

Dosen:  
Prof. Dr. Ir. Rudy C. Tarumingkeng (penanggung jawab)  
Prof. Dr. Ir. Zahrial Coto  
Dr Hardjanto, MS

## **BIOTEKNOLOGI DAN APLIKASINYA DI BERBAGAI BIDANG: SUATU TINJAUAN UMUM**

### **Oleh Kelompok 9:**

<b>Amran Saru</b>	<b>(C261040041)</b>
<b>A. Rika Pratiwi</b>	<b>(F261040061)</b>
<b>Bayu Rosadi<sup>*)</sup></b>	<b>(B061040041)</b>
<b>Danik Dania A</b>	<b>(F261040071)</b>
<b>Enny T. Setiatin</b>	<b>(B061040011)</b>
<b>Heryudarini</b>	<b>(A561040061)</b>
<b>Margareta R</b>	<b>(E061040021)</b>
<b>Nur Aini</b>	<b>(F261040021)</b>
<b>Nusa Setiani</b>	<b>(C561040051)</b>
<b>Rusli R.</b>	<b>(A461040021)</b>
<b>Satya Gunawan</b>	<b>(B061040051)</b>
<b>Sri Rahayu</b>	<b>(F261040031)</b>
<b>T. Ersti Yulika Sari</b>	<b>(C561040021)</b>
<b>Thomas Matahine</b>	<b>(B061040021)</b>
<b>Yulia Yelita</b>	<b>(B061030051)</b>

### **I. PENDAHULUAN**

Bioteknologi adalah ilmu biologi molekuler berikut teknik dan aplikasinya yang digunakan untuk memodifikasi, memanipulasi atau merubah proses kehidupan normal dari organisme-organisme dan jaringan-jaringan guna meningkatkan kinerjanya bagi keperluan manusia (Hodges, 2000). Bioteknologi memiliki kekhasan dalam hal kemungkinan transfer ciri-ciri organisme melalui proses rekayasa biologi yang tidak mungkin terjadi secara alamiah.

Perkembangan bioteknologi dalam dasawarsa terakhir sangat pesat, suatu kondisi yang diprediksikan John Naisbitt (futurollog terkemuka dunia) tentang abad 21

---

<sup>\*)</sup> Correspondence address : bayurosadi@bima.ipb.ac.id

sebagai abad bioteknologi dan informasi. Wacana bioteknologi telah meluas, tidak terbatas pada komunitas ilmiah saja, tetapi telah memasuki ranah kepedulian publik. Keterlibatan publik dalam masalah ini wajar mengingat produk bioteknologi konvergen dengan kepentingan esensial manusia baik sebagai makhluk biologis maupun makhluk sosial. Terlepas dari perdebatan aspek etis dan dampak sosialnya, bioteknologi memberikan harapan baru pada umat manusia dalam menghadapi permasalahan global seperti kesenjangan antara ketersediaan pangan dengan pertumbuhan populasi penduduk dunia, dan penurunan kualitas lingkungan yang berimplikasi luas terhadap kualitas hidup manusia secara keseluruhan.

Penelitian-penelitian bioteknologi intens dilakukan pada berbagai bidang di banyak negara. Hal yang menarik diamati, meskipun penguasaan bioteknologi masih dominan oleh negara-negara maju (dalam kancah politik global sering disebut “kelompok Utara”) tetapi sebagian negara berkembang (kelompok Selatan) mulai menunjukkan kemajuan berarti dalam pengembangan industri berbasis bioteknologi seperti yang terjadi di Kuba. Sepertinya ada kesadaran dari para pembuat kebijakan di negara-negara tersebut bahwa eksistensi negara di masa depan lebih kuat jika ditopang penguasaan bioteknologi.

Intensifnya penelitian-penelitian bioteknologi telah melahirkan berbagai penemuan berupa fenomena saintifik baru, metode dan produk bioteknologi. Metode dan produk bioteknologi telah diaplikasikan pada berbagai bidang baik dalam skala luas (industri) maupun skala percobaan. Makalah ini mengupas aplikasi bioteknologi dalam berbagai bidang, isu terkait, perkembangan teknologi dan kebijakan penerapan bioteknologi.

## **II. KEANEKARAGAMAN HAYATI SEBAGAI ISU STRATEGIS APLIKASI BIOTEKNOLOGI**

Salah satu isu penting yang menjadi bahan perdebatan dalam forum-forum diplomatik resmi dan forum-forum ilmiah bioteknologi adalah keanekaragaman hayati. Isu ini terkait dengan isu lain yang mengemuka seperti hak kekayaan intelektual, ketimpangan ekonomi global antara “Utara” dan “Selatan”, etika, dan penerimaan publik terhadap produk bioteknologi. Realitas saat ini menunjukkan terjadinya kesenjangan antara penguasaan bioteknologi dan kekayaan sumber daya hayati. Negara-negara maju memimpin dalam pengembangan bioteknologi meskipun miskin sumber daya hayati, sebaliknya negara berkembang yang jauh lebih kaya sumber daya hayati tertinggal dalam penguasaan bioteknologi. Sebagai akibatnya, negara maju yang diwakili sejumlah perusahaan multinasional memegang kendali atas pengembangan dan bisnis produk bioteknologi yang bahan dasarnya sebagian besar justru berasal dari negara-negara berkembang. Indikasinya terlihat dari banyaknya hak paten produk bioteknologi yang

dimiliki negara-negara maju sedangkan negara-negara berkembang dengan jumlah penduduk yang besar masih dominan bertindak sebagai konsumen.

Kekayaan sumber daya hayati merupakan modal berharga untuk pengembangan bioteknologi. Beragam produk pangan, bahan biomedis, kosmetika dan bahan baku industri yang sangat dibutuhkan dapat dihasilkan dengan pengolahan dan rekayasa bahan-bahan hayati menggunakan bioteknologi. Tren perkembangan industri produk bioteknologi cenderung meningkat dari tahun ke tahun. Hal ini didukung oleh sifat sumber daya hayati sebagai bahan dasar produk bioteknologi yang dapat diperbaharui. Industri bioteknologi potensial menjadi industri utama di masa depan termasuk bagi negara-negara berkembang seperti Indonesia. Di sisi lain pemanfaatan bioteknologi secara bijaksana dapat mendukung upaya konservasi keanekaragaman hayati.

## **2.1. Bioteknologi dan Konservasi Sumberdaya Hayati**

Indonesia merupakan salah satu negara berkembang yang memiliki keanekaragaman hayati tinggi, urutan ke-2 setelah Brasilia. Wilayah darat Indonesia hanya 1,3 persen dari seluruh wilayah darat dunia, tetapi di dalamnya terkandung 10 persen dari spesies tanaman dunia, 12 persen spesies mamalia, 16 persen spesies reptil dan amfibi dan 17 persen spesies burung. Indonesia memiliki 7 kawasan biogeografi yang penting aneka ragam habitat. Banyak pulau yang terpencil selama ribuan tahun, karena itu tingkat endemisme sangat tinggi (Barber *et al*, 1997)

Keanekaragaman hayati Indonesia sebagian telah dimanfaatkan, sebagian baru diketahui jenis dan potensinya, dan sebagian lagi belum diketahui baik jenis, nama maupun manfaatnya. Gejala penyusutan keanekaragaman hayati di Indonesia semakin terasa pada akhir-akhir ini sehingga upaya pelestariannya perlu mendapat perhatian yang cukup serius. Peran bioteknologi dalam mengurangi laju kerusakan sumberdaya alam hayati sangat diharapkan, terutama dalam hal peningkatan produktivitas tanaman dan ternak, yang akan menurunkan intensitas tekanan terhadap plasma nutfah yang dikonservasi. Bioteknologi juga dapat digunakan untuk mempercepat pengembangbiakan tanaman, hewan dan sumber daya hayati lain yang terancam punah.

Masyarakat akan dapat merasakan manfaat secara maksimal jika bioteknologi dikembangkan dan diterapkan secara bijaksana. Dampak negatif dari aplikasi bioteknologi terhadap lingkungan harus dihindari. Tersebarinya jenis tanaman dan ternak hasil rekayasa genetik yang belum diketahui secara menyeluruh baik sifat maupun pengaruhnya terhadap lingkungan, dapat mengakibatkan tercemarnya keanekaragaman hayati Indonesia. Kebijakan, konsep, dan strategi pengamanan keanekaragaman hayati untuk menghadapi perkembangan kebutuhan akan produk dan produktivitas dari

sumber daya alam khususnya kekayaan keanekaragaman hayati perlu dikaji secara mendalam (Sugandhy, 1995).

Salah satu upaya pemerintah untuk mengatasi hal tersebut telah tertuang dalam Undang-Undang Nomor 5 tahun 1990. Dalam Undang-undang tersebut tercantum 3 prinsip dasar konservasi sumberdaya alam hayati dan ekosistemnya, yaitu :

1. Perlindungan sistem penyangga kehidupan
2. Pengawetan keanekaragaman jenis tumbuhan dan satwa beserta ekosistemnya, yaitu upaya pencegahan terhadap kepunahan jenis.
3. Pemanfaatan secara lestari sumber daya alam hayati dan ekosistemnya

Dalam konsep konservasi tersebut, pemanfaatan keanekaragaman hayati tidak boleh meninggalkan prinsip-prinsip pengawetan keanekaragaman jenis dan perlindungan sistem penyangga kehidupan. Hal ini berarti pengembangan dan pemanfaatan melalui bioteknologi masih tetap harus mengindahkan kaidah-kaidah pengawetan. Pelepasan atau pengembangan budidaya organisme hasil rekayasa genetika harus melalui suatu mekanisme tertentu sehingga gen-gen hasil rekayasa genetik tidak menyebabkan terjadinya pencemaran biologis pada jenis-jenis asli. Keadaan ini dapat mengancam keanekaragaman hayati karena organisme yang telah diubah secara genetika dapat bermutasi dan berubah dengan akibat pada lingkungan dan kesehatan yang tidak dapat diperkirakan. Sekali organisme dilepaskan ke alam kemudian berkembang biak, gen hasil rekayasa ini tidak dapat diisolasi kembali dari lingkungan. Dengan demikian untuk memastikan keamanannya, pengembangan, penerapan, pertukaran dan pengalihan bioteknologi melalui kerjasama internasional harus berdasarkan pada : manajemen penelaahan dan analisis resiko, serta minimasi tingkat resiko (disebutkan dalam agenda 21 KTT bumi Rio de Janeiro 1992).

Mempertimbangkan aspek kesehatan masyarakat dan lingkungan hidup, sebelum produk bioteknologi dipasarkan, maka produk tersebut harus memenuhi persyaratan, seperti keamanan dan mutu pangan. Bagi Indonesia sebagai salah satu pusat keanekaragaman hayati terbesar diperlukan suatu peraturan pelaksanaan dari UU No. 5 tahun 1990 dan UU No. 5 tahun 1994 mengenai pengamanan keanekaragaman hayati untuk mencegah terjadinya pencurian sumberdaya genetik dan juga mencegah dijadikannya Indonesia sebagai ajang percobaan pelepasan organisme hasil rekayasa genetika yang akan mengancam kelestarian sumberdaya hayati.

## **2.2. Bioteknologi dan Keanekaragaman Hayati Ternak**

Estimasi menunjukkan bahwa terdapat 30 juta atau lebih organisme yang hidup di bumi, 15.000 adalah burung dan mamalia, hanya 30 spesies ditenakan untuk produksi

pangan dan pertanian. Adanya tekanan peningkatan populasi terhadap lingkungan, keanekaragaman hayati penting artinya sebagai antisipasi kebutuhan masa depan yang dipengaruhi berbagai hal termasuk perubahan iklim. Selama domestikasi, tipe-tipe atau bangsa-bangsa ternak terpisah secara genetik, terbentuk sesuai iklim lokal dan kebutuhan komunitas lokal sehingga dihasilkan sekitar 4000 *breed* (Hodges, 1990). Proses ini membentuk sumberdaya genetik ternak pionir untuk pangan dan pertanian.

Kebutuhan masa depan perlu diperhitungkan selain fokus pada kebutuhan saat ini dalam seleksi genetik. Satu contoh dapat diambil pada produktivitas ternak. Berdasarkan kriteria produksi saja, sapi FH adalah ternak penghasil susu terbaik, domba Merino menghasilkan wool dengan kualitas terbaik. Perdebatan akan timbul jika memproyeksikan masa depan dalam memilih jenis ternak yang sesuai, *breed* mana yang paling efisien, dan *breed* mana yang paling mampu melakukan harmonisasi dengan lingkungan pada saat ini dan di masa yang akan datang. Perubahan iklim, munculnya penyakit baru, ketersediaan pakan adalah hal yang harus dipertimbangkan. Demikian pula halnya dengan kesadaran, perubahan selera dan gaya hidup konsumen. Erosi keanekaragaman hayati pada ternak akan meningkatkan kerentanan penyediaan pangan di masa depan jika tidak diperhatikan dengan sungguh-sungguh.

Ternak-ternak dengan variasi genetik besar dapat diarahkan untuk tujuan tertentu dengan seleksi genetik yang didukung bioteknologi. Studi genom ternak menggunakan genetika molekuler meningkatkan pemahaman variasi genetik pada tingkat gen-gen individual. Saat ini telah dicapai kemajuan dalam pengembangan peta genetik resolusi rendah. Peta dibuat berdasarkan *microsatelit loci* yang mencakup sebagian besar genom untuk babi, domba, sapi, dan unggas (contoh European PiGMaP, BovMaP dan Chick Map). Tujuannya adalah mengkonsolidasi hasil-hasil program pemetaan gen di Amerika Utara, Eropa, Australasia ke dalam informasi database serta untuk identifikasi *syntenic group* dari gen-gen (Andersson *et al*, 1996). Hasil kerja ini diharapkan dapat menyediakan informasi untuk seleksi-seleksi yang menggunakan marker gen pada sifat-sifat yang berharga. Upaya seleksi dengan cara tersebut mengalami kendala karena sifat-sifat komersial penting diatur oleh *linked genes* yang berlokasi pada beberapa site genom.

Mengantisipasi kebutuhan manusia akan produk pangan dan biomedis di masa depan, maka keberadaan sumber daya hayati yang beraneka ragam menjadi penting untuk dipertahankan. Urgensi konservasi keanekaragaman hayati ternak tidak dapat dinafikan hanya karena terbentur masalah klasik yaitu ketersediaan anggaran. Faktanya, biaya manajemen yang dibutuhkan untuk mempertahankan cadangan genetik yang masih eksis tidak berarti dibandingkan biaya tinggi yang diperlukan untuk membuat *breed* secara artificial sesuai perubahan spesifik lingkungan dalam bentuk stabil dan

berkelanjutan. Berpijak dari pemikiran itu, FAO telah melaksanakan program berbasis molekuler untuk memperluas pengetahuan genetik pada setiap spesies ternak. Upaya ini merupakan perluasan dari inisiatif yang telah dilaksanakan oleh India, Brasil, USA, Eropa, Amerika Latin, dan Skandinavia (Hammond, 1993). Indonesia sebagai salah satu negara terkaya dalam keanekaragaman hayatinya belum memulai upaya serupa.

### III. BIOTEKNOLOGI TANAMAN DAN PANGAN

#### 3.1. Tanaman Transgenik

Tanaman transgenik diperoleh dengan menyisipkan gen-gen tertentu baik berasal dari tanaman, hewan atau mikroorganisme ke dalam DNA tanaman. Adanya gen baru yang disisipkan akan merubah sifat tanaman sesuai yang diinginkan atau memberikan kemampuan pada tanaman untuk memproduksi substansi baru yang diperlukan untuk tujuan tertentu. Dengan teknik ini diperoleh tanaman yang mempunyai sifat baru seperti tahan hama dan penyakit dan menghasilkan senyawa baru yang penting baik untuk tanaman itu sendiri maupun kepentingan manusia. Beberapa tanaman hasil rekayasa genetika diantaranya adalah:

1. *Round Up Ready R Soybean* yaitu kedelai yang toleran terhadap senyawa aktif glifosfat yang terdapat pada herbisida.
2. Tomat yang dirancang agar proses pematangannya terhambat sehingga lebih tahan lama.
3. Kapas dan jagung *Bt*, yaitu kapas dan jagung yang dirancang mengandung protein insektisida yang berasal dari bakteri *Bacillus thuringiensis* (Bt).
4. Beras yang mengandung vitamin A (*golden rice*)
5. Tanaman pisang penghasil protein asing (baik untuk nutrisi maupun obat)

Tanaman dan produk tanaman transgenik sudah beredar di pasaran, sebagian besar diproduksi perusahaan multinasional, sebagian diproduksi dalam skala kecil oleh laboratorium riset di berbagai negara. Di Indonesia sedang dikembangkan dua jenis padi transgenik oleh DR. Inez Loedin dari Pusat Penelitian Bioteknologi (P2 Biotek) LIPI bekerja sama dengan Badan Penelitian Biologi, Deptan, Universitas Leiden dan Plant Research International (PRI). Padi ini merupakan padi yang tahan kering dan tahan hama penggerek. Dr. Arief Witarto dan koleganya juga dari LIPI sedang mengembangkan "protein farming" yaitu tanaman transgenik dari tanaman biasa yang sudah dikenal seperti pohon pisang yang direkayasa sedemikian rupa sehingga mampu menghasilkan protein-

protein yang diinginkan. Protein-protein nantinya diperbanyak mengikuti perkembangbiakan tanaman induk secara terus-menerus dan masal seperti bercocok tanam biasa.

Di lapangan para petani di Indonesia sudah menanam kapas transgenik produksi Monsanto. Pengembangan tanaman ini telah menimbulkan pro dan kontra terhadap resiko yang akan ditimbulkannya. Penanaman tanaman transgenik secara masal perlu dilakukan secara hati-hati untuk menghindari dampak negatifnya.

### ***Dampak terhadap Organisme Non Target***

Tanaman transgenik berpengaruh terhadap orthopoda yang berasosiasi dengannya, terlebih yang berguna sebagai musuh alami hama. Kejadian lain apabila populasi hawa (sebagai inang musuh alam) rendah di lapangan akibat dari penanaman tanaman transgenik. Sebagai contoh, penggunaan tanaman transgenik mengandung gen *Bt* secara tidak langsung akan mirip dengan penggunaan pestisida secara berlebihan karena *Bt* selalu berada di dalam tanaman, sehingga akan dikhawatirkan menghasilkan dampak seperti penggunaan pestisida, resistensi, resurgensi dan peledakan hama sekunder.

### ***Aliran Gen***

Penyebaran gen dalam konteks ruang melalui pencemaran polutan, dapat mengakibatkan mengalirnya gen dari suatu spesies ke spesies lain. Dampak paling besar dari aliran gen ini adalah bila suatu gen beralir dari tanaman pertanian ke tanaman liar (wild plant) yang masih berkerabat dengan tanaman pertanian tersebut terutama gen tahan/ resisten (terhadap antibiotik ataupun terhadap hama dan herbisida). Pencemaran genetik juga dapat menurunkan keragaman (seperti fertilitas, kemampuan reproduksi dan ketahanan terhadap serangan hama dan penyakit).

## **3.2. Pemanfaatan Enzim untuk Pangan**

Enzim secara umum merupakan zat yang dalam jumlah kecil dapat mempercepat suatu reaksi  $10^{12}$ - $10^{20}$  kali, tanpa ikut terlibat dalam reaksi tersebut. Enzim dikenal juga sebagai katalis biologis (biokatalisator). Keunggulan enzim dibanding katalisator kimia adalah karena sifatnya yang efisien, selektif, dapat diprediksi, proses reaksi tanpa produk samping dan ramah lingkungan.

Enzim secara alamiah terdapat di alam dalam jumlah melimpah, yaitu pada tanaman, binatang, dan mikroba. Nenek moyang kita telah lama mengetahui dan

memanfaatkan khasiat dan kerja enzim. Pembuatan keju, tempe, tape, anggur, roti, pengempuk daging dan masih banyak produk-produk lainnya, merupakan bukti nyata pemanfaatan enzim yang sudah cukup lama dilakukan. Prospek yang dikandung enzim khususnya dalam bidang pangan cukup besar. Industri-industri manca negara sangat membutuhkan pasokan enzim dari negara penghasil enzim dalam jumlah dan jenis yang tidak sedikit.

### ***Enzim sebagai Pengempuk Daging***

Salah satu penilaian mutu daging adalah sifat keempukannya yang dapat dinyatakan dengan sifat mudahnya dikunyah. Faktor-faktor yang mempengaruhi keempukan daging baru sebagian saja yang dapat diungkapkan. Dalam proses keempukan daging, banyak enzim yang terlibat. Untuk mendapatkan daging yang empuk telah diusahakan berbagai cara, salah satu cara praktis yaitu dengan menggunakan enzim protease kasar maupun murni. Enzim protease dewasa ini sudah diproduksi dalam skala industri, dan penggunaannya dalam keluarga dan restoran sudah diterima dengan baik. Enzim protease yang telah lama digunakan untuk pengempukan daging berasal dari tanaman seperti pepaya, nanas, dan getah pohon *Ficus*. Disamping itu, protease untuk pengempuk daging dapat pula diperoleh dari mikroba, misalnya *Bacillus subtilis* dan *Aspergillus oryzae*. Penggunaan enzim dapat dilakukan dengan cara menaburkan bubuk enzim pada permukaan daging mentah, dengan merendam daging pada larutan enzim, atau dengan menyemprotkan (*spraying*) larutan enzim. Cara lain yang juga dapat digunakan dengan sistem aerosol atau dengan penyuntikan larutan enzim pada beberapa tempat pada karkas atau daging segar, atau bahkan penyuntikan pada ternak hidup.

### ***Pemanfaatan Enzim dalam Pembuatan Keju***

Pada proses pembuatan keju, penggunaan  $H_2O_2$  mempunyai keuntungan dibandingkan pasteurisasi susu. Seperti diketahui pasteurisasi susu bukan hanya dapat memusnahkan kuman patogen tetapi juga beberapa mikroba pembentuk asam, dan menginaktivkan enzim alami. Sedangkan penggunaan  $H_2O_2$  sangat bermanfaat dalam mereduksi jumlah kuman patogen dan menginaktivasi enzim katalase dan peroksidase, tetapi masih memungkinkan bakteri-bakteri asam laktat tumbuh, serta tidak mempengaruhi keaktifan enzim lipase, protease, dan fosfatase.

Dalam industri keju (*Swiss Cheese*) yang besar, cara  $H_2O_2$ -katalase telah lama digunakan karena dapat memperbaiki tekstur dan memusnahkan mikroba-mikroba yang tidak dikehendaki. Praktek penggunaan  $H_2O_2$ -katalase adalah sebagai berikut: 0,02% (dari 100 %  $H_2O_2$ ), ditambahkan langsung ke dalam tangki-tangki susu pada suhu 30-

31°C dan dibiarkan 20 menit sebelum ditambahkan katalase sampai 20 ppm. Biasanya H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yang ditambahkan dengan konsentrasi dibawah 35 %.

Contoh pemanfaatan enzim dalam bidang pangan secara luas, dapat dilihat pada Tabel 1:

Tabel 1. Jenis-jenis Enzim dan Kegunaannya

No	Jenis Enzim	Sumber	Kegunaan
1.	Pemecah pati (amilase)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tanaman</li> <li>• Hewan</li> <li>• Fungi</li> </ul> Mikroba : <i>A. awami, A. niger, dll</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Menghasilkan glukosa</li> <li>• Menghasilkan dekstrin</li> <li>• Menghasilkan maltosa</li> </ul> (industri sirup, dekstrosa, roti, nanbantu pencernaan )
2.	Pektik	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Jaringan buah-buahan</li> <li>• Mikroba <i>Aspergillus niger</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Menghasilkan pectin (sangat penting dalam industri jelly)</li> </ul>
3.	Naringinase	<ul style="list-style-type: none"> <li>•</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Menghilangkan rasa pahit pada kulit jeruk</li> </ul>
4.	Renin	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Abomasum anak sapi</li> <li>• Mikroba : <i>Mucor miechei, M. pusillus, Endothia parasitica</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Proses pembuatan keju (pembentukan <i>curd</i>)</li> </ul>
5.	Papain	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tanaman pepaya : daun, buah, batang</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mengempukkan daging</li> </ul>
6.	Bromelin	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Buah nanas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mengempukkan daging</li> </ul>
7.	Lipase	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hewan</li> <li>• Tanaman</li> <li>• Miroba : <i>Rhizopus rhizus</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Menambah flavor pada beberapa produk es krim, keju, margarin, produk coklat</li> <li>• Meningkatkan pengembangan</li> </ul>

### **Enzim Termostabil**

Kelemahan enzim yang utama adalah sifatnya yang rapuh terhadap lingkungan ekstrim (khususnya suhu) dan proses produksinya padat modal. Enzim-enzim yang sekarang digunakan dalam berbagai industri umumnya bersifat tidak tahan panas. Hingga saat ini peranan enzim-enzim pangan yang bersifat termostabil menjadi semakin penting dalam dunia industri. Hal ini berkaitan dengan keuntungan yang akan diperoleh bila proses produksi dilakukan pada suhu tinggi, diantaranya adalah mengurangi kontaminan, meningkatkan, kecepatan transfer masa dan menurunkan viskositas larutan.

Eksplorasi mikroba termofilik yang menghasilkan enzim termostabil telah dilakukan oleh Laboratorium Mikrobiologi dan Biokimia Pusat Penelitian Bioteknologi IPB sejak tahun 1997. *Bacillus* K29-14 yang diisolasi dari Kawah kamojang dilaporkan menghasilkan enzim kitinase dan kitin deasetilase yang stabil pada suhu 55°C. Enzim kitinase diketahui memiliki berat molekul 63 kDa (Rahayu et al, 2004). Isolat bakteri yang diisolasi GP18 yang diisolasi dari Gunung Pancar menghasilkan enzim kitinase yang stabil pada suhu 70°C dan 75°C. Analisis perbandingan sekuens gen penyandi 16S-rRNA menunjukkan isolat GP 18 termasuk genus *Bacillus* yang mungkin merupakan spesies baru (Lestari, 2000). *Bacillus licheniformis* MB-2 yang diisolasi dari sumber air panas di Manado menghasilkan enzim kitosanase yang bersifat stabil pada suhu 70°C dengan berat molekul 75 kDa (Chasanah, 2003). Aktivitas enzim-enzim pendegradasi kitin (kitinase, kitin deasetilase dan kitosanase) menghasilkan produk-produk turunan yang penting dalam industri obat, kosmetik, pangan, pertanian, pengolahan limbah dan bioteknologi.

Enzim protease termostabil juga berhasil dipelajari dari isolat yang berhasil diolasi dari berbagai sumber air panas. Protease termostabil yang mempunyai aktivitas optimal pada suhu 70°C dihasilkan oleh isolat TPS-2d dan GP-04 yang diisolasi dari Gunung Tangkuban Perahu dan Gunung pancar. Sejumlah 34 isolat dari daerah geotermal di Sulawesi Utara dan Sumatera Selatan diketahui mampu tumbuh optimal pada suhu 70°C dan menghasilkan protease termostabil. Eksplorasi di Likupang (Sulawesi Utara) juga menghasilkan isolat yang menghasilkan enzim keratinase termostabil (Chasanah, 2003).

### **Keamanan Penggunaan enzim pada makanan**

Enzim secara umum telah dikonsumsi manusia dalam jumlah yang relatif sedikit sampai sedang. Enzim secara murni tidak merupakan bahan yang beracun, hanya saja karena enzim merupakan molekul protein, beberapa orang ada yang memberikan respon

alergik. Beberapa enzim dari mikroba, diproduksi dari jenis-jenis mikroba yang yang tidak memproduksi racun. Secara aturan, penggunaan enzim ini dibatasi jumlahnya, misalnya enzim papain 0,1 %, katalase 20 ppm, lipoksidase 0,5% dan seterusnya.

#### **4. PEMANFAATAN BIOTEKNOLOGI DI WILAYAH PESISIR DAN LAUT**

Wilayah pesisir dan lautan Indonesia dengan keanekaragaman hayati tertinggi di dunia, berpotensi besar untuk pengembangan Industri Bioteknologi. Produk-produk yang dihasilkan dari kegiatan tersebut bermanfaat bagi manusia (sebagai makanan, obat-obatan, dan kosmetika) dan aman bagi lingkungan.

Menurut Dahuri (2002), aplikasi bioteknologi di wilayah pesisir dan lautan dapat dikelompokkan menjadi 4 tujuan penggunaan, yaitu (1) menghasilkan produk bahan alami dari laut, (2) pengendalian pencemaran, (3) pengendalian biota penempel (*biofouling*), dan (4) industri akuakultur.

##### **4.1. Produk Bahan Alami dari Laut**

Aplikasi teknologi dalam rangka menghasilkan produk bahan alami semakin meningkat dengan adanya kecenderungan umat manusia untuk kembali ke alam (*back to nature*), disadari bahwa bahan-bahan produk dari laut khususnya organisme laut relatif aman bagi kesehatan karena dapat terurai secara alamiah (*biodegradable*) dibanding bahan-bahan sintetik.

Kekayaan sumberdaya pesisir dan laut yang sangat melimpah merupakan sumber bahan baku untuk pengembangan industri pangan, farmasi dan obat-obatan. Jenis alga merah dapat digunakan untuk produk makanan, susu, es krim, dan pasta gigi (produk industri). Sedangkan potensi sumberdaya ikan demersal dan ikan pelagis yang mengandung protein tinggi, merupakan bahan baku bagi industri pangan, demikian pula dengan rumput laut.

Perkembangan industri farmasi dapat dilakukan dengan menggunakan bahan baku dari berbagai jenis bioaktif yang terkandung dalam biota perairan laut, seperti insulin yang diekstrak dari ikan paus dan tuna. Obat cacung yang dihasilkan dari alga. Di Amerika perkembangan industri farmasi dan kosmetik dengan menggunakan bahan bioaktif dari pesisir dan laut telah berhasil dengan baik, misalnya pembuatan tulang dan gigi palsu dari karang

##### **4.2. Pengendalian Pencemaran**

Keaneragaman sumberdaya di daerah pesisir dan laut, juga berguna sebagai biokatalis yang dapat menetralsir yang masuk ke perairan, seperti rumput laut, lamun,

moluska, dan berbagai mikroorganisme yang dapat menyerap bahan pencemar. Pengembangan teknik bioremediasi melalui pemanfaatan organisme laut merupakan solusi yang aman. Penerapan teknologi tersebut tergantung pada kemampuan memahami pengaruh terhadap kondisi dan degradasi lingkungan. Mikroalga juga dapat dipergunakan dalam sistem pengolahan limbah dan dapat menyerap nutrisi (N dan P) di dalam air limbah, sehingga organisme tersebut dapat digunakan untuk pembersihan limbah cair (Shanghai Li, 1988 dalam Dahuri, 2002).

#### **4.3. Pengendalian Biota Penempel (*Biofouling*)**

Biofouling biasanya banyak menempel pada kapal, perahu, dan bangunan-bangunan pantai, dapat menghambat kegiatan dan menyebabkan kerusakan. Untuk menanggulangi biofouling tersebut, maka digunakan bioaktif dari rumput laut (jenis *Ulva fasciata*) dan lamun spesies *Zostera marina* (Grog dalam Linawati, 1998).

#### **4.4. Industri Akuakultur**

Usaha akuakultur dapat dibedakan menjadi dua, yaitu (1) budidaya perikanan berbasis di darat (*land-based aquaculture*) dan (2) budidaya perikanan berbasis di laut (*marine based aquakultur*). Berdasarkan sistem produksinya, budidaya dibedakan menjadi : budidaya tradisional, budidaya semi-intensif, dan budidaya intensif. Kesemuanya dapat memberikan hasil yang maksimal apabila ditunjang dengan adanya bioteknologi yang memadai.

Oleh sebab itu, salah satu alternatif untuk mengatasi permasalahan tersebut di atas, perlu dilakukan perbaikan terhadap sistem budidaya perikanan yang diterapkan selama ini, yaitu melalui penerapan rekayasa genetika. Melalui aplikasi bioteknologi diharapkan produktivitas ditingkatkan.

### **5. BIOTEKNOLOGI REPRODUKSI HEWAN**

Bioteknologi reproduksi terus berkembang untuk meningkatkan konsistensi dan keamanan produk dari ternak yang berharga secara genetik dan menyelamatkan spesies langka. Bioteknologi reproduksi juga memudahkanantisipasi kemungkinan industri yang mengarah pada produk dengan sifat-sifat genetik bernilai ekonomis seperti pertumbuhan jaringan otot, produk rendah lemak, dan ketahanan terhadap penyakit.

#### **5.1. Inseminasi Buatan dan Seksing Sperma**

Program peningkatan produksi dan kualitas pada ternak berjalan lambat bila

proses reproduksi berjalan secara alamiah. Melalui rekayasa bioteknologi reproduksi, proses reproduksi dapat dimaksimalkan antara lain dengan teknologi IB (inseminasi buatan). Tujuan utama dari teknik IB ialah memaksimalkan potensi pejantan berkualitas unggul. Spermata dari satu pejantan berkualitas unggul dapat digunakan untuk beberapa ratus bahkan ribuan betina, meskipun spermata tersebut harus dikirim ke suatu tempat yang jauh.

Jenis kelamin anak pada ternak yang diprogram IB dapat ditentukan dengan memanfaatkan teknologi seksing spermata X dan spermata Y. Dewasa ini ada dua teknik yang umum dipakai untuk seksing spermata yaitu separasi albumin yang menghasilkan 75 sampai 80 persen spermata Y dan filtrasi *sephadex* yang menghasilkan 70 hingga 75 persen spermata X. Perubahan proporsi spermata X atau Y akan menyebabkan peluang untuk memperoleh anak dengan jenis kelamin yang diharapkan lebih besar.

Seleksi gender pada hewan digunakan untuk beberapa tujuan diantaranya :

1. memproduksi lebih banyak anak betina dari induk superior untuk meningkatkan produksi susu, daging dan kulit.
2. menghasilkan lebih banyak anak jantan untuk produksi daging dari betina-betina yang telah diculling.
3. mencegah *intersex* pada kelahiran kembar (khususnya ternak sapi).

## **5.2. Transfer Embrio**

TE (transfer embrio) merupakan teknologi yang memungkinkan induk betina unggul memproduksi anak dalam jumlah banyak tanpa harus bunting dan melahirkan. TE dapat mengoptimalkan bukan hanya potensi dari jantan saja tetapi potensi betina berkualitas unggul juga dapat dimanfaatkan secara optimal. Pada proses reproduksi alamiah, kemampuan betina untuk bunting hanya sekali dalam 1 tahun (9 bulan bunting ditambah persiapan untuk bunting berikutnya) dan hanya mampu menghasilkan 1 atau 2 anak bila terjadi kembar. Menggunakan teknologi TE, betina unggul tidak perlu bunting tetapi hanya berfungsi menghasilkan embrio yang untuk selanjutnya bisa ditransfer (dititipkan) pada induk titipan (resipien) dengan kualitas genetik rata-rata tetapi mempunyai kemampuan untuk bunting.

## **5.3. Bayi Tabung**

Kematian bukan lagi merupakan berakhirnya proses untuk melahirkan keturunan. Melalui teknik bayi tabung, sel telur yang berada di dalam ovarium betina berkualitas unggul sesaat setelah mati dapat diproses *in vitro* di luar tubuh sampai tahap embrional. Selanjutnya embrio tersebut ditransfer pada resipien sampai dihasilkan anak.

Secara alamiah sapi betina berkualitas unggul dapat menghasilkan sekitar tujuh ekor anak selama hidupnya. Jumlah tersebut dapat berkurang atau menjadi nol bila ada gangguan fungsi reproduksi atau kematian karena penyakit. Untuk menyelamatkan keturunan dari betina berkualitas unggul tersebut, embrio dapat diproduksi dengan cara aspirasi sel telur pada hewan tersebut selama masih hidup atau sesaat setelah mati. Dari ovarium yang diperoleh di rumah potong hewan bisa diperoleh sekitar 20 sampai 30 sel telur untuk setiap ternak betina yang dipotong. Sel telur hasil aspirasi tersebut selanjutnya dimatangkan secara *in vitro*. Sel telur yang sudah matang diproses lebih lanjut untuk dilakukan proses fertilisasi secara *in vitro* dengan melakukan inkubasi selama lima jam mempergunakan semen beku dari pejantan berkualitas unggul. Sel telur yang dibuahi dikultur kembali untuk perkembangan lebih lanjut. Pada akhirnya embrio yang diperoleh akan dipanen dan dipindahkan rahim induk betina dan dibiarkan tumbuh sampai lahir.

#### **5.4. Kriopreservasi Embrio**

Kriopreservasi merupakan komponen bioteknologi yang memiliki peranan yang sangat besar dan menentukan kemajuan teknologi transfer embrio. Hal ini dikaitkan dengan kemampuannya dalam mempertahankan viabilitas embrio beku dalam waktu yang tidak terbatas sehingga sewaktu-waktu dapat ditransfer ketika betina resipien telah tersedia, serta dapat didistribusi ke berbagai tempat secara luas. Dengan kata lain, Kriopreservasi merupakan suatu proses penghentian sementara kegiatan metabolisme sel tanpa mematikan sel dimana proses hidup dapat berlanjut setelah kriopreservasi dihentikan. Metode kriopreservasi dapat dilakukan dengan dua cara yakni kriopreservasi secara bertahap dan kriopreservasi secara cepat (*vitrifikasi*).

Secara umum, mekanisme kriopreservasi merupakan perubahan bentuk fisik timbal balik dari fase cair ke padat dan kembali lagi ke fase cair. Mekanisme fisika kriopreservasi meliputi penurunan temperatur pada tekanan normal disertai dengan dehidrasi sampai tingkat tertentu dan mencapai temperatur jauh di bawah 0°C (-196 °C). Proses ini harus reversibel ke kondisi fisiologis awal. Tujuan kriopreservasi adalah mempertahankan sesempurna mungkin sifat-sifat material biologis terutama viabilitasnya.

#### **5.5. Hewan Transgenik**

Hewan transgenik merupakan satu alat riset biologi yang potensial dan sangat menarik karena menjadi model yang unik untuk mengungkap fenomena biologi yang spesifik (Pinkert, 1994). Kemampuan untuk mengintroduksi gen-gen fungsional ke dalam hewan menjadi alat berharga untuk memecah proses dan sistem biologi yang kompleks. Transgenik mengatasi kekurangan praktek pembiakan satwa secara klasik yang

membutuhkan waktu lama untuk modifikasi genetik.

Aplikasi hewan transgenik melingkupi berbagai disiplin ilmu dan area riset diantaranya:

1. basis genetik penyakit hewan dan manusia, disain dan pengetesan terapinya;
2. resistensi penyakit pada hewan dan manusia;
3. terapi gen

Hewan transgenik merupakan model untuk pertumbuhan, immunologis, neurologis, reproduksi dan kelainan darah);

4. obat-obatan dan pengetesan produk;
5. pengembangan produk baru melalui “molecular farming”

Introduksi gen ke dalam hewan atau mikroorganisme dapat merubah sifat dari hewan atau organisme tersebut agar dapat menghasilkan produk tertentu yang diperlukan oleh manusia seperti factor IX dan hemoglobin manusia.

6. produksi pertanian

Pemanfaatan teknologi transgenik memungkinkan diperolehnya ternak dengan karakteristik unggul (Pinkert, 1994; Prather *et al*, 2003).

Di masa yang akan datang hewan transgenik akan diproduksi dengan penyisipan gen pada lokasi yang spesifik dalam genom. Teknik ini telah terbukti berhasil pada mencit tetapi masih lintensif diteliti pada hewan-hewan besar.

Tabel 2. Contoh–contoh Locyt-Locyt Gen dan Aplikasi pada Ternak

<b>Spesies</b>	<b>Gen</b>	<b>Aplikasi</b>
Babi	$\alpha$ -1,3-galactosyl trasferase	Mencegah rejeksi hiperakut dalam xenotransplantasi
Babi, sapi	Fas, Fas-L	Menekan rejeksi yang dimediasi sel pada xenotransplantasi
Sapi	Serum albumin	Produksi serum albumin manusia dalam susu
Sapi	Milk casein	Meningkatkan produksi protein dan formula bayi
Semua	SRY dan penentu sex lainnya	Produksi daging dan susu yang lebih efisien
Semua	Growth/differentiation factor 8	Produksi daging yang lebih efisien

## 5.6. Kloning

Kloning adalah upaya multiplikasi hewan secara asexual yang menghasilkan turunan-turunan dengan komposisi genetik yang identik. Klon sapi dan kuda pertama kali diproduksi pembelahan embrio tahap blastosis umur 8-10 hari (jumlah sel embrio  $\pm 64$  sel). Dengan memakai teknik bedah mikro untuk memproduksi turunan-turunan bergenetik identik, para peneliti menemukan bahwa setiap sel embrio dapat tumbuh menjadi satu embrio utuh dengan jumlah sel  $\pm 128$  sel. Hal ini memungkinkan penggunaan inti sel embrio untuk memproduksi lusinan klon sapi dari satu embrio yang tumbuh.

Kemajuan teknologi ini berlangsung cepat, tetapi prosedur kerja membutuhkan teknik yang rumit dan efisiensi masih rendah. Untuk saat ini, kloning belum terbukti mampu menghasilkan ternak dalam jumlah besar secara ekonomis.

Terobosan penting metode cloning hewan ditandai lahirnya "Dolly", domba hasil kloning para peneliti Roslin Institute (Skotlandia). Sel-sel diperoleh dari kelenjar ambing domba betina dewasa dan dikultur di laboratorium. Sel hasil kultur tersebut selanjutnya digunakan sumber inti berisi material genetik yang menggantikan inti sel telur domba setelah percobaan diulang 273 kali, diperoleh seekor domba hasil kloning (Wilmut et al, 1997). Produksi "Dolly" sangat signifikan karena: pertama, merupakan mamalia pertama yang diproduksi menggunakan material genetik yang berasal dari sel hewan dewasa. Kedua, memungkinkan pengembangan metode baru dan lebih efisien untuk memproduksi hewan transgenik yang mengandung gen sintetik manusia di dalamnya (Niswender, 2004). Menyusul keberhasilan Dolly, kloning berhasil dibuat pada berbagai hewan lain seperti sapi dan kuda. Penelitian tentang kloning ini berlanjut terus dan menjadi perhatian dari banyak peneliti di berbagai negara khususnya Amerika Serikat, Perancis, Inggris, Skotlandia, dan Jepang.

Pengembangan kloning yang sangat menarik adalah pembuatan hewan transgenik. Embrio hasil kloning disisipi gen-gen tertentu (umumnya gen manusia) sehingga ternak kloning yang lahir memiliki sifat genetik baru yang bermanfaat. Hewan kloning transgenik pertama kali dihasilkan adalah "Moly" dan "Poly" yang juga diproduksi di Roslin Institute. Para peneliti berharap hewan kloning transgenik akan menghasilkan substansi kimia tertentu dalam jumlah besar (umumnya lewat air susu) untuk keperluan biomedis dan farmasi (Stice et al., 1998).

Para peneliti saat ini telah membuat banyak kemajuan dalam metode kloning, dan diprediksi adanya kemungkinan produksi ratusan hingga ribuan individu yang identik secara genetik menggunakan teknologi ini (Han et al, 2003; Wells et al, 2003). Produksi

ternak transgenik hasil kloning secara komersial sudah dirintis di beberapa negara (Faber *et al*, 2003)

## VI. PENUTUP

Kemajuan bioteknologi berkembang pesat di berbagai bidang dengan tujuan meningkatkan nilai manfaat dan produktivitas sumber daya hayati. Saat ini masih terjadi kesenjangan antara negara maju dan negara berkembang dalam hal penguasaan bioteknologi dan kekayaan sumber daya hayati yang menjadi modal pengembangan bioteknologi. Aplikasi bioteknologi perlu dilakukan dengan hati-hati mengingat resiko yang dapat ditimbulkannya terhadap keanekaragaman hayati.

## DAFTAR PUSTAKA

- Andersson, L., A.L. Archibald, M. Ashbuner, S. Audum, S. Bancodse, J. Bitguard dan J. Warwick. 1996. Comparative genome organisation of vertebrate. The First International Workshop on Comparative Genome Organization. *Mammalian Genome* 7: 717-734.
- Barber, V.B., S. Afiff, A. Purnomo. 1997. Meluruskan Arah Pelestarian Keanekaragaman Hayati dan Pembangunan di Indonesia. Yayasan Obor, Jakarta.
- Chasanah, E. 2003. Characterization of hitonase of *Bacillus licheiformis* MB-2 Isolated from Manado Hotspring Water. Disertasi. Sekolah Pascasarjana IPB- Bogor. Tidak dipublikasikan.
- Dahuri, R. 2002. Paradigma Baru Pembangunan Indonesia Berbasis Kelautan. Orasi Ilmiah Guru Besar Tetap Bidang Pengelolaan Sumber daya Pesisir dan Lautan. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Faber, D.C., J.A. Molina, C.L. Ohlrichs, D.F. Vander Zwaag, dan L.B. Ferre. 2003. Commercialization of animal biotechnology. *Theriogenology* 59: 125-138.
- Hammond, W. 1993. Why conserve genetic resources. *Diversity* 9: 30-33.
- Han, Y.M., Y.K. Kang, D.B. Coe, and K.K. Lee. 2003. Nuclear reprogramming of cloned embryos produced in vitro. *Ther.* 59: 33-44.
- Hodges, J. 1990. Animal genetic resources. *Impact of Science on Society* 40: 143-154.
- Hodges, J. 2000. Why Lifestock, Ethics and Quality of Life? In: *Livestock, Ethics and Quality of Life*. J. Hodges dan In K. han (Eds). CABI Publishing, New York, USA.
- Lestari, P. 2000. Karakterisasi Kitinase Ekstraseluler Asal Bakteri Termofilik GP 18 dari Sumber Air Panas Gunung Pancar. *Thesis*. Sekolah Pasasarjana IPB – Bogor. Tidak dipublikasikan.
- Lewis, J. 2004. Cloning cattle reverses ageing. [http://beef.mag.com/mag/beef\\_improving\\_genetic\\_reproduction](http://beef.mag.com/mag/beef_improving_genetic_reproduction). Tanggal 5 Juni 2004 pukul 11.35.
- Linawati, 1998. Marine Bioteknologi. Opportunities and Challengers for Sustainable Development of Coastal and Marine Resources. Paper in Workshop on Marine Bioteknologi. 16 – 20 February 1998. center for Coastal and Marine Resources Studies. Bogor.
- LIPI. 2004. Ringkasan Hasil dan Rekomendasi Widya Karya Nasional Pangan dan Gizi

- VIII: Ketahanan Pangan dan Gizi di Era Otonomi Daerah dan Globalisasi. Jakarta. P33-40
- Muchtadi, D. Nureni S.P. Made Astawan. 1992. *Enzim Dalam Industri Pangan*, Depdikbud, DIKTI, PAU Pangan dan Gizi, IPB, Bogor.
- Naisbitt, J dan P. Aburdene. 1995. *Megatrend 2000*. Binarupa Aksara, Jakarta.
- Niswender, G.D. 2004. Improving Genetics With Reproductive Biotechnology <http://news.bbc.co.uk/1/hi/sci/kc/728088.stm>. Tanggal 5 Juni 2004 pukul 11.35.
- Pinkert, C.A. 1994. *Transgenic Animal Technology*. CABI, Oxford, UK.
- Prather, R.S., R.J. Hanley, O.B. Center, L. Lai, and L. Greenstein. Transgenic swine for biomedicine and agriculture. *Ther.* 59 : 115-122.
- Rahayu, S., F. Tanuwidjaya, Y. Rukayadi, A. Suwanto, M.T. Suhartono, J.K. Hwang dan Y.R. Pyun. 2004. Study of thermostable chitinase enzymes from Indonesian Bacillus K29-14. *J. Microbiol. Biotechnol.* 14 (4): 647-652.
- Suhandhy, A. 1995. Kebijakan, konsep dan strategi pelaksanaan pengamanan keanekaragaman hayati nasional. Dalam: *Bioteknologi dan Keselamatan Hayati*. Kophalindo, Jakarta.
- Stice, S.L., J.M. Robl, F.A. Ponce de Leon, J. Jerry, P.B. Golneke, J.B. Cibelli, and J.J. Kane. 1998. Cloning: new breakthrough leading commercial opportunities. *Ther.* 49 : 129-138.
- Winarno. F.G. 1986. *Enzim Pangan*. P.T. Gramedia, Jakarta.
- Wells, D.N., G. Larble, F.C. Tucker, A.I. Muller, J.E. Oliver, T. Xiang, J.T. Forsyth, M.C. Berg, K. Cochran, P.L.L. Huike, A.R. Tervit and B. Obach. Coordination between donor cell type and cell cycle stageimproving nuclear cloning efficiency in cattle. *Ther.* 59: 45-60.