji, S., Iguchi, Y., Shibata, N., Teramura, I., Kitagawa, T. and Yamanaka, H. (2018). Real-time multiplex PCR for simultaneous detection of multiple species from environmental DNA: an application on two Japanese medaka species. *Scientific Reports* **8**:9138. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-01827434-w>.
- Turci, M., Sardaro, M.L.S., Visioli, G., Maestri, E., Marmiroli, M. and Marmiroli, N. (2010). Evaluation of DNA extraction procedures for traceability of various tomato products. *Food Control* **21**(2):143–149.
- Waiblinger, H.-U., Ernst, B., Anderson, A. and Pietsch, K. (2008). Validation and collaborative study of a P35S and T-nos duplex real-time PCR screening method to detect genetically modified organisms in food products. *Eur Food Res Technol* **226**:1221–1228.
- Wang, W., Xia, H., Yang, X., Xu, T., Si, H.J., Cai, X.X., and Lu, B.R. (2015). A novel 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate (EPSP) synthase transgene for glyphosate resistance stimulates growth and fecundity in weedy rice (*Oriza sativa*) without herbicide. *New Phytologist* **202**:679–688.
- Wu, H., Zhang, Y., Zhu, C., Xiao, X., Zhou, X., Xu, S., and Huang, M. (2012). Presence of CP\$-EPSPS component in roundup ready soybean-derived food products. *International J. of Molecular Sciences* **13**:1919–1932.
- Xia, Y., Chen, F., Du, Y., Liu, C., Bu, G., Xin, Y. and Liu, B. (2019). A modified SDS-based DNA extraction method from raw soybean. *Bioscience Reports* **39**(2). doi: <https://doi.org/10.1042/BSR20182271>.
- Xu, J., Miao, H., Wu, H., Huang, W., Tang, R., Qiu, M., Huang Y, Fu X, and Y. Li (2006). Screening genetically modified organisms using multiplex-PCR coupled with oligonucleotide microarray. *Biosensors and Bioelectronics* **22**:71–77.
- Zhang, D. and Guo, J. (2011). The development and standardization of testing methods for genetically modified organism and their derived products. *J. Integr. Plant Biol* **53**(7):539–551.
- Zhang, M., Liu, Y., Chen, L., Quan, S., Jiang, S., Zhang, D. and Yang, L. (2013). One simple DNA extraction device and its combination with modified visual loop-mediated isothermal amplification for rapin on-field detection of genetically modified organisms. *Analytical Chemistry* **85**:75–82.