

/10

Pedoman

**Pelaksanaan Pengujian Keamanan Hayati
Produk Bioteknologi Pertanian
Hasil Rekayasa Genetik**

Seri Ikan



/7

**Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian
Departemen Pertanian**

5161

PED/7

8/2022
/2

579.16

1100

Pedoman

Pelaksanaan Pengujian Keamanan Hayati Produk Bioteknologi Pertanian Hasil Rekayasa Genetik

Seri Ikan



**Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian
Departemen Pertanian
1998**

KATA PENGANTAR

Teknologi rekayasa genetika telah berkembang pesat dan telah memberikan manfaat antara lain dalam menghasilkan produk bioteknologi pertanian hasil rekayasa genetik (PBPHRG). Pengujian keamanan hayati terhadap PBPHRG sebelum dikomersialisasikan dilakukan untuk melihat kemungkinan adanya dampak negatif yang dapat mengganggu, merugikan dan/atau membahayakan bagi kesehatan manusia, keanekaragaman hayati, dan keamanan lingkungan. Oleh karena itu, diperlukan pedoman yang mengatur tentang proses pengujian dan pemanfaatan dampak dari PBPHRG yang diproduksi. Pedoman pelaksanaan uji PBPHRG ini disusun oleh Tim Teknis Keamanan Hayati (TTKH) Produk Bioteknologi Pertanian Hasil Rekayasa Genetik berdasarkan Keputusan Menteri Pertanian No. 856/Kpts/HK.330/9/1997.

Sesuai dengan macam produknya, pedoman pelaksanaan pengujian keamanan hayati PBPHRG ini dibagi dalam lima seri, yaitu umum, tanaman, hewan, ikan, dan jasad renik. Seri lkan berisi tentang pengertian umum dan ruang lingkup, teknis pelaksanaan pengujian keamanan hayati ikan transgenik di laboratorium terbatas, teknis tentang pelaksanaan pengujian keamanan hayati ikan transgenik di lapangan terbatas, dan faktor-faktor yang perlu dipertimbangkan dalam penilaian risiko.

Bogor, September 1998
Ketua Komisi Keamanan Hayati



Dr. Joko Budianto



DAFTAR ISI

	Halaman
Kata Pengantar	iii
Daftar Isi	v
Daftar Lampiran	vii
Pengertian Umum dan Ruang Lingkup.....	1
Teknis Pelaksanaan Pengujian Keamanan Hayati Ikan Transgenik di Laboratorium Terbatas	2
Teknis Pelaksanaan Pengujian Keamanan Hayati Ikan Transgenik di Lapangan Terbatas	6
Faktor-Faktor yang Perlu Dipertimbangkan dalam Penilaian Risiko ...	8
Daftar Pustaka	10

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Prosedur pengujian penyakit protozoa	11
Lampiran 2. Prosedur pengujian penyakit mycosis (jamur)	15
Lampiran 3. Prosedur pengujian penyakit karena bakteri pada ikan transgenik di laboratorium terbatas	17
Lampiran 4. Prosedur pemeriksaan penyakit karena virus pada ikan transgenik di laboratorium terbatas	23
Lampiran 5. Uji fertilitas ikan transgenik betina	27
Lampiran 6. Uji fertilitas ikan transgenik jantan	29
Lampiran 7. Biologi ikan dan udang	30

PENGERTIAN UMUM DAN RUANG LINGKUP

Dalam pedoman ini, yang dimaksud dengan ikan adalah semua sumber daya hayati perairan baik hewani maupun nabati (Undang-Undang Perikanan No. 9 Tahun 1985 dan No. 17 Tahun 1985). Namun demikian, sampai akhir abad kedua puluh ini, yang sudah banyak dimanfaatkan untuk perikanan adalah dari kelompok *Pisces*, *Crustacea*, dan kerang-kerangan.

Ikan transgenik adalah ikan yang telah mengalami perubahan secara buatan pada genomnya dengan cara menambah, mengurangi atau mengubah susunan asli dengan teknik rekombinan DNA (*deoxyribo nucleic acid*). Teknologi transgenik ini telah dicoba terhadap berbagai spesies ikan budi daya dengan tujuan utama untuk peningkatan kualitasnya.

Untuk budi daya ikan masa depan, berbagai harapan terhadap ikan transgenik adalah:

1. Pemahaman yang lebih baik mengenai perkembangan, pertumbuhan, regulasi gen, dan proses reproduksi pada ikan.
2. Perbaikan ekonomis budi daya ikan melalui perbaikan efisiensi pakan, perbaikan resistensi terhadap suhu rendah, perbaikan resistensi penyakit, perbaikan fekunditas, penggunaan pakan murah, dan sebagainya.
3. Produksi ikan yang memiliki karakteristik khusus seperti bentuk morfologis yang menarik untuk ikan hias, daging ikan dengan warna, tekstur dan rasa tertentu, serta komposisi asam lemak tertentu.
4. Penggunaan ikan sebagai bioreaktor untuk bahan obat tertentu dan keperluan lainnya.

Ruang lingkup pedoman ini mencakup tata cara pelaksanaan pengujian keamanan hayati ikan transgenik di laboratorium, di laboratorium basah (*wet laboratory*) dalam ruangan tertutup (*indoor*), dan di lapangan uji terbatas. Pengujian-pengujian tersebut ditujukan untuk mengkaji risiko dampak negatif ikan transgenik sehingga kemungkinan yang dapat merugikan dan atau membahayakan bagi manusia, keanekaragaman hayati alamiah dan lingkungan dapat dihindari.

Pedoman Seri Ikan memuat berbagai teknik pengujian khusus untuk ikan transgenik di Fasilitas Uji Terbatas (FUT) yang dilengkapi dengan berbagai informasi yang berkaitan dengan pengujian tersebut. Pedoman ini memuat uraian mengenai faktor-faktor yang perlu dipertimbangkan dalam penilaian risiko, prosedur-prosedur pengujian penyakit karena bakteri, virus, protozoa, dan jamur. Selain itu, diuraikan pula prosedur untuk menguji tingkat fertilitas ikan transgenik betina dan jantan.

Tata cara umum seperti akses ke dalam FUT dan pengelolaan fasilitas, permohonan pengujian serta penyusunan laporan secara keseluruhan mengikuti Buku Pedoman Pelaksanaan Pengujian Keamanan Hayati PBPHRG Seri Umum.

TEKNIS PELAKSANAAN PENGUJIAN KEAMANAN HAYATI IKAN TRANSGENIK DI LABORATORIUM TERBATAS

Laboratorium Terbatas adalah laboratorium kering dan laboratorium basah yang semua fasilitas dan peralatannya berada di ruang tertutup (*indoor*). Laboratorium kering dan laboratorium basah dapat berada dalam suatu bangunan atau dapat juga terpisah. Laboratorium basah digunakan untuk memelihara ikan yang akan atau sedang dalam proses pengujian.

Seluruh ikan di dalam Laboratorium Terbatas harus diperlakukan sebagai ikan transgenik, kecuali ikan tertentu yang digunakan secara langsung dalam proses pengujian. Ikan transgenik harus dapat dipisahkan secara fisik dengan ikan nontransgenik, yaitu pada wadah berupa bak-bak atau akuarium. Kalaupun harus digabung dengan ikan lain dalam proses pengujian, ikan transgenik harus dapat ditandai dengan jelas, atau salah satu diberi tanda (*tagging*). Berikut hal-hal yang perlu diperhatikan dalam penanganan pengujian ikan transgenik.

Penanganan Bahan dan Persiapan Uji

1. Wadah berupa bak atau akuarium harus dibersihkan sampai mendekati steril. Wadah dicuci bersih dengan memberikan larutan hijau malakit (*malachite green*) atau biru metilin (*methylene blue*) pada air yang akan digunakan untuk pengujian.
2. Semua peralatan yang digunakan dalam proses pemeliharaan dan pengujian harus bersifat khusus dan tidak dapat digunakan untuk keperluan lain.
3. Air sebagai media pengujian harus berasal dari sumber yang jelas seperti air ledeng (air PAM), air sumur, tetapi bukan secara langsung dari perairan umum seperti sungai dan air waduk/danau. Air yang digunakan harus berasal dari fasilitas yang terdapat di dalam Laboratorium Terbatas dan sudah disiapkan sebagai air yang berkualitas baik untuk ikan uji yang sedang diuji.

Penggunaan Organisme Penguji

1. Pengujian yang menggunakan organisme penguji, harus dikerjakan di dalam ruang terpisah dari stok ikan transgenik.
2. Tanda pengumuman/peringatan harus dipasang di pintu Laboratorium Terbatas selama percobaan yang menggunakan organisme penguji sedang berlangsung.
3. Monitoring dan pengawasan secara ketat harus dilakukan selama kegiatan perawatan, pemeliharaan, dan pengujian ikan transgenik.
4. Ikan transgenik dan bagian-bagiannya yang akan dikirim ke tempat atau ruangan lain di dalam Laboratorium Terbatas, harus ditempatkan di dalam wadah berlabel, dan tertutup rapat untuk mencegah lolosnya ikan transgenik.
5. Wadah, peralatan, dan sisa bahan harus diberi tanda "HATI-HATI ADA IKAN TRANSGENIK", wadah transportasi (pemindahan) berupa plastik disterilkan atau dimusnahkan.
6. Semua peralatan yang digunakan dalam pemindahan ikan transgenik harus segera dicuci, disterilkan, dan dikembalikan ke tempat dan posisi semula.

Pencegahan Keluar Masuknya Ikan Transgenik dan Organisme Lain, dan Penyebaran Ikan Melalui Sistem Pengembangbiakan

Pengembangbiakan ikan transgenik secara tidak terkendali dapat dicegah dengan beberapa cara sebagai berikut:

1. Memelihara ikan jantan dan betina pada wadah yang terpisah.
2. Saluran air pemasukan pada wadah tidak dibuat secara seri (air berasal dari wadah ikan jantan tidak dapat berhubungan langsung dengan saluran air masuk pada wadah ikan betina).
3. Memisahkan ikan transgenik sejenis berdasarkan ukurannya pada wadah tersendiri.
4. Memisahkan ikan transgenik sekerabat pada wadah tersendiri.
5. Melakukan monitoring dan penghitungan jumlah ikan secara teratur agar kemungkinan lolosnya ikan transgenik dapat dicegah dan diketahui lebih dini.
6. Cara pengembangbiakan berbagai jenis ikan dan persyaratannya perlu diketahui oleh petugas FUT.

Proses Terminasi dan Pembuangan Limbah/Air Buangan

1. Ikan transgenik yang terserang penyakit ataupun dalam kondisi lemah harus ditempatkan pada wadah terpisah untuk memperoleh perlakuan khusus (penyembuhan).
2. Ikan transgenik yang telah mati harus dibuang dan dikubur di dalam tanah pada tempat/lokasi yang ditentukan.
3. Bagian tubuh ikan transgenik baik sengaja (dipotong) maupun tidak sengaja terpisah dari tubuh utuhnya harus dibuang dan dikubur di dalam tanah pada tempat/lokasi yang ditentukan.
4. Air buangan dari proses pergantian air dalam wadah sebagian atau seluruhnya harus disalurkan ke tempat penampungan akhir yang telah ditentukan. Tempat penampungan yang dimaksud tidak berhubungan langsung dengan perairan umum seperti sungai atau waduk/danau. Tempat penampungan air buangan tersebut harus terlindung sehingga tidak dapat dimanfaatkan oleh penduduk sekitar.
5. Peralatan yang telah aus harus dimusnahkan.

Penggunaan Organisme Asing

Setiap penggunaan organisme yang didatangkan/berasal dari negara lain harus diperhatikan kemungkinan risiko terikutnya bahan dan materi asing termasuk penyakit, sehingga perlu dilakukan proses penanganan khusus di ruang terisolasi/karantina.

Pemeliharaan Ikan Transgenik di Laboratorium Terbatas

1. Di Laboratorium Terbatas, ikan transgenik dipelihara secara khusus sesuai dengan sifat biologis dan kebutuhan lingkungannya. Ikan transgenik tidak dipelihara secara campuran dengan ikan yang bukan transgenik. Bila ada dua macam atau lebih ikan transgenik, pemeliharaannya ditempatkan pada wadah yang terpisah dengan sumber air yang tidak paralel.
2. Ikan transgenik dipelihara dalam wadah (tangki fiberglass atau bak beton) dalam media air dengan sistem resirkulasi tertutup. Kualitas air dimonitor terus secara periodik agar kualitasnya tetap baik. Setiap wadah pemeliharaan mendapat aerasi yang mencukupi untuk penyediaan oksigen yang tinggi (lebih dari 6 ppm).
3. Ikan transgenik yang dipelihara di Laboratorium Terbatas mendapat makanan berupa *crumble* atau pellet sesuai dengan ukurannya.

Protein dan bahan lain pakan ikan harus memadai untuk spesies dan ukuran ikan yang dipelihara. Jumlah pakan dan frekuensi pemberiannya dilakukan sesuai dengan kebutuhan ikan tersebut.

Air Buangan dari Laboratorium Terbatas

1. Air buangan dari fasilitas Laboratorium Terbatas ikan transgenik dibuang ke kolam atau wadah khusus untuk memudahkan pemberian perlakuan (*treatment*) terhadap air. Kolam khusus air buangan ini berguna untuk mencegah organisme penyakit (patogen) ke perairan. Air dalam kolam tersebut diberi kalium permanganat (PK) secara periodik.
2. Air buangan dari fasilitas Laboratorium Terbatas dilarang untuk dialirkan ke perairan umum.

Pemasukan dan Pengeluaran Ikan di Laboratorium Terbatas

Laboratorium Terbatas merupakan tempat untuk mengisolasi dan melakukan diagnosis serta pengujian ikan transgenik. Karena itu pemasukan dan pengeluaran ikan dari Laboratorium Terbatas harus seizin Kepala Laboratorium Terbatas. Pengangkutan atau pemindahan ikan transgenik di dalam Laboratorium Terbatas maupun keluar Laboratorium Terbatas harus dilakukan dalam wadah tertutup.

Diagnosis dan Pengujian Penyakit karena Organisme Protozoa

Diagnosis dan pengujian (bioasai) ikan transgenik terhadap organisme seperti protozoa dan mycosis (jamur) dilakukan berdasarkan petunjuk pada Lampiran 1 dan 2. Diagnosis dan pengujian ini ditujukan untuk melihat potensi adanya pengaruh negatif organisme protozoa terhadap ikan lain selain ikan transgenik.

Diagnosis dan Pengujian Penyakit karena Bakteri dan Virus

Diagnosis dan pengujian penyakit yang disebabkan oleh bakteri dan virus pada ikan transgenik dilakukan berdasarkan petunjuk pada Lampiran 3 dan 4. Kegiatan ini dimaksudkan untuk mengetahui potensi adanya pengaruh negatif organisme bakteri dan virus terhadap ikan selain ikan transgenik.

TEKNIS PELAKSANAAN PENGUJIAN KEAMANAN HAYATI IKAN TRANSGENIK DI LAPANGAN TERBATAS

Penanganan Bahan dan Persiapan Uji

1. Wadah untuk melakukan uji terbatas di lapangan digunakan bak beton, kolam tanah, karamba jaring apung (KJA) atau wadah lain yang ditempatkan di perairan umum seperti waduk, danau atau perairan teluk dan pantai. Tempat pengujian harus tertutup dan dapat dikontrol secara penuh dan dibuat sedemikian rupa agar tidak dapat diganggu oleh pihak lain di luar penguji.
2. Khusus untuk lokasi perairan umum disarankan untuk melakukan analisis lingkungan baik biologi, kimia, dan fisik perairan serta ekologi terutama komunitas spesies.
3. Ikan transgenik yang akan diuji tidak dapat langsung ditempatkan di Lapangan Terbatas perairan umum tetapi harus melalui penyesuaian (aklimatisasi) dan pengujian pendahuluan di Laboratorium Terbatas atau di akuarium dan bak beton.
4. Tanda pengumuman/peringatan harus dipasang di lokasi Laboratorium Terbatas selama percobaan sedang berlangsung.

Pemindahan Bahan Ikan Transgenik

1. Ikan transgenik dan bagian-bagiannya yang akan dikirim ke lokasi tempat Lapangan Terbatas harus ditempatkan di dalam wadah berlabel, dan tertutup rapat untuk mencegah lolosnya ikan transgenik.
2. Wadah, peralatan dan sisa bahan harus diberi tanda "HATI-HATI ADA BAHAN IKAN TRANSGENIK", wadah transportasi (pemindahan) berupa plastik disterilkan atau dimusnahkan.
3. Monitoring dan pengawasan secara ketat harus dilakukan selama kegiatan perawatan, pemeliharaan, dan pengujian ikan transgenik.
4. Semua peralatan yang digunakan dalam pemindahan ikan transgenik harus segera dicuci, disterilkan, dan dikembalikan ke tempat dan posisi semula.

Penggunaan Organisme Penguji

1. Pengujian yang menggunakan organisme penguji, harus dikerjakan di dalam wadah tersendiri yang terpisah dengan stok khusus ikan transgenik.

2. Tanda pengumuman/peringatan secara khusus harus dipasang di wadah di dalam kawasan Lapangan Terbatas selama percobaan yang menggunakan organisme penguji sedang berlangsung.
3. Monitoring dan pengawasan secara ketat harus dilakukan selama kegiatan perawatan, pemeliharaan dan pengujian ikan transgenik.

Pengamanan

1. Tersebaranya sperma dan telur ikan transgenik di perairan umum harus dihindari.
2. Apabila pengujian pengembangbiakan diperlukan, maka harus dilakukan di wadah berupa bak, atau kolam yang terpisah di kawasan Laboratorium Terbatas.
3. Memisahkan ikan jantan dan betina pada wadah tersendiri yang tidak saling berdekatan.
4. Saluran air pemasukan pada wadah tidak dibuat secara seri (air berasal dari wadah ikan jantan tidak dapat berhubungan langsung dengan saluran air masuk pada wadah ikan betina).
5. Memisahkan ikan transgenik sejenis berdasarkan ukurannya pada wadah tersendiri.
6. Memisahkan ikan transgenik sekerabat pada wadah tersendiri.
7. Melakukan monitoring dan penghitungan jumlah ikan secara teratur agar kemungkinan lolosnya ikan transgenik dapat dicegah dan diketahui lebih dini.
8. Setiap blok yang terdiri dari beberapa wadah harus diberi tanda yang menyatakan adanya percobaan ikan transgenik.
9. Area kerja harus selalu bersih.
10. Pakaian kerja harus dipakai di area kerja.
11. Peringatan khusus harus diberikan ke setiap orang yang bekerja di area kerja, misalnya "jangan memindahkan ikan transgenik dari tempatnya".

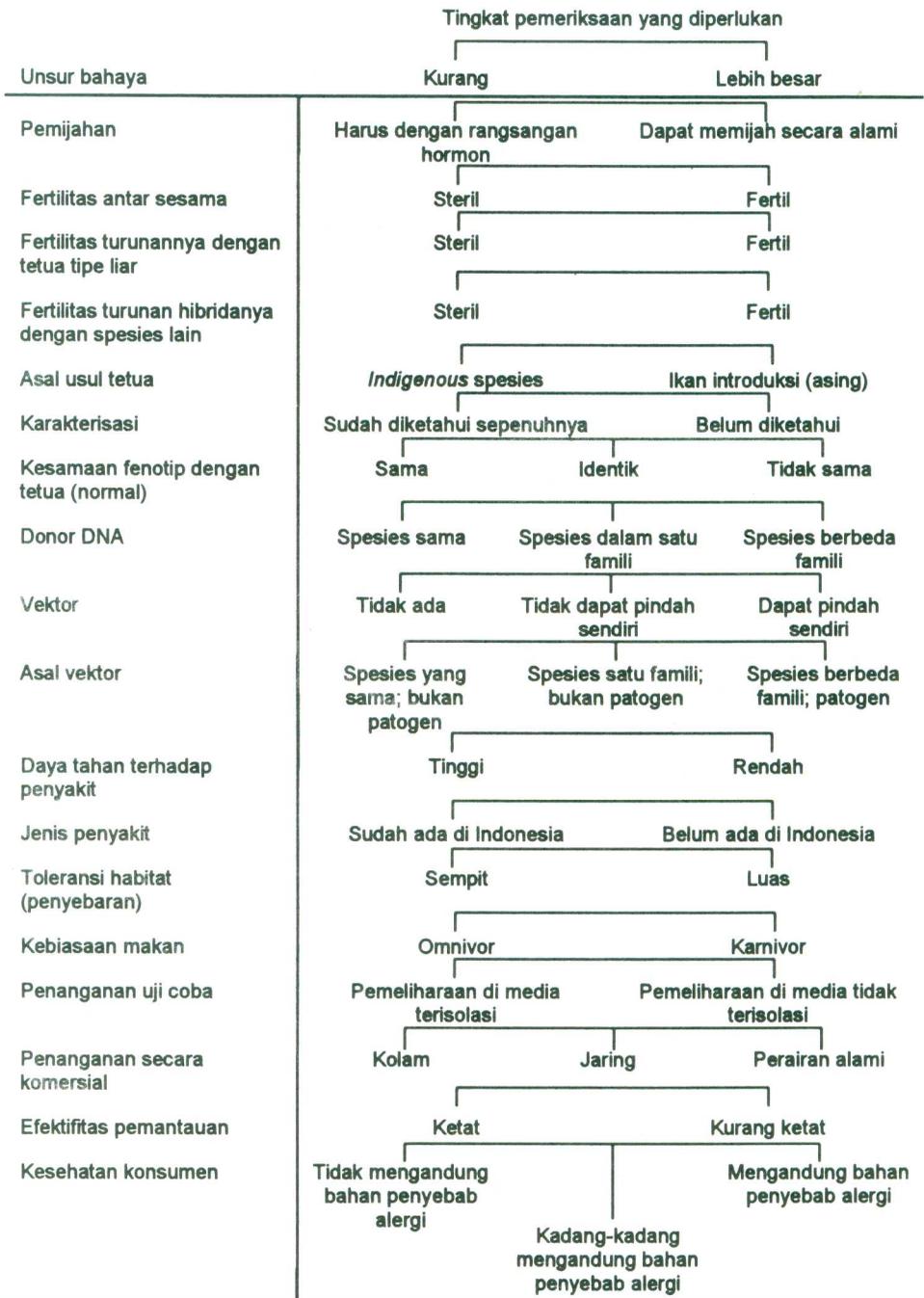
Ketentuan Percobaan Ikan Transgenik

1. Ketentuan-ketentuan rekomendasi berikut dirancang untuk mengurangi perpindahan gen baru melalui penyebaran sperma atau telur dari ikan transgenik kepada ikan sejenis atau kerabat liar. Sejumlah tindakan pencegahan dapat dilakukan untuk mengurangi peluang berpindahnya gen baru sehingga bersifat invasif.

2. Uji fertilitas terhadap ikan transgenik betina dan jantan perlu dilakukan untuk menilai risiko terhadap potensi berpindahnya gen (*gene flow*) kepada spesies kerabat liar atau persilangan dengan spesies lain. Prosedur pengujian fertilitas dapat diikuti pada Lampiran 5 dan 6.

FAKTOR-FAKTOR YANG PERLU DIPERTIMBANGKAN DALAM PENILAIAN RISIKO

Secara garis besar risiko keamanan hayati ikan transgenik adalah terhadap ekosistem dan kesehatan manusia sebagai konsumen. Potensi risiko dapat berupa (1) potensi untuk menjadi pemangsa yang sangat berlebihan, (2) potensi untuk menjadi pesaing makanan, (3) potensi berpindahnya gen (*gene flow*) secara tidak terkontrol, (4) potensi berdampak negatif pada organisme bukan sasaran, (5) potensi berdampak negatif pada keanekaragaman hayati, (6) potensi berdampak negatif terhadap kesehatan manusia. Karena itu, berbagai faktor berikut ini perlu diperhatikan sebagai dasar mengenai tingkat pemeriksaan yang diperlukan terhadap ikan transgenik.



DAFTAR PUSTAKA

- Cameron, E.R. 1997. Recent advances in transgenic technology. *Molecular Biotechnology* 7:253-265.
- Community Nutrition Institute. 1995. *Transgenic fish: The next threat to marine biodiversity*. 15 pp.
- Fletcher, G.L. and P.L. Davies. 1991. *Transgenic fish for aquaculture*. p. 331-370. *In: Setlow, J. (Ed.). Genetic engineering, principles and methods*. Plenum Press, New York.
- Howarth, L. and L. Orban. 1995. Genome and gene manipulation in common carp. *Aquaculture* 129:157-181.
- Kapuscinski, A.R. and E.M. Hallerman. 1990. Transgenic fishes. *Fisheries* 15(4):2-4.
- Ninawe, A.S. 1997. Growth hormone gene in transgenic fish production. *INFOFISH International* 2:29-32.
- Penman, D., A.J. Beeching, S. Penn, and MacLean. 1990. Factors affecting survival and integration following microinjection of DNA into rainbow trout eggs. *Aquaculture* 85:35-50.
- Pusat Karantina Ikan. 1995a. *Deskripsi hama dan penyakit ikan karantina: Parasit dan Cendawan*. Buku 1.
- Pusat Karantina Ikan. 1995b. *Deskripsi hama dan penyakit ikan karantina: Golongan Virus*. Buku 7.
- Regal, P.L. 1988. The adaptive potential of genetically engineered organism in nature. *TREE* 3(4):536-537.
- Ronald, J.R. 1978. *Fish pathology*. Bailliere Tindall. London. 318 pp.
- Sulaiman, Z.H. 1995. Transgenic fish research. *NAGA, The ICLARM Quarterly* 18(4):26-28.
- Tiedje, J.M., R.K. Colwell, Y.L. Grossman, R.E. Hodson, R.E. Lenski, R.N. Mack, and P.J. Regal. 1989. The planned introduction of genetically engineered organism: Ecological consideration and recommendations. *Ecology* 70(2):298-315.

Lampiran 1. Prosedur pengujian penyakit protozoa

1. Penyakit ayan (*Whirling disease*)

a. Nama dan penyebab penyakit

Nama penyakit: Penyakit ayan (*Whirling disease*).

Penyebab penyakit: *Mycosoma cerebralis*.

b. Distribusi geografis dan inang

Distribusi geografis: Eropa, Amerika, New Zealand, Afrika Selatan, dan Balkan.

Inang: Salmon (*Oncorhynchus kisutch*), Brown trout (*Salmo trutta*), Brook trout (*Salvelinus fontinalis*), dan Rainbow trout (*Salmo gairdneri*).

c. Tanda-tanda klinis

- Ikan berputar-putar, biasanya dua-tiga bulan setelah terinfeksi.
- Ujung belakang ekor berwarna kehitaman.
- Kelainan tulang belakang (*Scoliosis* dan *Lordosis*).
- Mortalitas tinggi pada infeksi yang serius.

d. Metode diagnosis

- Kepala dari ikan yang terinfeksi, dipisahkan dan dihangatkan dalam suhu 45°C dalam air 1–3 menit.
- Kemudian daging dan otak ikan diambil dan diencerkan dengan air 1 : 1, kemudian dihancurkan dengan memakai penggerus, dicampur dengan 10% formalin, kemudian dicuci di dalam beaker glass kecil dan diendapkan. Dari endapan tersebut dapat diamati langsung dengan menggunakan mikroskop perbesaran 400 kali.

2. Penyakit henneguya

a. Nama dan penyebab penyakit

Nama penyakit: Penyakit henneguya.

Penyebab penyakit: *Henneguya exilis*.

b. Distribusi geografis dan inang

Distribusi geografis: tersebar di daerah Amerika.

Inang: Channel catfish (*Ictalurus punctatus*).

c. Tanda-tanda klinis

- Serangan parasit ini menimbulkan pembengkakan pada jaringan yang terinfeksi.

- Kista berbentuk bintil berwarna putih dengan ukuran yang bervariasi, dapat ditemukan pada tempat infeksi.
 - Parasit dapat menyerang insang dan daging.
- d. Metode diagnosis
- Tanda-tanda klinis merupakan diagnosis secara tentatif terhadap adanya infeksi penyakit.
 - Diagnosis lanjutan dapat dilakukan dengan mengeluarkan spora dan memecahkan kista pada gelas objek.
 - Pengamatan dapat dilakukan terhadap bentuk dan ukuran spora dengan menggunakan mikroskop.

3. *Pleistopophora*

a. Nama dan penyebab penyakit

Nama penyakit: *Pleistophorosis*.

Penyebab penyakit: *Pleistophora hypheosobrycon*.

b. Distribusi geografis dan inang

Distribusi geografis: tersebar di seluruh Eropa.

Inang: biasanya ikan hias, inang definitifnya ikan Neon Tetra (*Hyphessobrycon innesi*).

c. Tanda-tanda klinis

- Bisul putih pada otot perut ikan.
- Warna tubuh memudar.
- Ikan mengalami kesukaran bernafas.

d. Metode diagnosis

- Pengamatan secara histologis dari organ yang diduga terinfeksi.
- Penentuan jenis parasit didasarkan atas jumlah spora yang dihasilkan oleh sporont dewasa. *P. hypheosobrycon* menghasilkan 16 spora atau lebih.

e. Nama dan penyebab penyakit

Nama penyakit: *Pleistophorosis*.

Penyebab penyakit: *Pleistophora anguillarum*.

f. Distribusi geografis dan inang

Distribusi geografis: tersebar di Jepang.

Inang definitifnya: Ikan Sidat (*Angilla japonica*).

- g. Tanda-tanda klinis
 - Pada infeksi serius ikan tumbuh dengan lambat.
 - Otot daging jadi lembut karena akibat terjadinya degenerasi sel.
- h. Metode diagnosis
 - Pemeriksaan dilakukan dengan pengamatan mikroskopis.
 - Preparat ulas dibuat dari bagian tubuh yang terinfeksi.

4. *Nosema*

- a. Nama dan penyebab penyakit
Nama penyakit: Tumor putih.
Penyebab penyakit: *Nosema* sp., parasit tersebut tergolong pada Kelas Microsporea, Ordo Microsporida, berbentuk oval.
- b. Distribusi geografis dan inang
Distribusi geografis: di Indonesia baru terdapat di sekitar Jawa Barat.
Inang yang terinfeksi: ikan Lele-lelean (*Catfish*).
- c. Tanda-tanda klinis
 - Tumor berwarna putih terdapat pada otot daging ikan yang terinfeksi.
- d. Metode diagnosis
 - Sampel jaringan diambil dari bagian tubuh ikan yang terinfeksi.
 - Pengamatan dilakukan secara mikroskopis terhadap preparat ulas yang terbuat dari bagian tubuh yang terinfeksi.
 - Identifikasi terhadap spora parasit tersebut didasarkan atas karakter dan bentuk spora, serta jumlah spora per sporont.

5. *Ceratomyxa*

- a. Nama dan penyebab penyakit
Nama penyakit: Ceratomyxosis.
Penyebab penyakit: *Ceratomyxa shasta*. Parasit tersebut menginfeksi saluran pencernaan ikan dan organ visceral seperti ginjal, hati, limfa, dan gonada.
- b. Distribusi geografis dan inang
Distribusi geografis: parasit tersebut tersebar di Amerika Serikat dan Kanada.
Inang yang dapat terinfeksi: meliputi Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*), Chinook salmon (*O. tshawitscha*), Sockeye salmon (*O.*

nerka), Chum salmon (*O. keta*), Steel head salmon (*Salmo gairdneri*), Cutthroat trout (*S. clarki*), Brown trout (*S. trutta*), Atlantic salmon (*S. salar*), Brook trout (*Salvelinus fontinalis*).

c. Tanda-tanda klinis

Pada salmon umur muda:

- Ikan hilang nafsu makan.
- Pembengkakan perut, yang biasanya penuh dengan cairan berwarna kuning kemerahan.
- Mata menonjol.
- Perdarahan terjadi pada daerah anus dan usus.
- Dinding usus menjadi lebih tipis, serta lesi/luka-luka pada alat dalam dan jaringan otot.
- Terjadi kematian pada infeksi berat.

Pada ikan dewasa:

- Pembengkakan serta perdarahan terjadi pada usus.
- Spora biasanya ditemukan pada usus dan gelembung renang serta alat dalam lainnya.

d. Metode diagnosis

- Sediaan dibuat dari dinding usus bagian belakang atau dari cairan pada perut yang mengembung, dan cairan pada gelembung renang. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop phase kontras dengan perbesaran 440 kali.
- Preparat apus kering dengan pengecatan Ziehl-Neelsen tanpa pemanasan. Dengan metode tersebut maka polar kapsul akan tercat merah dengan sporoplasma berwarna kebiruan.
- Preparat permanen dapat dibuat dari preparat apus/rentang dengan memakai fiksatif Schaudin's serta dicat dengan menggunakan Heidenhain's Iron Hematoxylin.

Lampiran 2. Prosedur pengujian penyakit mycosis (jamur)

1. *Aphanomyces*

a. Nama dan penyebab penyakit

Nama penyakit: Epizootic Ulcerative Syndrome (EUS)

Penyebab penyakit: *Aphanomyces piscicida*

b. Distribusi geografis dan inang

Distribusi geografis: meliputi daerah Australia dan Asia Tenggara.

Inang yang terinfeksi: meliputi ikan *Mugil cephalus*, Ekor Kuning (*Acanthopagrus australis*), Kakap Putih (*Lates calalifer*), Gurame (*Osphronemus gouramy*), Gabus (*Ophiosephalus striatus*), Lele (*Clarias batrachus*).

c. Tanda-tanda klinis

- Luka pada kulit ikan pada stadium awal infeksi.
- Nekrosa pada kulit disertai dengan terdapatnya granuloma pada kulit.
- Luka/borok pada kulit dan daging serta hypha jamur sering terdapat di sekitar luka.

d. Metode diagnosis

- Diagnosis dapat didasarkan pada gejala klinis dari ikan yang terinfeksi.
- Pengamatan mikroskopis dapat dilakukan dengan menggunakan mikroskop terhadap jaringan terinfeksi didasarkan atas adanya granuloma serta adanya hypha.
- Secara mikrobiologi dapat dengan cara mengisolasi jamur dan menanamkannya di atas media jamur (Czapek Dox Agar) yang disuplementasi dengan penisilin G (100 unit/ml) dan streptomycin sulphate (100 µg/ml).
- Identifikasi dapat dilakukan dengan didasarkan pada ciri-ciri jamur *Aphanomyces*. Diameter hypha 5-20 µ, bentuk spora dan bentuk kantong spora.

2. *Ichthyophonus*

a. Nama dan penyebab penyakit

Nama penyakit : Sand Paper Disease (penyakit ampas).

Penyebab penyakit: *Ichthyophonus hofery* atau *Ichtyosporidium hofery*.

b. Distribusi geografis dan inang

Distribusi geografis: meliputi Amerika Serikat bagian barat dan terdapat di seluruh dunia.

Inang: dapat terinfeksi ikan Mas, ikan Trout, dan ikan Salmon, serta Amphibia. Ikan dapat terinfeksi biasanya disebabkan karena diberi ikan rucah.

c. Tanda-tanda klinis

- Ikan hilang nafsu makan serta lemah.
- Pada infeksi yang akut terlihat adanya pembengkakan tubuh.
- Kelainan tulang belakang (scoliosis dan lordosis).
- Benjolan (nodul) berisi spora terdapat pada ginjal, hati, dan daging ikan.
- Spora terdapat juga pada limfa dan otak.
- Pada infeksi kronik biasanya tidak menunjukkan gejala khusus.

d. Metode diagnosis

- Pengamatan pada preparat basah yang diambil dari ginjal atau jaringan lain yang diduga terinfeksi.
- Pengamatan dilakukan terhadap spora dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran 100 kali.
- Pengamatan juga dilakukan terhadap adanya hypha yang menembus jaringan.

Lampiran 3. Prosedur pengujian penyakit karena bakteri pada ikan transgenik di laboratorium terbatas

1. Kultur bakteri

Bahan dan metode:

- 1) Buat agar plate yang berisi 15 ml medium kultur pada petridish yang telah disterilkan.
- 2) Sterilkan luka ikan dan ambil sedikit debris/bakteri dengan jarum ose steril.
- 3) Oleskan debris/bakteri secara zig-zag di permukaan medium kultur.
- 4) Inkubasi agar plate tersebut selama 48 jam.
- 5) Periksa setiap 24 jam untuk melihat pertumbuhan bakteri.
- 6) Kultur primer bakteri ini dapat dilanjutkan dengan kultur murni. Caranya adalah koloni bakteri yang tumbuh dikultur kembali pada agar plate baru.

2. Identifikasi bakteri dengan pewarnaan

a. Pewarnaan gram

Bahan dan metode:

- 1) Buat preparat ulas bakteri dengan menekankan gelas objek ke luka yang akan diperiksa. Apabila bakteri diambil dari media kultur, koloni diambil dengan jarum ose steril lalu diberi setetes larutan fisiologis.
- 2) Biarkan kering, lalu fiksasi dengan melewati gelas objek di atas api bunsen 2-3 kali atau meneteskan methyl alkohol dan dibiarkan menguap.
- 3) Tuangkan larutan kristal violet di atas preparat ulas, biarkan 1 menit.
- 4) Buang kelebihan larutan tersebut, lalu cuci dengan air bersih untuk beberapa detik.
- 5) Teteskan larutan iodine dan biarkan 30 detik.
- 6) Cuci dengan air bersih selama 15 detik.
- 7) Tambahkan etil alkohol 95% yang mengandung 5% aseton dan biarkan 30 detik
- 8) Cuci dengan air bersih.
- 9) Counterstain dengan safranin selama 10 detik.
- 10) Cuci dengan air bersih.

- 11) Biarkan preparat kering udara, kemudian periksa dengan mikroskop objektif 100x (menggunakan minyak immersi).

Hasil: Bakteri gram positif: biru.

Bakteri gram negatif: merah.

b. Acid fast stain

Bahan dan metode:

- 1) Siapkan preparat ulas dan fiksasi.
- 2) Warnai dengan pewarna Ziehl Nielson selama 5 menit. Pada saat yang bersamaan, preparat tersebut dipanasi sampai timbul uap dari pewarna.
- 3) Cuci dengan air bersih.
- 4) Tambahkan 3% HCl dalam alkohol 95% sampai preparat ulas menjadi merah muda.
- 5) Counterstain dengan 5% methylene blue.
- 6) Cuci dengan air bersih.
- 7) Biarkan kering udara sebelum diperiksa.

Hasil: Bakteri acid fast: merah

Lainnya: biru.

c. Pewarnaan negatif

Bahan dan metode:

- 1) Campurkan bakteri dengan larutan pewarna negatif (10 g nigrosin dalam 100 ml akuades dan 0,5 ml formalin).
- 2) Biarkan kering, lalu periksa.

Hasil: Bakteri → tidak berwarna, latar belakang: abu-abu gelap.

3. Identifikasi bakteri dengan reaksi biokimiawi

a. Aktivitas katalase

Bahan dan metode:

- 1) Tumbuhkan bakteri pada agar miring.
- 2) Alirkan 1 ml H₂O₂ 3% pada agar miring tempat tumbuh bakteri.
- 3) Periksa segera dan 5 hari kemudian dilihat adanya gelembung gas.

Kontrol: Positif: *Staphylococcus epidermis*.

Negatif: *Streptococcus faecalis*.

b. Aktivitas oksidase

Bahan dan metode:

- 1) Letakkan kertas saring (diameter 7 cm) dalam petridish.
- 2) Teteskan 2-3 tetes reagen oksidase.
- 3) Ulaskan bakteri ke atas kertas saring dengan ose platinum (bukan nikrom).
- 4) Reaksi positif terjadi bila warna ungu gelap pada kertas dalam waktu 10 detik.

Kontrol: Positif: *Pseudomonas aeruginosa*.

Negatif: *Escherichia coli*.

c. Penggunaan sitrat

Bahan dan metode:

- 1) Inokulasi sitrat Simmon pada kultur bakteri dalam agar miring.
- 2) Periksa setiap hari sampai 7 hari untuk melihat pertumbuhan dan perubahan warna.
- 3) Bakteri positif dapat dikonfirmasi dengan subkultur menggunakan sitrat Koser.
- 4) Jika timbul warna biru dan pertumbuhan pada bekas olesan sitrat = sitrat digunakan. Jika warna hijau yang muncul = sitrat tidak digunakan.

Kontrol: Positif: *Klebsiella aerogenes*.

Negatif: *Escherichia coli*.

d. Reaksi dekarboksidase

Bahan dan metode:

- 1) Inokulasi bakteri hasil kultur ke-4 tabung berisi media arginin, lysine, ornithine, dan kontrol yang telah ditutup dengan lapisan parafin. Gunakan ose lurus.
- 2) Inkubasi dan periksa setiap hari sampai 4 hari.
- 3) Media akan berubah menjadi kuning karena produksi asam dari glukosa.
- 4) Apabila terjadi dekarboksilasi medium akan berwarna violet sedangkan kontrol tetap berwarna kuning.

Kontrol:

Arginin	Lysin	Omithin	
-	-	-	<i>Protease vulgaris</i>
+	-	-	<i>Aeromonas liquefacilus</i>
-	+	-	<i>Klebsiella aerogenes</i>
-	-	+	<i>Proteus morganii</i>
+	+	-	<i>Salmonella typhi</i>
+	-	+	<i>Enterobacter cloacal</i>
-	+	+	<i>E. aerogenes</i>
+	+	+	<i>S. typhimurium</i>

e. Digesti casein

Bahan dan metode:

- 1) Inokulasi bakteri pada cawan berisi casein agar milk.
- 2) Periksa secara berkala sampai dengan hari ke-14 untuk melihat penjernihan area medium di sekitar pertumbuhan bakteri.

Kontrol: Positif: *Bacillus subtilis*.

Negatif: *Mycobacterium phlei*.

f. Gelatine lignefaction

Bahan dan metode:

- 1) Inokulasi bakteri pada media agar gelatin.
- 2) Inokulasi 5-10 ml larutan asam merkuri klorida pada permukaan agar.
- 3) Zona yang jernih menunjukkan area di mana terjadi hidrolisis gelatin.

Kontrol: Positif: *Aeromonas liquefaciens*.

Negatif: *Escherichia coli*.

g. Produksi H₂S

Bahan dan metode:

- 1) Buat kultur bakteri 48 jam pada pepton water atau nutrient broth.
- 2) Tambahkan 1 ml eter atau xylol.
- 3) Kocok, alirkan 0,5 ml pereaksi Ehrlich ke tabung.

- 4) Jika terjadi warna pink atau merah pada larutan merupakan tanda adanya indole.

Kontrol: Positif: *Escherichia coli*.

Negatif: *Enterobacter cloacal*.

h. Reaksi MR (methyle red) dan V-P (voges-proskaner)

Bahan dan Metode:

- 1) Inokulasi bakteri ke medium MR dan V-P.
- 2) Inkubasi pada suhu 30°C selama 5 hari, atau 37°C selama 2 hari. Tambahkan 2 tetes methyle red.
- 3) Kocok dan periksa, materi ini disimpan untuk uji V-P.
- 4) Hasil: Merah: +
Orange: +/-
Kuning: -

Kontrol: Positif: *Escherichia coli*.

Negatif: *Enterobacter cloacal*.

- 5) Setelah tes MR, tambahkan 0,6 ml larutan naphthol dan 0,2 ml larutan KOH 40%.
- 6) Kocok, periksa setelah 15 menit dan 1 jam. Reaksi positif ditandai dengan timbulnya warna merah.

Kontrol: Positif: *Enterobacter cloacal*.

Negatif: *Escherichia coli*.

i. Reduksi nitrat

Bahan dan metode:

- 1) Inokulasi bakteri pada nutrient broth.
- 2) Inokulasi selama 5 hari.
- 3) Periksa adanya pembentukan gas pada tabung Durham.
- 4) Tambahkan 1 ml reagen nitrat A, kemudian 1 ml reagen B.
- 5) Timbulnya warna merah menunjukkan adanya nitrit.

Kontrol: Reduksi: *Escherichia coli*.

Tidak tereduksi: *Acinebacter anitratus*.

j. Uji ONPG (O-nitrophenol- β -D-galactopyranoside)

Bahan dan metode:

- 1) Inokulasi bakteri pada tabung berisi kaldu ONPG.
- 2) Inkubasi 24 jam.
- 3) Jika terjadi aktivitas galactosidase timbul warna kuning dari o-nitrophenol.

Kontrol: Positif: *Escherichia coli*.
Negatif: *Proteus morganii*.

k. Hidrolisis pati

Bahan dan metode:

- 1) Inokulasi bakteri pada starch agar.
- 2) Inkubasi 5 hari pada suhu 30°C.
- 3) Tuangkan larutan Lugol's Iodine. Jika medium menjadi biru berarti pati tidak terhidrolisis, tetapi jika terbentuk zona yang jernih terjadi hidrolisis.

Kontrol: Positif: *Bacillus subtilis*.
Negatif: *Escherichia coli*.

l. Aktivitas urease

Bahan dan metode:

- 1) Inokulasi bakteri pada medium miring dari urea christensen.
- 2) Periksa setelah 4 jam dan selanjutnya setiap hari sampai dengan hari ke-5.
- 3) Jika timbul warna merah berarti urea telah terhidrolisis.

Kontrol: Positif: *Proteus vulgaris*.
Negatif: *Escherichia coli*.

Lampiran 4. Prosedur pemeriksaan penyakit karena virus pada ikan transgenik di laboratorium terbatas

1. Homogenisasi: Cara penggerusan organ tubuh ikan untuk isolasi virus

Bahan dan alat:

- 1) Organ tubuh ikan.
- 2) PBS atau TC medium.
- 3) Mortar dan pestle.
- 4) Sentrifus.
- 5) Milipore 450 nm.
- 6) Tabung Leighton/flask.
- 7) Inkubator.

Prosedur:

- 1) Ambil organ tubuh ikan secara steril.
- 2) Gerus dengan mortar dan pestle.
- 3) Satu bagian jaringan/organ ditambah 9 bagian PBS atau TC medium.
- 4) Suspensi organ disentrifus 700 g atau 100 rpm selama 10 menit.
- 5) Suspensi disaring dengan milipore 450 nm.
- 6) Filtrat diencerkan dengan PBS 1 : 50 atau 1 : 100.
- 7) Inkulasi 0,2 ml filtrat ke dalam TC pada tabung Leighton/flask dengan "confluence" 70-80%.
- 8) Inkubasi dalam inkubator dan periksa setiap hari untuk melihat CPE, selama 7 hari.
- 9) Apabila tidak ada CPE, lakukan pasasi menggunakan sel baru dan diobservasi selama 7-10 hari. Bila tidak ada CPE lagi, dianggap negatif.
- 10) Pasasi dilakukan dengan medium penumbuh (*cell line*) siap pakai suhu 20°C setiap 5-10 hari.

Daftar cell line ikan untuk pasasi sel

Singkatan	Nama cell line	Asal spesies
AS	Atlantic salmon	<i>Salmo salar</i>
BB	Brown bullhead	<i>Ictalurus nebulosis</i>
BGL	Bluegill	<i>Lepomis macrochirus</i>
BF-2	Bluegill fry	<i>L. macrochirus</i>
CAR	Goldfish	<i>Carassius auratus</i>
CCO	Channel catfish ovary	<i>I. punctatus</i>
CHH-1	Chum salmon heart-1	<i>Oncorhynchus keta</i>
CHSE-214	Chinook salmon embryo	<i>O. tshawitscha</i>
CSE	Coho salmon embryo	<i>O. kisutch</i>
EPC	Epithelium papillosum cyprinid	<i>Cyprinus carpio</i>
FHM	Fathead minnow	<i>Pimephalis promelas</i>
GF-1	Gruno fin-1	<i>Haemulon sciarus</i>
LBF	Large mouth bass fry-1	<i>Micropterus salmoides</i>
RTF-1	Rainbow trout fry-1	<i>S. gairdneri</i>
RTG-2	Rainbow trout gonad-2	<i>S. gairdneri</i>
SSE	Sockeye salmo embryo	<i>O. nerka</i>
STE-137	Steel head trout embryo-137	<i>S. gairdneri</i>
SWT	Red swordtail embryo	<i>Xyphophorus helleri</i>

Penggunaan cell line untuk beberapa virus ikan

Nama penyakit	Cell lines		
	Nama	Temp. (°C)	CPE
Channel catfish virus disease (CCVD)	BB	25-30	Syncytia, cytoplasmic vacuola 2-7 hari
	CCO	25-30	Idem
Spring viraemia of carp (SVC)	FHM	20-22	Sel membengkak dan lisis total
	BB	20-22	Idem
	BF-2	20-22	Idem
	RTG-2	20-22	Idem
Swimblader inflamation (SBI)	FHM	20-22	Sel membengkak dan lisis total
	BB	20-22	Idem
	BF-2	20-22	Idem
	RTG-2	20-22	Idem
Infectious pancreatic necrosis (IPN)	CHSE-214	20-25	Focal necrosis, sel memanjang, granular sitoplasm, total necrosis
	BF-2	20-25	Idem
	RTG-2	20-25	Idem
Infectious hematopoietic necrosis (IHN)	EPC	15	Membran inti menebal, sel membulat dan granular, dan kemudian melepas dari permukaan tabung
	FHM	15	Idem
	CHSE-214	15	Idem

2. Pemeriksaan jaringan limfoid udang

a. Pemeriksaan dengan mikroskop elektron

Bahan dan metode:

Jaringan limfoid udang diambil dengan ukuran 1 mm³ untuk difiksasi dalam fiksatif berikut:

- 1) 25% glutaraldehyde atau 2% paraformadehyde.
- 2) 0,1 M sodium cacodylate dalam buffer air laut yang telah disaring dengan filter milipore selama 2 jam pada suhu kamar dengan pH 7,2, kemudian jaringan tersebut:
 - 2.1) Dicuci dengan 0,1 M sodium cacodylate dalam buffer air laut yang telah disaring dengan filter milipore selama 2 x 10 menit.
 - 2.2) Fiksasi dalam buffer 1% osmium tetraoksida pada suhu kamar selama 1 jam.
 - 2.3) Dicuci dengan buffer selama 10 menit.
 - 2.4) Didehidrasi dalam 30, 50, 70, 80, 90, dan 95% ETOH masing-masing selama 10 menit.
 - 2.5) Didehidrasi lanjut dalam 100% ETOH selama 2 x 10 menit.

b. Pemeriksaan MBV dengan mikroskop cahaya

Bahan dan metode:

- 1) Feses atau hepatopankreas/usus segar.
- 2) Tetesi dengan 0,1% atau 0,05% malachite green.
- 3) Lihat di bawah mikroskop cahaya pembesaran 1000 kali.
- 4) Badan oklusi berwarna lebih hijau terang dibandingkan dengan sel-sel lainnya.

c. Pemeriksaan *yellow head disease* (YHD) pada udang

Bahan dan metode:

- 1) Buat ulas hemalymph (darah udang).
- 2) Beri pewarna giemsa.
- 3) Lihat di bawah mikroskop, pada udang yang terkena virus YHD, akan terlihat adanya kerusakan sel hematosit seperti pengerutan inti sel (*pyknosis*), pecah inti selnya (*karyorrhexis*) dan rusaknya cytoplasma sel (*basophilic cytoplasmic inclusion*).

Lampiran 5. Uji fertilitas ikan transgenik betina

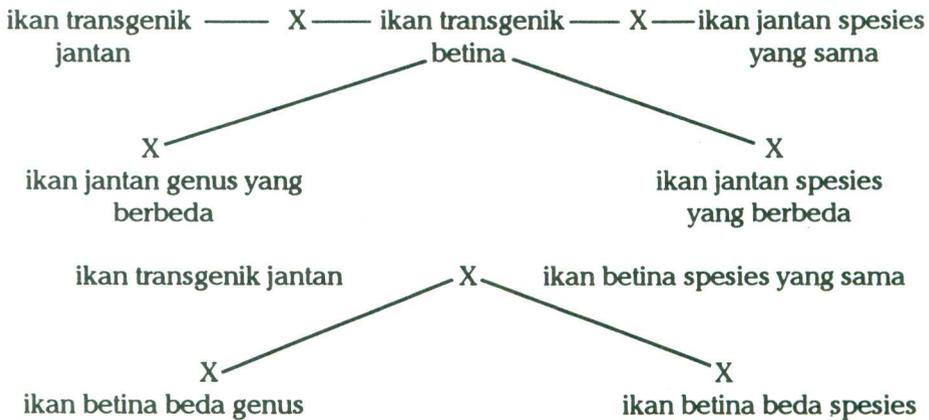
Tujuan: mengetahui apakah ikan transgenik tersebut dapat menghasilkan keturunan apabila dikawinkan dengan ikan normal dari spesies atau genus yang sama.

Bahan:

1. Ikan transgenik betina dan jantan.
2. Ikan betina dan jantan dari spesies yang sama (yang bukan transgenik).
3. Ikan dengan genus berbeda tapi masih dalam satu famili, juga dengan jantan dan betina.
4. Hormon untuk "induced spawning" yaitu ovaprim, HCG (*pregnyl*), CPG.
5. Alat suntik (*syringe*) 1-3 ml.
6. Perlengkapan untuk pembuahan buatan.
7. Tangki fiberglass berkapasitas 1-3 m³.
8. Kolam/tangki pemijahan.

Prosedur:

1. Induk betina yang telah matang gonad dapat diketahui dengan pengamatan ciri seks sekunder dan penilaian terhadap telur yang diambil dengan kateter.
2. Induk betina disuntik dengan hormon gonadotropin, dipelihara dalam bak dengan kondisi lingkungan optimal. Suntikan hormon dapat dilakukan satu atau dua kali bergantung kepada spesies ikannya.
3. Sesudah waktu ovulasi dicapai, pengurutan (*stripping*) telur dan sperma dilakukan sesuai dengan rancangan yang telah disiapkan. Telur dan sperma dicampur secara kering.



Parameter yang diamati adalah:

Derajat pembuahan, derajat penetasan, pertumbuhan pada fase pendederan.

Kriteria penilaian risiko:

1. Fertilitas dengan ikan normal dari spesies yang sama.
Positif: bila fertilitas tinggi ($>80\%$) dan bila memijah secara alamiah.
Negatif: bila fertilitas sangat rendah ($<5\%$) dan bila tidak dapat memijah secara alamiah.
2. Fertilitas dengan ikan normal beda spesies.
Positif: bila fertilitas tinggi ($>80\%$) dan dapat memijah secara alamiah.
Negatif: bila fertilitas sangat rendah ($<5\%$) dan tidak dapat memijah secara alamiah.
3. Peran keturunannya dalam ekosistem.
Positif: bila potensial menjadi bersifat merusak ekosistem.
Negatif: bila tidak merusak ekosistem.

Lampiran 6. Uji fertilitas ikan transgenik jantan

Bahan:

1. Ikan transgenik jantan dewasa.
2. Ikan betina dewasa spesies ikan tetua (tipe liar).
3. Ikan betina dewasa spesies berbeda tetapi masih dalam satu famili atau masih satu famili.
4. Kolam pemijahan.
5. Perlengkapan untuk pembuahan buatan (*syringe* 2 ml dengan jarum No. 25), larutan fisiologis, mangkok plastik, bulu ayam, dll.

Prosedur:

1. Pemijahan alami

Ikan betina (tipe liar) dan ikan transgenik jantan yang sudah matang gonad dilepaskan ke dalam kolam pemijahan. Lakukan rangsangan lingkungan sesuai dengan spesies ikan tersebut. Amati selama satu sampai tiga malam. Parameternya adalah mijah atau tidak mijah.

2. Pemijahan buatan

Ikan betina (tipe liar) dan ikan transgenik jantan disuntik dengan hormon (ekstrak kelenjar hipofisis dan/atau hormon lain) untuk merangsang ovulasi. Pada waktunya dilakukan pengurutan (*stripping*) telur dan sperma. Sperma dari ikan transgenik jantan digunakan untuk membuahi telur dari ikan betina tipe liar atau ikan betina spesies yang berbeda. Parameter yang diamati adalah derajat pembuahan, derajat penetasan, dan kelangsungan hidup sampai juvenil.

Kriteria penilaian risiko:

1. Positif

- Bila terjadi pemijahan alamiah.
- Bila dapat menghasilkan keturunan dengan ikan tipe liar tetuanya dan spesies lain.
- Bila turunannya potensial untuk merusak ekosistem.

2. Negatif

- Bila tidak dapat memijah dengan tipe liar tetuanya secara alamiah.
- Bila tidak terjadi pembuahan atau larva tidak dapat berkembang.

Lampiran 7. Biologi Ikan dan udang

Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Umum

Cyprinus carpio Linn., yang umum dikenal sebagai ikan Mas merupakan ikan omnivora bernilai ekonomis penting yang hidup di air tawar yang pembudidayaannya telah memasyarakat. Ikan ini mampu beradaptasi dari dataran tinggi sampai dataran rendah. Ikan Mas dibudidayakan terutama untuk pangan manusia dan ada sebagian kecil yang dipelihara sebagai ikan hias. Ada beberapa ras ikan Mas yang terkenal antara lain ras Majalaya, Punten, dan Sinyonya. Di Indonesia produksi ikan Mas menempati urutan tertinggi di antara ikan-ikan budi daya lainnya.

Taksonomi dan Kekerabatan

Cyprinus merupakan genus dari famili Cyprinidae dan pada umumnya dikenal sebagai famili Cyprinid. Genus tersebut hanya terdiri dari satu spesies yang dikenal, yaitu *Cyprinus carpio*. Cyprinid yang lain misalnya ikan Tawes (*Puntius gonionotus*), ikan Nilem (*Osteochilus hasselti*), ikan Mata Merah (*P. orphroides*), yang juga terkenal dibudidayakan di Indonesia, di samping merupakan ikan asli yang hidup di negara-negara Asia Tenggara lainnya seperti Malaysia dan Thailand.

Morfologi

Tubuh ikan Mas agak memanjang dan memipih tegak (*compressed*). Di bagian anterior mulut terdapat dua pasang sungut. Secara umum, hampir seluruh tubuh ikan Mas ditutupi dengan sisik. Hanya sebagian kecil saja tubuhnya tidak tertutup sisik. Sisik ikan Mas berukuran relatif besar dan digolongkan dalam tipe sisik sikloid. Sirip punggung (*dorsal*) berukuran relatif panjang dengan bagian belakang berjari-jari sirip keras dengan jari-jari sirip yang ketiga dan keempat terakhirnya bergerigi. Letak permukaan sirip punggung berseberangan dengan permukaan sirip perut (*ventral*). Sirip dubur (*anal*) yang terakhir bergerigi. Gurat sisi (*linea lateralis*) terletak di pertengahan tubuh, melintang dari tutup insang sampai ke ujung belakang pangkal ekor. Gigi kerongkongan (*pharyngeal teeth*) terdiri dari tiga baris yang berbentuk gigi geraham.

Reproduksi

Ikan Mas jantan yang berumur sekitar 9 bulan umumnya sudah siap memijah (matang gonad), sedangkan pada ikan betina kematangan tersebut di-

capai pada umur 12 bulan. Pemijahan terjadi sepanjang tahun, tidak tergantung musim dan secara alami terjadi pada tengah malam sampai fajar. Menjelang memijah, induk-induk menunjukkan sifat yang lebih agresif. Di alam, misalnya di perairan umum, sebelum memijah biasanya ikan Mas akan mencari tempat yang rimbun dengan tanaman air. Substrat (tanaman air) itu merangsang pemijahan dan digunakan sebagai tempat meletakkan telur-telurnya yang memiliki daya rekat tinggi. Telur ikan Mas berbentuk bulat, bening, berukuran 1,5-1,8 mm dengan berat 0,17-0,20 mg.

Asal Usul dan Penyebaran

Ikan Mas asal mulanya dari sungai Danube dan Laut Hitam. Karena ikan ini tahan terhadap lingkungan, maka dengan cepat mudah menyebar ke seluruh dunia. Ikan Mas yang ada di Indonesia berasal dari Cina dan Eropa yang kemudian berkembang menjadi ikan budi daya. Karena domestikasinya sudah sedemikian lama, kini terdapat ras-ras atau strain-strain lokal yang terbentuk secara alami maupun karena campur tangan manusia.

Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Umum

Oreochromis niloticus di Indonesia dikenal sebagai ikan Nila merupakan jenis ikan yang mengerami telur dan larvanya dalam mulut induk betina (*mouth breeder*). Ikan ini telah menjadi ikan konsumsi yang cocok untuk usaha budi daya karena digemari masyarakat, mudah memijah secara alami, tumbuh cepat, mempunyai toleransi terhadap perubahan suhu dan relatif tahan penyakit dan dipelihara tanpa persyaratan yang rumit. Di Indonesia, produksi ikan Nila telah mencapai nomor tiga setelah ikan Mas dan Tawes. Ikan Nila merupakan ikan sungai atau danau, dan termasuk omnivora.

Taksonomi dan Keekerabatan

Ikan Nila jantan dan betina dapat dibedakan dengan melihat ciri kelaemin sekunder, besarnya sisik dan sifat lainnya. Ikan Nila termasuk dalam kelompok cichlid. Di Indonesia terdapat dua macam, yaitu ikan Nila Merah dan Hitam (strain lokal dan gift). Spesies lain yakni ikan Mujair, telah ada terlebih dahulu. Ikan Nila tersebut telah tersebar di seluruh wilayah Indonesia.

Morfologi

Tubuh ikan Nila memanjang, ramping, dan relatif pipih. Sisik besar, kasar, dan berbentuk estenoid, gurat sisi terputus di bagian tengah badan

yang kemudian berlanjut dan letaknya lebih ke bawah. Jumlah sisik pada gurat sisi sebanyak 34 buah dan terdapat 8 garis tegak pada kedua sisi tubuh. Mata besar dan menonjol dengan tepi berwarna putih. Sirip anal mempunyai 3 duri dan 8-11 jari-jari halus. Warna sisik abu-abu kecoklatan (Nila Hitam) dan putih dan/atau merah (Nila Merah).

Reproduksi

Ikan Nila mulai memijah pada umur 4 bulan (panjang badan sekitar 10 cm; bobot 120 g). Perkembangbiakannya terjadi sepanjang tahun (tidak mengenal musim). Daur hidup ikan ini berlangsung selama 4 bulan dengan tahapan: telur-larva-benih-dewasa-induk. Telur-telur yang telah dibuahi berwarna abu-abu sampai kuning, tenggelam dan tidak melekat. Telur tersebut dierami dalam mulut induk betina dan akan menetas setelah 3-5 hari dan menghasilkan larva dengan panjang 4-5 mm. Larva diasuh dalam mulut induk betina selama 11 hari sampai menjadi benih dengan ukuran 8 mm.

Asal Usul dan Penyebaran

Ikan Nila berasal dari Sungai Nil di Afrika, kemudian menyebar ke negara-negara lain. Di Indonesia, ikan Mujair mulai dikenal pada tahun 1949. Ikan Nila Hitam didatangkan dari Taiwan pada tahun 1969, sementara ikan Nila Merah didatangkan dari Filipina pada tahun 1980.

Udang Windu (*Penaeus monodon*)

Umum

Penaeus monodon dikenal dengan nama udang Windu, merupakan udang laut, bersifat eurihaline (5-45 promil), dan telah dibudidayakan oleh petani dalam tambak. Udang ini mempunyai nilai ekonomis tinggi sebagai udang konsumsi. Suhu air optimum bagi kehidupannya berkisar antara 22-30°C, dan kisaran pH 7,0-8,5.

Taksonomi dan Kekerabatan

Udang Windu sebagai salah satu udang penaeid, termasuk keluarga crustacea. Jenis udang lainnya antara lain adalah *P. japonicus*, *P. merguensis*, *P. occidentalis*, *P. schmitti*, *P. semiculatus*, *P. setiferus*, dan *P. scavenger*. Udang Windu dapat dibedakan dengan spesies lainnya dengan melihat keberadaan hepatic carina, tidak adanya gastro frontal carina, eksopodite, rostrum dengan formula 6-8/2-4 (rata-rata 7/3), warna coklat kegelapan

bercak-bercak pada kulit abdomen dan karapas. Dalam sistematika, yang penting adalah rostrum, karapas, karina pada karapas, telson, antena, antenula, petasma/thelicum, apendik maskeluna, thelum, gastrik mill atau stomadal apparatus.

Morfologi

Bagian tubuh udang Windu terdiri atas kepala, dada dan perut. Di kepala, terdapat 2 pasang mata bertangkai, sepasang antena, sepasang mandibula, 2 pasang maxilla. Pada dada terdapat 3 pasang maxilliped, 5 pasang kaki jalan. Abdomen terdiri atas 6 ruas tubuh, 5 pasang kaki renang, satu pasang artophoda dan thelum. Tubuh tertutup kerangka luas (eksoskeleton) yang terbuat dari khitin. Kepala mengeras, kecuali pada sambungan antar-ruas untuk memudahkan udang bergerak. Bagian kepala dan dada tertutup oleh karapas. Pada bagian kepala terdapat rostrum yang memanjang dan meruncing serta bergerigi di bagian atas dan bawah. Mulut udang terdapat di bagian bawah kepala di antara mandibula. Kanan kiri kepala terdapat insang yang tertutup kelopak.

Reproduksi

Udang Windu betina mempunyai sepasang ovarium, sepasang oviduc, dan thelicum. Thelicum berfungsi sebagai alat penampung sperma sebelum terjadi pembuahan. Telur keluar dari saluran telur dan akan dibuahi oleh sperma. Dengan bantuan petasma, spermatozoa diletakkan dalam thelicum udang betina. Apabila udang betina bertelur, kantong penyimpan spermatozoa pecah dan kemudian akan membuahi telur di luar tubuh induk. Kematangan gonad udang betina ada 4 tingkatan dan dapat dilihat dari perkembangan ovarinya mulai dari karapas sampai pangkal ekor, dari warna hijau hingga menjadi hijau gelap. Udang jantan ditentukan oleh perkembangan petasma yang sempurna dan mengandung spermatozoa. Perkawinan udang Windu terjadi pada malam hari sesaat setelah udang betina berganti kulit. Pemijahan udang Windu terjadi sepanjang tahun, yaitu pada akhir musim penghujan antara bulan Desember sampai Maret dan antara Juni sampai September. Perubahan suhu dan salinitas air merangsang pemijahan. Telur udang Windu menetas 10-12 jam setelah pembuahan.

Habitat dan Penyebaran

Udang Windu hidup pada air asin (salinitas 45 ppt) hingga air payau (3 ppt), tetapi salinitas optimumnya adalah 20-30 ppt. Penyebarannya di perairan Indo-Pasifik mulai dari Jepang sampai Afrika; antara lain Taiwan, Filipina, Indonesia, Malaysia, Thailand, Australia, dan India.

Tim Penyusun
Pedoman Pelaksanaan Pengujian Keamanan Hayati
PBPHRG Seri Ikan

- ◆ Prof. Dr. Ir. Komar Sumantadinata, MSc.
- ◆ Dr. Odang Carman
- ◆ Dr. Achmad Rukyani
- ◆ Drs. Djoko Suseno, SU
- ◆ Dr. Husni Amrulah, M.Agr.