

Ringkasan Pengkajian Keamanan Lingkungan

Produk Rekayasa Genetik (PRG) *Escherichia coli* KCCM 80236

I. Pendahuluan

E.coli KCCM 80236 adalah produk rekayasa genetik rekombinan dari *Escherichia coli* LS 5218. Strain ini akan dipergunakan dalam produksi PHA/PHB di PT. Cheil Jedang Indonesia Pabrik Pasuruan. PT. Cheil Jedang Indonesia adalah Eksportir Produk *Food Additive* dan *Feed Additive* yang berlokasi di Kabupaten Pasuruan, Jawa Timur.

Keunggulan penggunaan strain ini dibandingkan strain lainnya adalah kemampuan produksinya yang lebih unggul dan kemampuan hidup di lingkungannya rendah.

E.coli KCCM 80236 dimiliki oleh CJ Cheil Jedang di Korea dan akan diimport oleh PT. Cheil Jedang Indonesia yang akan dipergunakan di PT. Cheil Jedang Indonesia Pabrik Pasuruan untuk Pembuatan PHA/PHB dalam skala industri. Produk akhir PHA/PHB ini sudah mengalami proses sedemikian rupa sehingga tidak mengandung sel bakteri ataupun fragmen gen didalamnya.

Penggunaan *E.coli* KCCM 80236 hingga saat ini sudah dilakukan di Korea (Ansan Plant) pada skala *Pilot Project* dan akan dipergunakan di PT. Cheil Jedang Indonesia (Pabrik Pasuruan) pada skala industri. Penggunaan *E.coli* KCCM 80236 pada skala *Pilot Project* yang dilakukan di Korea telah mendapatkan *Statement of Environment Safety Assessment Test* dari KRIBB. KRIBB adalah Lembaga Penelitian Independen yang diakui dan dibiayai oleh Pemerintah Korea dan tidak memiliki afiliasi dengan CJ.

Berdasarkan Peraturan Pemerintah No. 21 Tahun 2005 tentang Keamanan Hayati Produk Rekayasa Genetik, dan Peraturan Menteri Lingkungan Hidup No. 25 tahun 2012 tentang Pedoman Penyusunan Analisa Risiko Lingkungan Produk Rekayasa Genetik, maka Tim Teknis Keamanan Hayati Produk Rekayasa Genetik (TTKH PRG) telah melakukan pengkajian keamanan lingkungan terhadap *E.coli* KCCM 80236. Pengkajian didasarkan pada informasi jasad renik dan informasi keamanan lingkungan yang terdiri atas sifat genetik yang direkayasa, stabilitas jasad renik *E.coli* KCCM 80236, dan kemungkinan gen *E.coli* KCCM 80236 untuk pindah ke organisme lain sebagaimana diuraikan di bawah ini.

II. Informasi Jasad Renik *E.coli* KCCM 80236

1. Deskripsi Umum Jasad Renik *E.coli* KCCM 80236

E.coli yang dipergunakan adalah Strain KCCM 80236. *E.coli* KCCM 80236 adalah hasil pengembangan dari PRG *E.coli* LS 5218. Memodifikasi gen-gen dalam jalur sintesis produksi PHA/PHB sehingga produksi menjadi lebih efektif dan berkonsekuensi menurunkan kemampuan sintasannya.

2. Informasi Sifat Genetik Jasad Renik

Escherichia coli LS 5218 adalah jasad renik galur asal (*parental strain*) dari *E.coli* KCCM 80236, juga diketahui cacat pada metabolisme propionate-nya, sehingga sintasanya berkurang¹.

Escherichia coli LS 5218 juga banyak dipelajari dalam produksi PHA/PHB dikarenakan efektifitasnya dalam mempergunakan asam lemak².

Escherichia coli LS 5218 berasal dari mutasi *Escherichia coli* K-12 secara spontan pada media selektif¹. *Escherichia coli* K-12 telah di kenal sebagai strain yang aman untuk lingkungan.

Escherichia coli telah banyak dipelajari sebagai penghasil PHA/PHB dengan mempergunakan proses fermentasi. Studi *Escherichia coli* baik PRG ataupun Non PRG telah banyak dilakukan. Hasil studi menunjukkan keragaman hasil produksi pada setiap mikroorganisme³⁻¹⁴.

E.coli KCCM 80236 juga diuji kestabilan genetiknya sampai generasi ke-42 di *Institute of Bio-based Chemicals* (IBC), CJ Cheil Jedang di Korea dan terbukti masih memiliki gen pengkode yang diinsersikan setelah proses fermentasi. Hal ini menunjukkan kestabilan gen yang diinsersikan, sehingga aman untuk lingkungan.

3. Karakter Modifikasi Genetik

Rekayasa genetik berupa delesi dan insersi gen pengkode yang akan meningkatkan kemampuan Inang (*E.coli*) dalam memproduksi PHA/PHB, selain itu kemampuan untuk hidup di lingkungan dan kemampuan replikasinya juga tidak ada.

4. Kemungkinan Transfer Gen *E.coli* KCCM 80236 ke mikroorganisme lain

Telah dilakukan Uji untuk menentukan pemindahan gen donor ke organisme lain dengan metode konjugasi serta telah dibuatkan dalam laporan oleh Korean Research Institute of Bioscience and Biotechnology, yang menyatakan bahwa transfer genetik tidak terjadi. Korean Research Institute of Bioscience and Biotechnology atau KRIBB adalah institusi yang dibiayai dan diakui oleh Pemerintah Korea, sehingga hasilnya juga bisa dipertanggungjawabkan.

III. Kemungkinan lepasnya *E.coli* KCCM 80236 ke Lingkungan

E.coli KCCM 80236 tidak beresiko lepas ke lingkungan karena :

1. *E.coli* KCCM 80236 sudah dihilangkan kemampuan bertahan hidupnya (sintasan)
2. Ada *High Pressure Homogenizer* didalam proses produksi yang akan menghancurkan sel mikroorganisme
3. Didalam proses produksi juga dilakukan pemeriksaan PCR rutin dengan mempergunakan *marker* yaitu gen donor yang diinsersikan.
4. Dalam proses WWT juga di lakukan proses dengan mempergunakan Active Sludge yang akan menghancurkan sisa bakteri dan atau framen gen bakteri. (*DNA Degradation in Activated Sludge*, Lampiran 1).

IV. Komunikasi Resiko Lingkungan

Informasi mengenai rencana penggunaan *E.coli* KCCM 80236 telah dilakukan dalam bentuk Komunikasi Resiko Lingkungan pada hari/tanggal, Senin 12 April 2021 yang dihadiri oleh pihak terkait dan para pemangku kepentingan.

Adapun yang disampaikan adalah :

Pemanfaatan *E.coli* KCCM 80236, Resiko dan Manfaat *E.coli* KCCM 80236, *Ethical and Moral issues*, Indonesia sebagai pusat Litbang dan Produksi, Proses Produksi, Keamanan *E.coli* KCCM 80236, Proses Pemasukan, Penggunaan, Produksi sampai Pemantauan, SOP dan Penanganan Kejadian di Luar Kendali.

Kegiatan ini mendapat tanggapan positif dan peserta sangat aktif dalam bertanya jawab, sehingga diharapkan semua pihak paham mengenai *E.coli* KCCM 80236 ini.

V. Rencana Pengelolaan dan Pemantauan Lingkungan

SOP telah selesai disusun mulai proses : Penerimaan dan Penggunaan Strain, Produksi, *Waste Water Treatment* (WWT), Uji Keamanan Produk dan Uji Keamanan Lingkungan.

SOP Kejadian Diluar Kendali juga telah selesai disusun sampai dengan penanganan bila ada kontak dengan lingkungan ataupun karyawan.

WWT telah dipersiapkan untuk memenuhi standar baku proses pengolahan limbah.

Akan diberikan laporan secara berkala kepada Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan cq KKHPRG.

VI. Kesimpulan Informasi Genetik *E.coli* KCCM 80236 dan Keamanan Lingkungan

Berdasarkan data dan dokumen diatas maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Modifikasi genetik yang dilakukan akan meningkatkan kemampuan Inang (*E.coli*) dalam memproduksi PHA/PHB.
2. Genetik *E.coli* KCCM 80236 stabil sampai generasi ke 42.
3. Tidak terjadi transfer genetik dari *E.coli* KCCM 80236 ke mikroorganisme lainnya.
4. *E.coli* KCCM 80236 tidak membawa gen penyandi resistensi terhadap antibiotik.
5. *E.coli* KCCM 80236 tidak beresiko lepas kelingkungan karena telah dihancurkan dengan dan di inaktivasi selama proses produksi dan juga di WWT.
6. *E.coli* KCCM 80236 kehilangan kemampuan untuk sintas di alam.

Dengan melihat informasi yang telah di rangkum diatas, maka TTKH PRG menilai bahwa *E.coli* KCCM 80236 yang diajukan oleh proponent adalah aman untuk lingkungan. Apabila di kemudian hari ditemukan data dan informasi baru yang tidak sesuai dengan data keamanan lingkungan yang diperoleh hingga saat ini, maka status aman lingkungan terhadap *E.coli* KCCM 80236 akan di kaji ulang.

Apabila telah ditetapkan aman lingkungan, kemudian produk tersebut terbukti menimbulkan resiko terhadap kesehatan manusia dan hewan, maka proponent wajib melakukan tindakan pengendalian dan penanggulangan serta memusnahkan *E.coli* KCCM

80236 yang berada di wilayah Indonesia. *E.coli* KCCM 80236 tidak boleh digunakan dalam produksi PHA/PHB secara komersial apabila belum memperoleh sertifikat aman lingkungan dari Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan.

VII. Pustaka

1. Sharon K. Spratt, Charles L. Ginsburgh, and William D. Nunn. Isolation and genetic characterization of *Escherichia coli* mutants defective in propionate metabolism. *Journal of Bacteriology*. June 1981; 1166-1169
2. Jacqueline M. Rand, Gina C. Gordon, Christopher R. Mehrer, Brian F. Pflieger. Genome sequence and analysis of *Escherichia coli* production strain LS5218. *Metabolic Engineering Communication* 5. 2017; 78-83
3. Li ZJ, Shi ZY, Jian J, Guo YY, Wu Q, Chen GQ. Production of poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate) from unrelated carbon sources by metabolically engineered *Escherichia coli*. *Metab Eng*. 2010;12(4):352-9.
4. Lv L, Ren YL, Chen JC, Wu Q, Chen GQ. Application of CRISPRi for prokaryotic metabolic engineering involving multiple genes, a case study: Controllable P(3HB-co-4HB) biosynthesis. *Metab Eng*. 2015;29:160-168.
5. Hiroe A, Ushimaru K, Tsuge T. Characterization of polyhydroxyalkanoate (PHA) synthase derived from *Delftia acidovorans* DS-17 and the influence of PHA production in *Escherichia coli*. *J Biosci Bioeng*. 2013;115(6):633-8.
6. Horng YT, Chien CC, Wei YH, Chen SY, Lan JC, Sun YM, Soo PC. Functional cis-expression of phaCAB genes for poly(3-hydroxybutyrate) production by *Escherichia coli*. *Lett Appl Microbiol*. 2011;52(5):475-83.
7. Wu H, Wang H, Chen J, Chen GQ. Effects of cascaded vgb promoters on poly(hydroxybutyrate) (PHB) synthesis by recombinant *Escherichia coli* grown micro-aerobically. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2014;98(24):10013-21.
8. Choi JI, Lee SY, Han K. Cloning of the *Alcaligenes latus* polyhydroxyalkanoate biosynthesis genes and use of these genes for enhanced production of Poly(3-hydroxybutyrate) in *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol*. 1998;64(12):4897-903.
9. Lin JH, Lee MC, Sue YS, Liu YC, Li SY. Cloning of phaCAB genes from thermophilic *Caldimonas manganoxidans* in *Escherichia coli* for poly(3-hydroxybutyrate) (PHB) production. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2017;101(16):6419-6430.
10. Zhou XY, Yuan XX, Shi ZY, Meng DC, Jiang WJ, Wu LP, Chen JC, Chen GQ. Hyperproduction of poly(4-hydroxybutyrate) from glucose by recombinant *Escherichia coli*. *Microb Cell Fact*. 2012;11:54.
11. Kang CK, Kusaka S, Doi Y. Structure and properties of poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate) produced by *Alcaligenes latus*. *Biotechnol Lett*. 1995;17: 583–588.
12. Mothes G, Ackermann JU. Synthesis of poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate) with a target mole fraction of 4-hydroxybutyric acid units by two-stage continuous cultivation of *Delftia acidovorans* P4a. *Eng Life Sci*. 2005;5(1): 58-62.
13. Kim JS, Lee BH, Kim BS. Production of poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate) by *Ralstonia eutropha*. *Biochem Eng J*. 2005; 23(2):169-74.

14. González-García Y, Nungaray J, Córdova J, González-Reynoso O, Koller M, Atlic A, BrauneGG. Biosynthesis and characterization of polyhydroxyalkanoates in the polysaccharide-degrading marine bacterium *Saccharophagus degradans* ATCC 43961. *J Ind Microbiol Biotechnol.* 2008;35(6):629-33.