

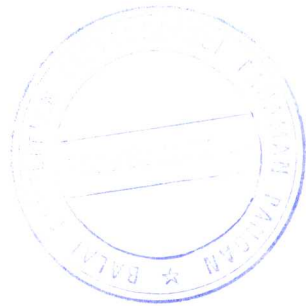
PC076
5164

BAD
P

Pedoman

Pelaksanaan Pengujian Keamanan Hayati Produk Bioteknologi Pertanian Hasil Rekayasa Genetik

Seri Hewan



**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 Hewan berisi tentang pengertian umum dan ruang lingkup pengujian, kriteria tingkat bahaya dan fasilitas pengujian, tata cara pengujian, tata cara pelaksanaan pengujian dalam laboratorium terbatas, dan tata cara pelaksanaan pengujian di lapangan terbatas.

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 Pengujian.....	1
Kriteria Tingkat Bahaya dan Fasilitas Pengujian	2
Tata Cara Pengujian	4
Tata Cara Pelaksanaan Pengujian dalam Laboratorium Terbatas	11
Tata Cara Pelaksanaan Pengujian di Lapangan Terbatas	19
Daftar Pustaka	20

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Persyaratan FUT hewan	22
Lampiran 2. Contoh hewan transgenik	35
Lampiran 3. Contoh bahan asal hewan transgenik dan protein rekombinan	36
Lampiran 4. Protein yang potensial untuk obat-obatan dan kimia medis yang telah diproduksi menggunakan teknik rekombinan DNA	37
Lampiran 5. Ekspresi transgen pada jaringan tertentu	38
Lampiran 6. Parameter kinerja obyektif dan subyektif pada hewan ternak	39

PENGERTIAN UMUM DAN RUANG LINGKUP PENGUJIAN

Pengertian Umum

Teknologi rekayasa genetik telah lama digunakan pada hewan baik pada taraf penerapan maupun eksperimental, yang tujuan utamanya adalah mengubah materi genetik suatu hewan sehingga terjadi perubahan fenotipik baik bersifat menyeluruh maupun parsial. Dua aspek yang dapat diharapkan dalam pemanfaatan teknologi tersebut adalah: (1) “perbaikan” kinerja atau produktivitas ternak/hewan secara lebih cepat dibandingkan dengan teknik pemuliaan konvensional dan (2) “introduksi” komponen baru (gen) dengan keunggulan tertentu. Termasuk dalam kategori pertama di antaranya adalah usaha untuk menyisipkan gen yang merangsang pertumbuhan dan produksi susu, sedangkan yang termasuk dalam kategori kedua di antaranya adalah penyisipan gen untuk produksi protein farmasetik melalui susu, produksi organ tubuh untuk pencangkokan pada manusia, ketahanan terhadap penyakit tertentu, sistem kekebalan tubuh, dan kemampuan pemanfaatan pakan yang lebih baik. Hasil akhir dari proses rekayasa genetik bisa mendatangkan manfaat yang besar, namun demikian bisa pula membawa konsekuensi yang merugikan/membahayakan manusia. Bahaya atau kerugian yang terjadi dapat berupa ancaman terhadap eksistensi hewan yang bersangkutan dan lingkungan yang meliputi manusia, alam, dan ekosistem hewani di sekitarnya.

Dalam rangka pengaturan keamanan hayati produk bioteknologi, Departemen Pertanian Republik Indonesia telah mengeluarkan Keputusan Menteri Pertanian No. 856/Kpts/HK.330/9/1997 tentang Ketentuan Keamanan Hayati Produk Bioteknologi Pertanian Hasil Rekayasa Genetik (PBPHRG). Salah satu jenis dari PBPHRG adalah hewan transgenik dan bahan atau produk yang berasal dari hewan transgenik. Pemanfaatan jenis PBPHRG di Indonesia harus dilakukan secara seksama, untuk menghindari adanya dampak negatif yang membahayakan bagi manusia maupun lingkungan seperti telah disinggung di atas. Oleh karena itu, uji keamanan hayati hewan transgenik dan bahan atau produk asal hewan transgenik perlu dilakukan secara dini. Keamanan hayati yang dimaksud dalam SK Menteri Pertanian tersebut adalah keadaan yang dihasilkan melalui upaya pencegahan terhadap hewan transgenik dan bahan atau produk asal hewan transgenik yang dapat mengganggu, merugikan dan/atau membahayakan bagi manusia, keanekaragaman hayati, dan lingkungan.

Proses produksi hewan transgenik dan bahan atau produk asal hewan transgenik melalui rekayasa genetik melibatkan beberapa tahap kegiatan di tingkat laboratorium dan lapangan. Dalam kaitannya dengan keamanan

hayati, maka kegiatan pelaksanaan pengujian keamanan hayati tersebut harus dilakukan di Fasilitas Uji Terbatas (FUT), yang terdiri dari Laboratorium Uji Terbatas (LbUT) dan Lapangan Uji Terbatas (LpUT). Pada prinsipnya, pengujian dilakukan pada tingkat laboratorium terlebih dahulu dan apabila tidak ditemukan faktor-faktor yang dapat membahayakan atau merugikan manusia, keanekaragaman hayati dan lingkungan, pengujian dilanjutkan pada tingkat lapangan. Persyaratan FUT untuk pengujian keamanan hayati hewan transgenik dan bahan atau produk asal hewan transgenik disajikan pada Lampiran 1. Beberapa contoh hewan transgenik dan bahan atau produk asal hewan transgenik, protein hasil teknologi rekayasa genetik disajikan berturut-turut pada Lampiran 2, 3, 4, dan 5.

Ruang Lingkup Pengujian

Pedoman ini mencakup tata cara permohonan dan pelaksanaan pengujian keamanan hayati hewan transgenik dan bahan asal hewan transgenik di FUT secara umum, serta tata cara pelaporannya. Pelaksanaan pengujian atas dasar pedoman ini dilakukan dengan mempertimbangkan kaidah-kaidah “kesejahteraan hewan/*animal welfare*” yang berlaku secara universal.

Pedoman ini memuat beberapa teknik pengujian khusus untuk hewan transgenik di FUT dan beberapa informasi yang berkaitan dengan pengujian tersebut, yang meliputi kriteria tingkat bahaya khusus untuk hewan transgenik dan pelaksanaan pengujian hewan transgenik di LbUT maupun LpUT. Di samping itu, pedoman ini memuat pula aspek-aspek yang perlu dipertimbangkan dalam penilaian risiko, dan teknis pelaksanaan pengujian. Adapun tata cara umum seperti akses ke dalam FUT, keamanan dan keselamatan kerja, penandaan dan pengumuman, pembersihan dan pemeliharaan sampai dengan penanggulangan kecelakaan, seluruhnya mengikuti tata cara umum yang tercantum di dalam buku Pedoman Pelaksanaan Pengujian Keamanan Hayati Seri Umum.

KRITERIA TINGKAT BAHAYA DAN FASILITAS PENGUJIAN

Kriteria Tingkat Bahaya

Tim FUT menentukan fasilitas pengujian dengan tingkat bahaya agen yang diuji berdasarkan sampel yang diterima. Secara ringkas persyaratan fasilitas yang memenuhi Kriteria Tingkat Bahaya (KTB) dihubungkan dengan risiko keamanan bagi manusia, keanekaragaman hayati dan lingkungan dibagi menjadi empat tingkat sebagai berikut:

Keamanan Hayati Tingkat 1

Tata kerja, peralatan dan fasilitas yang diperlukan cukup untuk pekerjaan sederhana di mana organisme telah diketahui tidak berpeluang menimbulkan penyakit atau mengganggu kesehatan manusia. Ruangan dan peralatan khusus tidak diperlukan tetapi petugas yang bekerja harus melewati pelatihan mikrobiologi umum.

Keamanan Hayati Tingkat 2

Tata kerja, peralatan dan fasilitasnya dapat digunakan dalam aktivitas klinis, diagnosis, pengajaran, dan memenuhi syarat untuk pekerjaan yang menyangkut agen penyakit dengan risiko sedang. Pekerja laboratorium perlu memperoleh pelatihan penanganan agen patogen dan di bawah pengawasan ahli. Beberapa ruangan dan fasilitas khusus termasuk *safety cabinet* khususnya diperlukan untuk pekerjaan dengan agen patogen berkonsentrasi tinggi. Keluar masuk ke dalam fasilitas laboratorium memerlukan pengawasan.

Keamanan Hayati Tingkat 3

Tata kerja, peralatan dan fasilitasnya dapat digunakan dalam aktivitas klinis, diagnosis, pengajaran dan memenuhi syarat untuk pekerjaan yang menyangkut agen asli dan eksotik di mana terdapat risiko tinggi terhadap penularan melalui udara, agen penyakit yang berbahaya dan dapat mematikan. Petugas harus memperoleh pelatihan khusus dan bekerja di bawah pengawasan ahli khusus terhadap jenis mikroorganisme tersebut. Ruangan dan fasilitas laboratorium memerlukan rancangan khusus dan lalu lintas petugas memerlukan pengawasan yang sangat ketat.

Keamanan Hayati Tingkat 4

Tata kerja, peralatan dan fasilitasnya dapat digunakan untuk pekerjaan yang menyangkut agen berbahaya dan eksotik dengan risiko sangat tinggi dan penyakit yang sangat membahayakan manusia. Pelatihan dan pengawasan yang ketat sangat diperlukan dan pekerjaan dilakukan pada laboratorium dengan rancangan khusus serta kondisi keamanan hayati yang ketat. Akses keluar masuk ke fasilitas dibatasi secara sangat ketat.

Secara lebih rinci, kriteria fasilitas pengujian dapat dilihat pada Lampiran 1. KTB ditetapkan berdasarkan pertimbangan kualitatif dengan kriteria risiko tinggi, risiko sedang, dan risiko rendah.

Laboratorium Pengujian

Berdasarkan tingkat bahaya yang telah ditetapkan terhadap sampel yang diterima, Tim Penguji Keamanan Hayati selanjutnya menetapkan lokasi laboratorium dan personil yang dibutuhkan. Laboratorium dan kandang hewan FUT level 4, 3, 2, dan 1 masing-masing diperuntukkan bagi pengujian sampel dengan KTB risiko sangat tinggi, tinggi, sedang, dan rendah. Contoh fasilitas kandang hewan FUT level 4 dan 3 adalah fasilitas SPF - BPMSOH di Serpong. Contoh kandang hewan FUT level 2 terdapat di Balitvet, Bogor dan FKH IPB. Contoh kandang hewan FUT level 1 terdapat di Balitnak, Ciawi dan FKH IPB. Contoh laboratorium FUT level 2 adalah laboratorium Zoologi LIPI dan laboratorium Bioteknologi Hewan Puslitbang Bioteknologi LIPI, Cibinong (standar Jepang), laboratorium Puslitbang Bioteknologi, BPPT Serpong, laboratorium Teknologi Lingkungan BPPT di Serpong, Balitvet di Bogor dan FKH IPB. Contoh laboratorium FUT level 1 adalah laboratorium Balitnak di Bogor dan FKH IPB. Laboratorium dan kandang hewan FUT terkait di luar negeri dapat dipertimbangkan untuk digunakan bila diperlukan.

TATA CARA PENGUJIAN

Deteksi dan Pengujian Hewan Transgenik

Analisis genomik perlu dilakukan terutama apabila hewan transgenik tidak menampakkan perbedaan fenotipik dibandingkan dengan hewan non-transgenik yang sejenis. Analisis standar RFLP dengan menggunakan *probe* tertentu dapat membedakan hewan transgenik dengan hewan nontransgenik yang sejenis. *Probe* tersebut berasal dari bagian ujung fragmen transgen. Apabila pada hewan transgenik disisipkan penanda (*tag*) molekuler, maka penanda ini dapat dideteksi dengan Southern Blotting dan Hibridisasi. Sedangkan pada hewan transgenik yang menggunakan vektor, deteksi dapat dilakukan terhadap vektor tersebut baik dengan PCR dan/atau Southern Blotting.

Evaluasi Ekspresi mRNA dan Protein pada Hewan Transgenik

Ekspresi gen hewan transgenik dapat dievaluasi dengan melihat apakah gen yang ditambahkan terdapat pada hewan tersebut dalam bentuk gen *endogenous*. Untuk hewan transgenik yang tidak memiliki gen tambahan sebagai gen *endogenous*, maka evaluasi dapat langsung dilakukan dengan menggunakan *probe* asam nukleat spesifik gen tersebut. Di samping itu,

evaluasi dapat pula dilakukan terhadap protein atau enzim yang terekspresi dengan menggunakan uji serologik atau histokimiawi dengan memanfaatkan antisera yang spesifik terhadap protein atau enzim tersebut. Untuk mengevaluasi ekspresi hewan transgenik, pada tingkat mRNA, diperlukan beragam jenis organ. Pada saat akan mengambil sampel tersebut perlu dipertimbangkan apakah pengambilan sampel tersebut membahayakan kesehatan hewan.

Evaluasi Ekspresi mRNA pada Hewan Transgenik

Mengisolasi mRNA dari sampel organ hewan transgenik dengan metode Macdonald *et al.* (1987) yang kemudian dianalisis dengan beberapa macam cara:

1. Analisis Hibridisasi Slot-Blot.
2. Analisis Hibridisasi Northern Blot.
3. Pengujian *Nuclease Protection*.
4. *Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR).
5. Hibridisasi *in situ*.

Evaluasi Ekspresi Protein pada Hewan Transgenik

Sampel organ diekstraksi dengan metode standar dan terhadap sampel tersebut dilakukan beberapa analisis sebagai berikut:

1. Pengujian Radioimmunoprecipitation.
2. Analisis Western Immunoblot.
3. Pewarnaan Immunohistokimiawi *in situ* terhadap potongan organ.

Pewarnaan immunofluoresen terhadap sel yang diisolasi dan dianalisis menggunakan alat *Fluorescence Activated Cell Sorter* (FACS).

Deteksi Kontaminasi *Retrovirus Wild-Type*

Kontaminasi virus jenis liar ini menimbulkan masalah serius karena berpotensi untuk menyebabkan bahaya dan dapat mengganggu dalam deteksi titer *retrovirus* rekombinan di samping mengganggu dalam mengevaluasi ekspresi *in vivo*. Di samping itu, ekspresi proteinnya pun tidak stabil bahkan dapat mengakibatkan kematian hewan terkontaminasi dengan kelainan klinik leukemia. Pengujian keberadaan *retrovirus wild-type* dapat dilakukan dengan tiga pendekatan, yaitu:

Dilakukan pengujian ada atau tidaknya enzim *reverse transcriptase*. Sampel vaksin yang diduga terkontaminasi *retrovirus wild-type* diinfeksi

pada biakan sel lestari (*cell line*) tertentu misalnya *rat fibroblast cell line* (XC) ataupun *feline cell line* (CCC-81). Supernatan biakan lestari tersebut dideteksi ada atau tidaknya enzim *reverse transcriptase*.

Sampel vaksin yang diduga terkontaminasi *retrovirus wild-type* diinfeksi-kan pada biakan sel yang mengandung penanda (*marker*) neomisin sehingga sampel yang tidak mengandung *retrovirus wild-type* tidak akan membentuk koloni *neomycin-resistant*. Mendeteksi sekuen *endogenous retrovirus* yang ada pada sampel vaksin yang diduga terkontaminasi *retrovirus wild-type* dengan menggunakan sekuen tertentu sebagai *primer* dan/atau *probe* dengan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dan/atau Southern Blotting.

Evaluasi Ekspresi *Retrovirus* Rekombinan

Ekspresi vaksin rekombinan dilakukan dengan mengevaluasi *messenger RNA* (mRNA) dan mengevaluasi protein. Untuk mengevaluasi mRNA, sampel ditumbuhkan pada biakan sel tertentu dan jumlah RNA diuji dengan Northern Blotting sesuai dengan uji standar. Untuk mengevaluasi protein pengujian yang dilakukan adalah Western Blotting dan/atau analisis Slot-Blot sesuai prosedur standar.

Pengujian Keanekaragaman Hayati

Keanekaragaman hayati secara sederhana diartikan sebagai keragaman di dalam kehidupan. Secara lebih mendalam keanekaragaman hayati adalah keragaman di dalam organisme hidup dan keragaman di antara organisme hidup dan kompleks ekologi di mana mereka berlangsung. Keanekaragaman hayati mengarah pada keragaman ekosistem atau komunitas, spesies dan genetik. Oleh karena itu, hewan transgenik dan bahan asal/untuk hewan transgenik perlu diuji menurut 4 tingkat, yaitu tingkat individu, populasi, komunitas, serta ekosistem.

Uji untuk Keanekaragaman Hayati Tingkat Individu

1. Bahan dan alat: Hewan transgenik atau hewan yang telah diberi perlakuan dengan bahan asal/untuk hewan transgenik.
2. Prosedur: Melakukan persilangan (silang dalam dan silang luar) antar-populasi hewan transgenik atau antarhewan transgenik dengan hewan nontransgenik secara *reciprocal mating*.

Parameter pengukuran di antaranya adalah:

- a. Pengukuran heterosis.
- b. Pengukuran *inbreeding depression*.
- c. Sifat-sifat sebagaimana kriteria yang tercantum pada Lampiran 6.

Uji untuk Keanekaragaman Hayati Tingkat Populasi

Uji untuk keanekaragaman hayati untuk tingkat populasi hewan transgenik (termasuk pengaruh bahan asal/untuk hewan transgenik terhadap populasi hewan transgenik). Pengamatan dapat dilakukan terhadap beberapa parameter berikut:

1. Genetika.
2. Daya hidup/tingkat kematian.
3. Rasio jantan/betina.
4. Kelimpahan/biomassa.
5. Perilaku/migrasi.
6. Derajat predasi.
7. Kenaikan/penurunan populasi.

Uji untuk Keanekaragaman Hayati Tingkat Komunitas

Uji untuk keanekaragaman hayati untuk tingkat komunitas hewan transgenik (termasuk pengaruh bahan asal/untuk hewan transgenik terhadap komunitas hewan transgenik).

Pengamatan meliputi:

1. Genetika.
2. Kelimpahan organisme.
3. Biomassa.
4. Kerapatan organisme.
5. Keragaman: Jumlah spesies, ukuran klas, atau kelompok fungsi lain, per unit/volume atau per jumlah individu.

Uji untuk Keanekaragaman Hayati Tingkat Ekosistem

Untuk menguji keanekaragaman hayati pada tingkat ekosistem digunakan analisis microcosm. Protozoa merupakan produsen di dalam rantai kehidupan di alam. Oleh karena itu, pengujian keanekaragaman hayati dapat dilakukan mulai pada tingkat protozoa yang hidup di air dan tanah. Untuk menguji keanekaragaman hayati tersebut maka digunakan microcosm yang merupakan wakil dari keadaan yang sebenarnya di alam seperti yang telah dikerjakan pada pengujian pada bakteri.

Parameter pengukuran di antaranya adalah:

- a. Pengukuran heterosis.
- b. Pengukuran *inbreeding depression*.
- c. Sifat-sifat sebagaimana kriteria yang tercantum pada Lampiran 6.

Uji untuk Keanekaragaman Hayati Tingkat Populasi

Uji untuk keanekaragaman hayati untuk tingkat populasi hewan transgenik (termasuk pengaruh bahan asal/untuk hewan transgenik terhadap populasi hewan transgenik). Pengamatan dapat dilakukan terhadap beberapa parameter berikut:

1. Genetika.
2. Daya hidup/tingkat kematian.
3. Rasio jantan/betina.
4. Kelimpahan/biomassa.
5. Perilaku/migrasi.
6. Derajat predasi.
7. Kenaikan/penurunan populasi.

Uji untuk Keanekaragaman Hayati Tingkat Komunitas

Uji untuk keanekaragaman hayati untuk tingkat komunitas hewan transgenik (termasuk pengaruh bahan asal/untuk hewan transgenik terhadap komunitas hewan transgenik).

Pengamatan meliputi:

1. Genetika.
2. Kelimpahan organisme.
3. Biomassa.
4. Kerapatan organisme.
5. Keragaman: Jumlah spesies, ukuran klas, atau kelompok fungsi lain, per unit/volume atau per jumlah individu.

Uji untuk Keanekaragaman Hayati Tingkat Ekosistem

Untuk menguji keanekaragaman hayati pada tingkat ekosistem digunakan analisis microcosm. Protozoa merupakan produsen di dalam rantai kehidupan di alam. Oleh karena itu, pengujian keanekaragaman hayati dapat dilakukan mulai pada tingkat protozoa yang hidup di air dan tanah. Untuk menguji keanekaragaman hayati tersebut maka digunakan microcosm yang merupakan wakil dari keadaan yang sebenarnya di alam seperti yang telah dikerjakan pada pengujian pada bakteri.

Prosedur untuk air: Koleksi Aufwuch dengan Substrat buatan (mengacu prosedur dari J.R. Pratt dan R.L. Kepner, Jr). PFU (blok ukuran 6 x 5 x 4 cm) ditempatkan pada bagian tengah lokasi limbah. Banyaknya PFU yang digunakan tergantung lokasi keluarnya limbah hasil pengujian hewan transgenik atau bahan asal untuk hewan transgenik. Substrat ditempatkan pada lokasi pembuangan yang diinginkan. Keragaman sebelum dan sesudah perlakuan dibandingkan.

Prosedur untuk tanah: (mengacu prosedur dari uji kepadatan protozoa tanah menurut Wilhelm Foissner, Universitas Salzburg. Institut Zoologi, Hellbrunnerstrasse 34, A-5020. Salzburg Austria).

1. Letakkan 10-50 g tanah segar/tanah kering atau contoh sampah dalam petridish dengan diameter 10-15 cm.
2. Penuhi sampel dengan akuades tapi jangan sampai meluber. Tambahkan akuades ke sampel sampai 5-20 ml akan mengalir ketika petridish dimiringkan (45°), dan tanah ditekan pelan-pelan/secara lembut dengan jari. Pemenuhan dengan sempurna akan memerlukan 12 jam. Tutup petridish dan jepit dengan jepitan di antara dasar dan tutup untuk pertukaran udara. Periksa kultur pada hari 2, 6, 12, 20, dan 30 terhadap siliata, flagelata, dan amuba.
3. Keragaman sebelum dan sesudah perlakuan dibandingkan.

Catatan:

1. Tanah kering selalu menghasilkan lebih banyak individu dan spesies.
2. Sampel mengandung banyak sampah dan tanaman dan akan menyebar ke seluruh dasar petridish sekurang-kurangnya setebal 1 cm.
3. Sampel tanah tidak boleh luber.
4. Air keluaran mengandung banyak individu dan ini ideal untuk pembuatan preparat.

Uji keanekaragaman hayati untuk tingkat ekosistem: pengujian keragaman genetik fauna laut (mengacu prosedur dari E. Nevo, R. Noy, B. Lavie, dan S. Muchtar).

1. Koleksi sampel individu dari masing-masing spesies fauna yang hidup dari batuan pantai dan tempatkan ke dalam akuarium (misal volume 80 liter: 70 x 30 x 40 cm).
2. Untuk menghindarkan spesies yang mengambang, tempatkan pada wadah dengan sudut besar (25 x 25 x 5 cm) dan disebarakan ke dalam sel-sel kecil yang saling terhubung (5 x 5 x 5 cm) oleh jaring plastik sehingga pengaliran air dapat lewat secara bebas pada seluruh sel.

3. Kondisi dari seluruh akuarium dibuat sama (22°C; pH 8,1; aerasi konstan dan tanpa pakan tambahan).
4. Lamanya pengujian bervariasi tergantung dari konsentrasi limbah pengujian. Semua uji diperlakukan secara simultan, yaitu dibandingkan dengan kontrol.
5. Organisme eksperimen diamati setiap hari, hewan yang mati dipindahkan ke ruang pembekuan (-80°C) dan juga seluruh hewan yang masih bertahan hidup pada akhir percobaan.

Pengujian Keamanan Lingkungan

Di alam, unsur-unsur lingkungan, baik hayati (flora, fauna, dan mikroba) maupun nonhayati berada di dalam suatu rantai kehidupan dan rantai makanan yang saling berkaitan. Pelepasan hewan transgenik maupun bahan asal/untuk hewan transgenik ke alam dapat menimbulkan pencemaran (sekurang-kurangnya disebut pencemaran genetik). Jika ini menimpa salah satu saja dari unsur lingkungan tersebut di atas, maka akan merusak seluruh mata rantai kehidupan dan akibatnya akan menimpa manusia juga. Oleh karena itu, diperlukan adanya uji yang diikuti dengan upaya monitor terhadap hewan transgenik atau bahan asal/untuk hewan transgenik tersebut.

Pengujian Kualitas Air

Setiap unsur hayati pasti membutuhkan dan memanfaatkan serta menghasilkan air. Oleh karena itu, uji dan pemantauan proses kehidupan dan pemanfaatannya dapat dilakukan melalui air, pada semua materi yang dilaluinya (misalnya tanah) dan pada semua organisme yang hidup di dalam keduanya. Uji terhadap kualitas air dapat bersifat kimiawi, fisik, dan biologik.

Sistem *saprobic* adalah suatu sistem yang digunakan untuk mengevaluasi dan menilai kualitas air. Klasifikasi polusi secara luas dibagi dalam 4 zona dengan menggunakan bahan kimia (misal: mengandung oksigen) dan bahan biologik (organisme *saprobic*) dengan parameter:

1. *Polysaprobity*. Suatu zona dari polusi yang kotor dengan bahan organik, sangat sedikit mengandung oksigen dan bahkan oksigen tidak terlarut.
2. *Alpha-mesosaprobity*. Suatu zona di mana sudah terdapat oksigen.
3. *Beta-mesosaprobity*. Suatu zona di mana hasil pembusukan mengalami proses mineralisasi.
4. *Oligosaprobity*. Proses mineralisasi pada bahan organik menjadi lengkap dan air menjadi jenuh dengan oksigen.

Prosedur ini digunakan secara luas di Eropa dan sekitarnya. Uji kualitas air secara kimiawi dan fisika dengan menggunakan protozoa dan indeks *saprobity* dapat dilihat di bawah ini.

Uji ini meliputi:

1. pH.
2. Suhu.
3. Warna, bau, dan rasa.
4. Jumlah padatan.
5. Nilai BOD/COD.
6. Kandungan oksigen terlarut.
7. Kandungan Nitrat.
8. Kandungan Nitrit.
9. Kandungan Amoniak.
10. Pencernaan dengan mikroorganisme patogen.
11. Kandungan Logam Berat.

Indeks *saprobity* (Pantle & Buck)

$$\text{SIPB} = \frac{\sum(N \cdot S_i)}{\sum N}$$

N : pengukuran jumlah individu untuk beberapa spesies; 1 = sedikit, 3 = banyak, 5 = banyak sekali.

SI : indeks *saprobity* dari spesies 1.

SIPB : indeks *saprobity* dari Pantle & Buck.

Klasifikasi

SIPB 1,0 – 1,5 : bersih = *oligosaprobic* = kualitas air kelas I; tanda warna biru.

1,5 – 2,5 : terang, polusi sedang = *beta-mesosaprobity* = kualitas air kelas II; tanda warna hijau.

2,5 – 3,5 : polusi berat = *alpha-mesosaprobity* = kualitas air kelas II; tanda warna kuning.

3,5 - $\geq 4,0$: polusi sangat berat = *polysaprobity* = kualitas air kelas IV; tanda warna merah.

Indeks *saprobity* (Zelinka & Marvan)

$$SIZM = \frac{\sum (N \cdot I \cdot r_i)}{\sum (N \cdot I)}$$

dihitung terpisah untuk beberapa klas *saprobic*
(*oligosaprobity*, *beta-mesosaprobity*)

N : dihitung dan perdua gan jumlah individu untuk beberapa spesies, bila diduga sama atau skala urutan yang sama dapat dijadikan sama seperti Pantle & Buck.

I : menunjukkan bobot spesies.

r_i : jumlah relatif (proporsi) pada spesies dalam klas *saprobic*.

SIZM : indeks *saprobity* Zelinka & Marvan.

x = *xenosaprobity*; o = *oligosaprobity*; b = *beta-mesosaprobity*; a = *alpha-mesosaprobity*; p = *polysaprobity*.

TATA CARA PELAKSANAAN PENGUJIAN DALAM LABORATORIUM TERBATAS

Seluruh hewan di dalam laboratorium harus diperlakukan sebagai hewan transgenik, kecuali hewan tertentu yang digunakan langsung dalam proses pengujian. Hewan transgenik harus dapat dipisahkan secara fisik dengan hewan bukan transgenik, yaitu dengan menempatkan pada kandang terpisah dengan risiko minimal untuk bercampur. Seandainya harus digabungkan dengan hewan lain dalam proses pengujian, hewan transgenik harus dapat ditandai dengan jelas, atau salah satu diberi tanda (*tagging*). Berikut ini adalah hal-hal yang perlu diperhatikan dalam penanganan pengujian hewan transgenik:

Penanganan Bahan dan Persiapan Uji

1. Kandang harus dibersihkan hingga mendekati steril. Kandang dicuci bersih dengan menggunakan desinfektan yang lazim digunakan. Ruangan kandang harus didesinfeksi dengan menggunakan desinfektan gas (fumigasi) dan/atau penyemprotan.
2. Semua peralatan yang digunakan dalam proses pemeliharaan dan pengujian harus bersifat khusus dan tidak dapat digunakan untuk keperluan lain.
3. Air yang digunakan untuk sumber air minum dan keperluan pencucian harus berasal dari sumber yang jelas seperti air ledeng (air PAM), air sumur, tetapi bukan secara langsung dari perairan umum seperti sungai dan waduk/danau. Air yang digunakan harus berasal dari fasilitas yang terdapat dalam laboratorium.

Penggunaan Organisme Penguji

1. Pengujian yang menggunakan organisme penguji, harus dikerjakan di dalam ruang terpisah dari stok hewan 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 hewan transgenik.
4. Hewan transgenik dan bagian-bagiannya yang akan dikirim ke tempat atau ruangan lain di dalam Laboratorium Terbatas, harus ditempatkan di dalam kandang berlabel, dan tertutup rapat untuk mencegah lolosnya hewan transgenik.
5. Kandang harus diberi tanda "**HATI-HATI HEWAN TRANSGENIK**". Kandang transportasi (pemindahan) dapat berupa logam, kayu atau plastik yang dapat disterilkan atau dimusnahkan.
6. Semua peralatan yang digunakan dalam pemindahan hewan transgenik harus segera dicuci, disterilkan dan dikembalikan ke tempat dan posisi semula.

Pencegahan Keluar Masuknya Hewan Transgenik dan Organisme Lain, dan Penyebaran Hewan melalui Sistem Pengembangbiakan Alamiah

Pengembangbiakan hewan transgenik dapat dicegah dengan beberapa cara sebagai berikut:

1. Memisahkan hewan transgenik jantan dan betina pada kandang terpisah dan yang tidak saling berdekatan.
2. Memisahkan hewan transgenik sekerabat (famili) pada kandang tersendiri.
3. Melakukan monitoring dan penghitungan jumlah hewan secara teratur agar kemungkinan lolosnya hewan transgenik dapat dicegah dan diketahui lebih dini.
4. Cara pengembangbiakan berbagai jenis hewan dan persyaratannya perlu diketahui oleh petugas Fasilitas Uji Terbatas (FUT).

Isolasi, Eutanasia, dan Penanganan Limbah/Air Buangan

1. Hewan transgenik yang terserang penyakit ataupun dalam kondisi lemah harus ditempatkan pada kandang terpisah untuk memperoleh perlakuan khusus.

2. Hewan transgenik yang telah mati harus dikubur atau dimusnahkan dengan insinerator pada tempat/lokasi yang ditentukan.
3. Bagian tubuh hewan transgenik baik sengaja (dipotong) maupun tidak sengaja terpisah dari tubuh utuhnya harus dibuang dan dikubur atau dimusnahkan dengan insinerator pada tempat/lokasi yang ditentukan.
4. Air buangan dari seluruh proses pemeliharaan hewan (mandi, cuci kandang dan minum) harus disalurkan ke tempat penampungan akhir yang telah ditentukan.
5. Peralatan yang telah aus dan dimungkinkan untuk menimbulkan bahaya dan kerugian 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.

Penggunaan Organisme Penguji

1. Pengujian yang menggunakan organisme penguji, harus dikerjakan di dalam kandang tersendiri yang terpisah dengan stok khusus hewan transgenik.
2. Tanda pengumuman/peringatan secara khusus harus dipasang di kandang di dalam kawasan FUT selama percobaan yang menggunakan organisme penguji sedang berlangsung.
3. Monitoring dan pengawasan secara ketat harus dilakukan selama kegiatan perawatan, pemeliharaan dan pengujian hewan transgenik.

Pemeliharaan Hewan Transgenik di Laboratorium Terbatas

1. Di Laboratorium terbatas, hewan transgenik dipelihara secara khusus sesuai dengan sifat biologis dan kebutuhan lingkungannya.
2. Hewan transgenik tidak dipelihara secara campuran dengan hewan yang bukan transgenik.
3. Bila ada dua macam atau lebih hewan transgenik, pemeliharaannya ditempatkan pada kandang yang terpisah.
4. Hewan transgenik dipelihara dalam kandang terbuka, setengah terbuka atau tergantung jenis hewannya. Setiap kandang pemeliharaan men-

dapat akses udara segar yang mencukupi baik dengan ventilasi biasa maupun AC. Dalam hal-hal tersebut dapat dilengkapi dengan *exhaust fan*.

5. Hewan transgenik yang dipelihara di Laboratorium Terbatas mendapat pakan yang mencukupi dan pakan hewan harus memadai sesuai spesies dan ukuran hewan yang dipelihara.
6. Jumlah pakan dan frekuensi pemberiannya dilakukan sesuai dengan kebutuhan hewan tersebut.

Pemasukan dan Pengeluaran Hewan di Laboratorium Terbatas

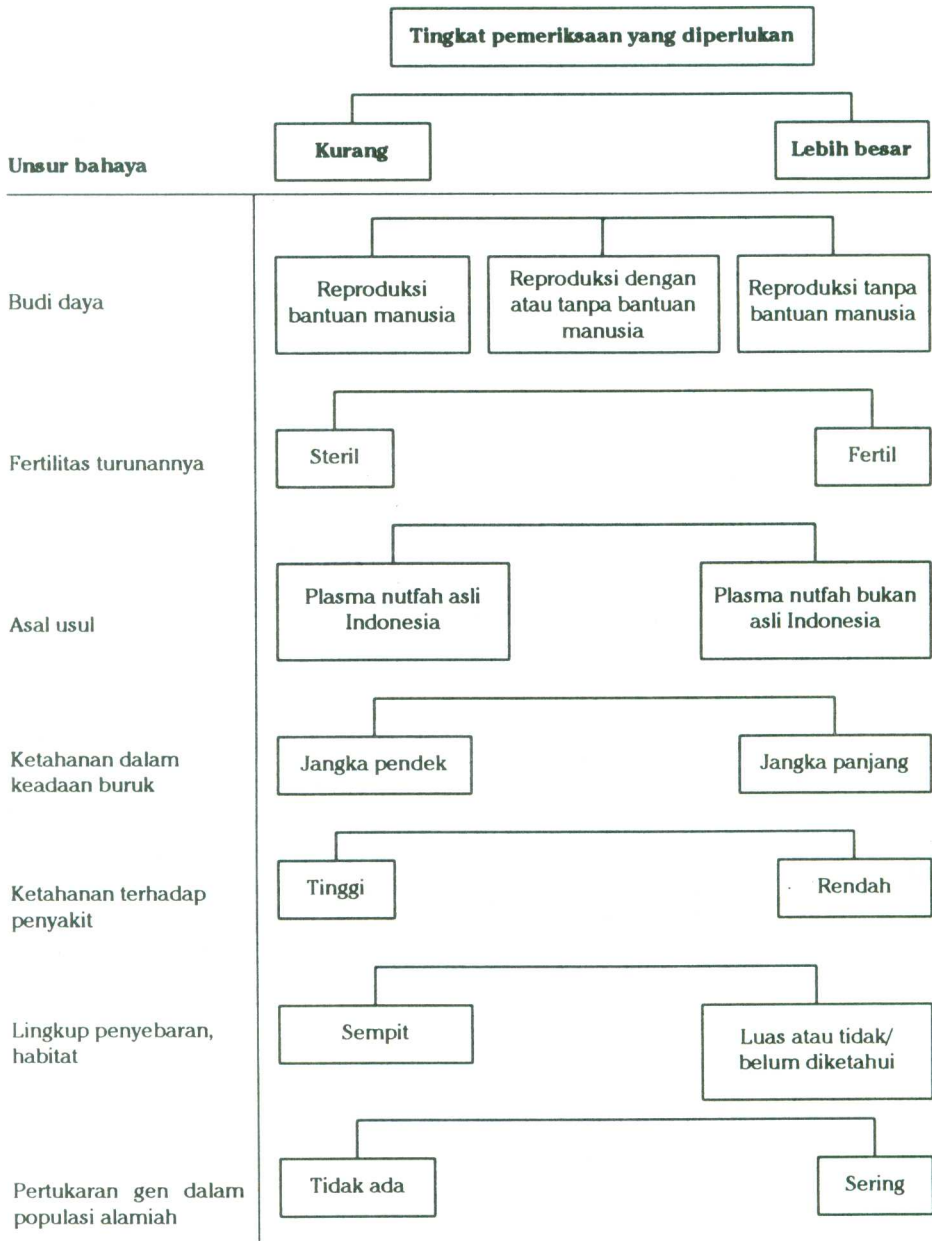
Laboratorium Terbatas merupakan tempat untuk mengisolasi dan melakukan diagnosis serta pengujian hewan transgenik. Karena itu pemasukan dan pengeluaran hewan dari Laboratorium Terbatas harus seizin Kepala Laboratorium Terbatas. Pengangkutan atau pemindahan hewan transgenik ke dalam maupun keluar Laboratorium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

Pemindahan Hewan Transgenik

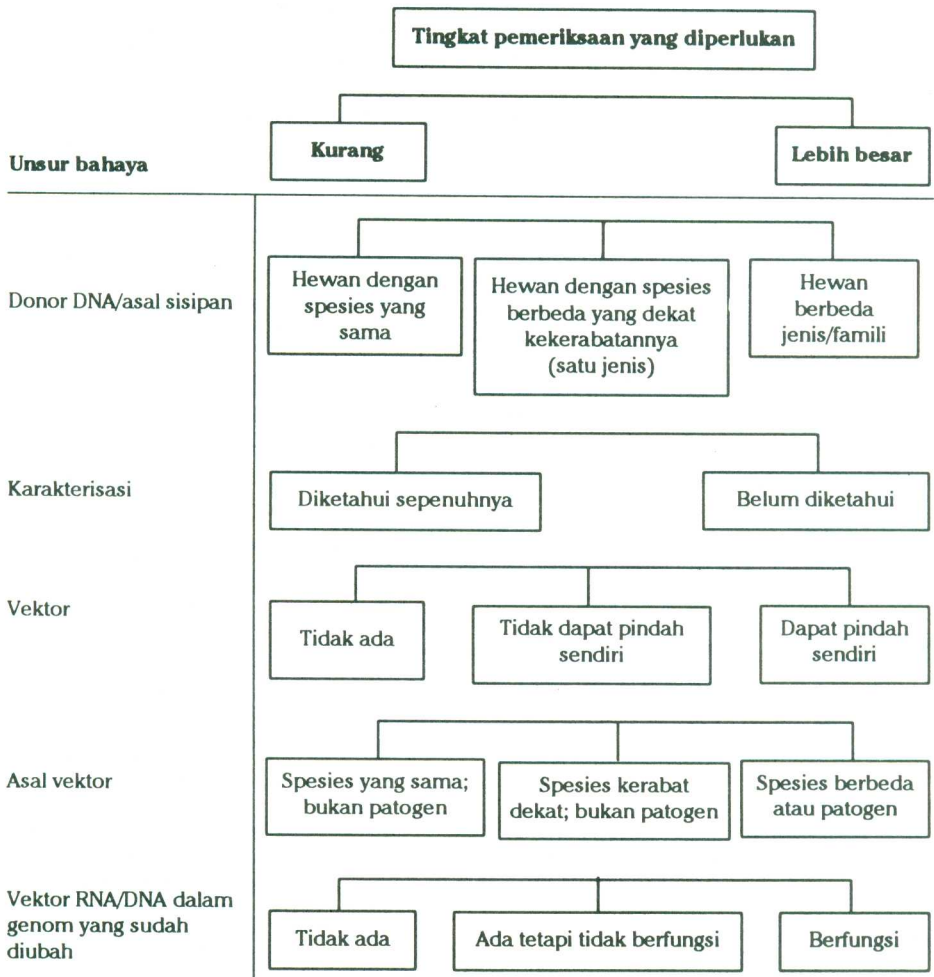
1. Hewan transgenik dan bagian-bagiannya yang akan dikirim ke lokasi tempat Lapangan Terbatas harus ditempatkan di dalam kandang berlabel atau mobil pengangkut dengan keterangan khusus. Bagi hewan-hewan ukuran kecil yang mudah lolos kandang transgenik harus tertutup rapat untuk mencegah lolosnya hewan transgenik.
2. Kandang, peralatan dan sisa bahan hewan transgenik harus diberi tanda "**HATI-HATI HEWAN TRANSGENIK**". Kandang transportasi (pemindahan) berupa logam, kayu atau plastik harus disterilkan atau jika jenis sekali pakai harus dimusnahkan.
3. Monitoring dan pengawasan secara ketat harus dilakukan selama kegiatan perawatan pemeliharaan dan pengujian hewan transgenik.
4. Semua peralatan yang digunakan dalam pemindahan hewan transgenik harus segera dicuci, disterilkan dan dikembalikan ke tempat dan posisi semula.

Di bawah ini adalah hubungan antara unsur bahaya dengan tingkat pemeriksaan yang diperlukan.

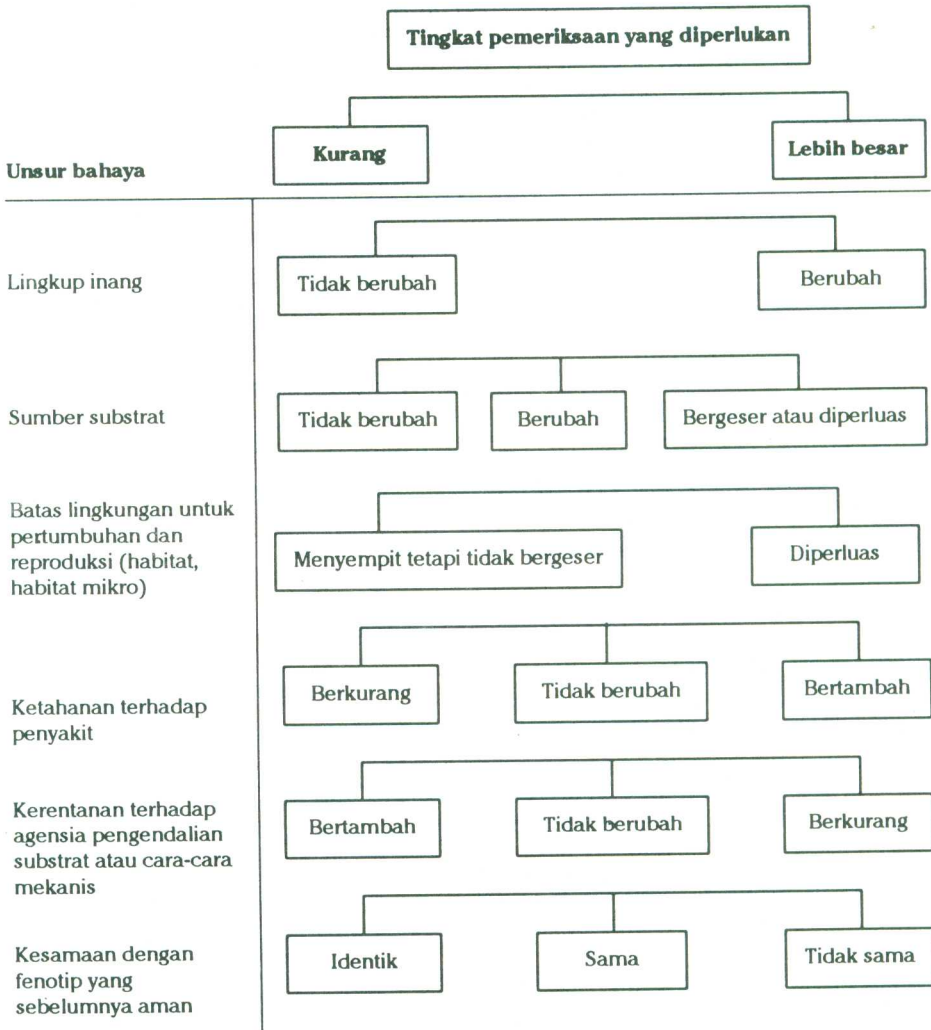
A. Organisme Tetua



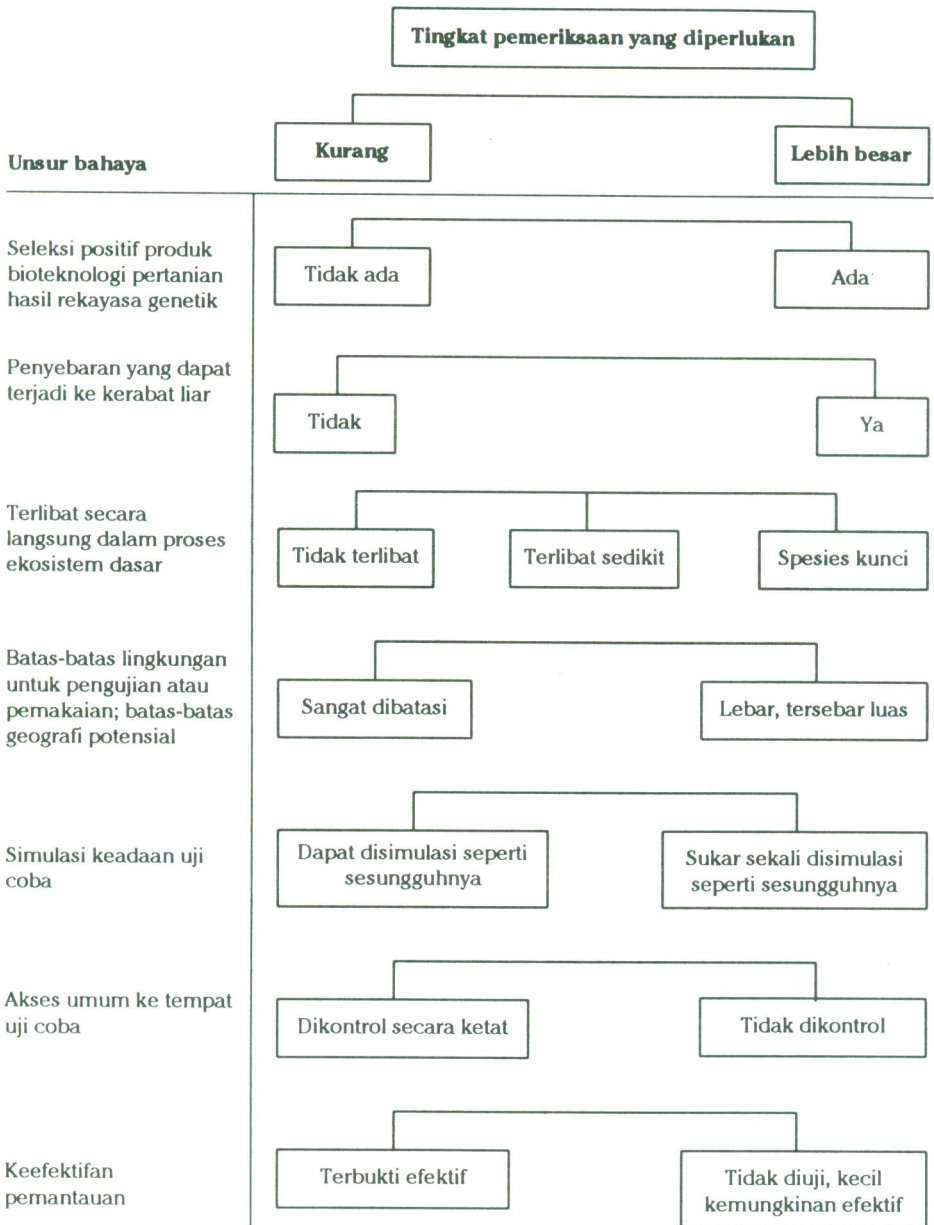
B. Unsur Genetik



C. Fenotip



D. Aspek lingkungan



TATA CARA PELAKSANAAN PENGUJIAN DI LAPANGAN TERBATAS

Ketentuan Percobaan Hewan Transgenik

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

1. Setiap pelaksanaan pengujian harus dilakukan oleh tim uji khusus dari FUT yang bertanggung jawab di dalam pengamatan, pendataan, dan pelaporan kepada manajer FUT di bawah pengarahan tim ahli.
2. Manajer FUT melaporkan semua hasil percobaan pengujian hewan transgenik yang dilaksanakan di FUT ke Tim Pengujian Keamanan Hayati Hewan Transgenik (TPKHHT).
3. TPKHHT berkewajiban melaporkan setiap hasil pelaksanaan pengujian kepada TTKH.

Pengamanan

1. Perkawinan secara tak disengaja pada hewan transgenik di habitat (lingkungan) umum harus dihindari.
2. Apabila pengujian pengembangbiakan diperlukan, maka harus dilakukan di kandang terpisah di kawasan Lapangan Terbatas.
3. Memisahkan hewan transgenik dan hewan bukan transgenik pada kandang tersendiri yang tidak saling berdekatan.
4. Memisahkan hewan transgenik sekerabat (satu famili) pada kandang tersendiri.
5. Melakukan monitoring dan penghitungan jumlah hewan transgenik secara teratur agar kemungkinan lolosnya hewan transgenik dapat dicegah dan diketahui lebih dini.
6. Setiap blok yang terdiri dari beberapa kandang harus diberi tanda yang menyatakan adanya percobaan hewan transgenik.
7. Area kerja harus selalu bersih.
8. Pakaian kerja (pakaian kandang atau jas laboratorium) harus dipakai di area kerja. Peringatan khusus harus diberikan ke setiap orang yang bekerja di area kerja, misalnya perintah untuk tidak memindahkan hewan transgenik dari tempatnya. Sifat obyektif dan subyektif dari berbagai contoh ternak transgenik diuraikan dalam Lampiran 6.

DAFTAR PUSTAKA

- Angle, J.S., M. Levin, J.V. Gagliardi, and M.S. McIntosh. 1994. *In Library: Biotechnology Risk Assessment*. Chapter 6. Assessing effects of Field Trials. The Survival of Recombinant Bacteria in Soil.
- Awgulewitsch, A. and M.F. Utsef. 1991. Detection of specific RNA sequences in tissue sections by *in situ* hybridization. pp. 359-375. *In* Chao, L., J. Karam, and G. Wam (*Eds.*). *Methods in Nucleic Acids Research*. CRP Press, Boca Raton.
- Benifacino, J.S. 1991. Isolation and analysis of protein. pp. 8.0.1-8.12.9. *In* Coligan, J.E., A.M. Kruisbeek, D.H. Margulies, E.M. Shevaach, and W. Strober (*Eds.*). *Current Protocols in Immunology*. Vol. 1. Green and Wiley (Interscience), New York.
- Beltz, B.S. and G.D. Burd. 1989. *Immunocytochemical Techniques: Principles and Practice*. Blackwell, Cambridge, Massachusetts.
- Goff, S., P. Traktman, and D. Baltimore. 1981. Isolation and properties of Moloney murine leukemia virus mutants: Use of a Rapid assay for release of virion reverse transcriptase. *J. Virol.* 38:239-248.
- Jaffes and M. Raffeld. 1991. Immunofluorescence and cell sorting. pp. 5.0.1-5.8.8. *In* Coligan, J.E., A.M. Kruisbeek, D.H. Margulies, E.M. Shevach, and W. Strober (*Eds.*). *Current Protocols in Immunology*. Vol. 1. Green and Wiley (Interscience), New York.
- Jenkins, N.A., N.G. Copeland, B.A. Taylor, and B.K. Lee. 1982. Organization, distribution, and stability of endogenous ecotropic murine leukemia virus DNA sequences in chromosomes of *Mus musculus*. *J. Virol.* 43:26-36.
- Jensen, D.B. and J. Harte. 1990. *In Our Own Hands: A Strategy for Conserving Biological Diversity in California*.
- Kawasaki, E.S. 1990. Amplification of RNA. pp. 21-27. *In* Innis, M.A., D.H. Gelfand, J.J. Sninsky, and T.J. White (*Eds.*). *PCR protocols: A guide to methods and application*. Academic Press, San Diego.
- Macdonald, R.J., G.H. Swift, A.E. Przybyla, and J.M. Chirgwin. 1987. Isolation of RNA using guanidium salts. pp. 219-227. *In* Kimmer, A.R. and S.L. Berger (*Eds.*). *Methods in Enzymology*. Vol. 152. Academic Press, San Diego.
- Sambrook, J., E.F. Fritsch, and T. Maniatis. 1989. *Molecular cloning - A laboratory manual*. 2nd Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Southern, E.M. 1975. Detection of specific sequence among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *The Journal of Molecular Biology* 98: 503-517.

- Wahl, G.M., J.L. Mainkoth, and A.R. Kimmel. 1987. Northern and Southern blots. pp. 572-580. *In* Kimmel, A.R. and S.L. Berger (Eds.). *Methods in Enzymology*. Vol. 152. Academic Press, San Diego.
- Warwick, E.J., J. Maria Astuti, dan W. Hardjosubroto. 1995. *Pemuliaan ternak*. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Wood, P.A. 1994. Retrovirus-mediated gene transfer. pp. 147-176. *In* Pinkert, C.A (Ed.). *Transgenic Animal Technology - A Laboratory Handbook*. Academic Press Inc.

Lampiran 1. Persyaratan FUT hewan

	Tingkat I	Tingkat II	Tingkat III	Tingkat IV
Akses	FUT harus terkunci dan dikontrol secara rutin, akses terbatas pada saat pengujian dilakukan	FUT harus terkunci dan dikontrol secara rutin. Izin masuk oleh pimpinan FUT kepada staf yang telah diberitahu potensi bahaya dan telah memenuhi persyaratan	FUT harus terkunci dan dikontrol secara rutin. Izin masuk oleh pimpinan FUT kepada staf yang telah diberitahu potensi bahaya dan telah memenuhi persyaratan	FUT harus terkunci dan dikontrol secara rutin. Izin masuk oleh pimpinan FUT kepada staf yang telah diberitahu potensi bahaya dan telah memenuhi persyaratan
		Hewan yang tidak digunakan untuk pengujian dilarang berada di FUT	Hewan yang tidak digunakan untuk pengujian dilarang berada di FUT	Hewan yang tidak digunakan untuk pengujian dilarang berada di FUT
			Selama pengujian FUT harus tertutup	Selama pengujian FUT harus tertutup
				Keluar/masuk ruang hewan harus melalui ruang ganti pakaian beserta dus/pancuran kecuali dalam keadaan darurat

Lampiran 1. Lanjutan

	Tingkat I	Tingkat II	Tingkat III	Tingkat IV
Fasilitas Hewan	Kandang harus aman dari terlepasnya hewan dan pencurian, memenuhi kebutuhan hewan dan sesuai peraturan setempat	Kandang harus aman dari terlepasnya hewan dan pencurian, memenuhi kebutuhan hewan dan sesuai peraturan setempat, dan dilengkapi dengan kasa antiserangga	Kandang harus aman dari terlepasnya hewan dan pencurian, memenuhi kebutuhan hewan dan sesuai peraturan setempat, dan dilengkapi dengan kasa antiserangga	Kandang harus aman dari terlepasnya hewan dan pencurian, memenuhi kebutuhan hewan dan sesuai peraturan setempat, dan dilengkapi dengan kasa antiserangga
		Semua permukaan harus kedap air dan tahan asam, basa, pelarut organik, dan tahan panas serta dirancang untuk memudahkan pembersihan	Semua permukaan harus kedap air dan tahan asam, basa, pelarut organik, dan tahan panas serta dirancang untuk memudahkan pembersihan. Lubang yang terbentuk pada permukaan harus ditutup rapat	Semua permukaan harus kedap air dan tahan asam, basa, pelarut organik, dan tahan panas serta dirancang untuk memudahkan pembersihan. Lubang yang terbentuk pada permukaan harus ditutup rapat
		Jendela dilengkapi kasa antilalat	Jendela harus diisolasi/tertutup rapat, kuat dan tahan pecah sebab harus tahan tekanan negatif ruangan	Jendela harus diisolasi/tertutup rapat, kuat dan tahan pecah sebab harus tahan tekanan negatif ruangan

Lampiran 1. Lanjutan

	Tingkat I	Tingkat II	Tingkat III	Tingkat IV
		Tersedia alat autoklaf untuk dekontaminasi	Tersedia alat autoklaf, insinerator dan alat lain untuk dekontaminasi. Bila mungkin autoklaf dua pintu untuk pembuangan dari FUT keluar	Tersedia alat autoklaf, insinerator dan alat lain untuk dekontaminasi. Bila mungkin autoklaf dua pintu untuk pembuangan dari FUT keluar
		Bila yang sedang diuji adalah serangga atau agen yang menular lewat serangga, maka tersedia kasa 52 <i>mash</i> , dan semua kemungkinan serangga masuk/keluar harus dicegah.	Bila yang sedang diuji adalah serangga atau agen yang menular lewat serangga, maka tersedia kasa 52 <i>mash</i> , dan semua kemungkinan serangga masuk/keluar harus dicegah.	
			Pintu harus dapat tertutup sendiri	Pintu harus dapat tertutup sendiri

Lampiran 1. Lanjutan

	Tingkat I	Tingkat II	Tingkat III	Tingkat IV
			Ruang hewan terpisah dari ruang lain melalui dua set pintu yang di dalamnya tersedia tempat mandi dus/pancuran beserta tempat ganti pakaian	Ruang hewan terpisah dari ruang lain melalui dua set pintu yang di dalamnya tersedia tempat mandi dus/pancuran beserta tempat ganti pakaian. Ruang laboratorium harus berpenyekat ganda guna mencegah lepasnya bahan transgenik ke lingkungan
			Tersedia sistem pembuangan udara kotor dengan udara bersih mengalir ke dalam ruang. Aliran ini harus terus dijaga	Tersedia sistem pembuangan udara kotor dengan udara bersih mengalir ke dalam ruang. Aliran ini harus terus dijaga. Udara tidak disirkulasi ulang.
			Bila agen dapat menular melalui aerosol maka udara kotor harus dilewatkan penyaring HEPA (<i>High Efficiency Particulate Air</i>)	Udara harus melalui penyaring HEPA ganda. Tersedia alat deteksi asap di seluruh gedung

Lampiran 1. Lanjutan

	Tingkat I	Tingkat II	Tingkat III	Tingkat IV
			Tersedia saluran vakum yang melalui saringan HEPA dan <i>liquid desinfectant trap</i>	Tersedia saluran vakum yang melalui saringan HEPA dan <i>liquid desinfectant trap</i>
			Di dalam ruang hewan ini dapat pula diletakkan kandang khusus dengan sistem ventilasi tersendiri	Di dalam ruang hewan ini dapat pula diletakkan kandang khusus dengan sistem ventilasi tersendiri
			Tersedia bak cuci dengan kran otomatis atau dapat dioperasikan dengan kaki dan bahu	Tersedia bak cuci dengan kran otomatis atau dapat dioperasikan dengan kaki dan bahu
			Tersedia peralatan untuk menangani hewan	Tersedia peralatan untuk menangani hewan
				Tersedia ruang bedah bangkai
				Semua peralatan dan drainase lantai harus dilengkapi dengan bak pencelup
				Sistem distribusi air dan gas serta saluran lain harus dilengkapi dengan pencegah aliran balik

Lampiran 1. Lanjutan

	Tingkat I	Tingkat II	Tingkat III	Tingkat IV
Dekontaminasi		Bahan dan barang terkontaminasi ditempatkan pada bahan antiseptik atau bocor dan didekontaminasi sebelum dibuang atau dipakai ulang	Bahan dan barang terkontaminasi ditempatkan pada bahan antiseptik atau bocor dan didekontaminasi dengan autoklaf sebelum dibuang atau dipakai ulang	Bahan dan barang terkontaminasi termasuk kotoran dari ruang hewan ditempatkan pada bahan antiseptik atau bocor dan didekontaminasi dengan autoklaf sebelum dibuang atau dipakai ulang
			Semua permukaan harus didekontaminasi setelah selesai pekerjaan dengan bahan transgenik	Semua permukaan harus didekontaminasi setelah selesai pekerjaan dengan bahan transgenik
			Bahan cair asal FUT sebelum masuk sistem sanitasi harus didekontaminasi dengan sistem pemanasan yang diawasi	Bahan cair asal FUT sebelum masuk sistem sanitasi harus didekontaminasi dengan sistem pemanasan yang diawasi. Bahan cair dari kamar mandi didekontaminasi dengan desinfektan kimia atau dengan pemanasan yang terbukti efektif.

Lampiran 1. Lanjutan

	Tingkat I	Tingkat II	Tingkat III	Tingkat IV
				Bahan biologik dalam keadaan utuh/hidup dilarang dikeluarkan tanpa diautoklaf atau dekontaminasi
				Bahan keperluan FUT masuk melalui autoklaf dua pintu atau lorong terfumigasi
Tanda Peringatan		Bila ada persyaratan masuk FUT, maka pada pintu masuk ditempelkan tanda peringatan disertai simbol keamanan hayati universal. Tanda tersebut mencakup agen, spesies hewan, nama dan nomor telepon pimpinan FUT dan persyaratan yang dikehendaki	Bila ada persyaratan masuk FUT, maka pada pintu masuk ditempelkan tanda peringatan disertai simbol keamanan hayati universal. Tanda tersebut mencakup agen, spesies hewan, nama dan nomor telepon pimpinan FUT dan persyaratan yang dikehendaki	Bila ada persyaratan masuk FUT, maka pada pintu masuk ditempelkan tanda peringatan disertai simbol keamanan hayati universal. Tanda tersebut mencakup agen, spesies hewan, nama dan nomor telepon pimpinan FUT dan persyaratan yang dikehendaki

Lampiran 1. Lanjutan

	Tingkat I	Tingkat II	Tingkat III	Tingkat IV
Baju Pelindung		Jas atau seragam laboratorium harus digunakan di FUT, dan dilepas bila keluar ruang	Jas laboratorium yang dapat melindungi badan sepenuhnya harus digunakan di FUT, dan dilepas bila keluar ruang	Di FUT jas laboratorium berventilasi dengan tekanan positif dengan pelindung kepala. Pada pintu masuk/keluar tersedia dus berdesinfektan untuk jas tersebut di samping dus biasa
		Dihindari kontak kulit dengan bahan transgenik	Dihindari kontak kulit dengan bahan transgenik	Dihindari kontak kulit dengan bahan transgenik
			Digunakan pelindung pernafasan pada ruang hewan yang berisi hewan penelitian	Digunakan pelindung pernafasan pada ruang hewan yang berisi hewan penelitian
Pencatatan		Staf yang terkontaminasi bahan transgenik segera dilaporkan kepada pimpinan FUT dan diberi tindakan medis serta dicatat	Staf yang terkontaminasi bahan transgenik segera dilaporkan kepada pimpinan FUT dan diberi tindakan medis serta dicatat	Tersedia buku induk berisi tanggal dan jam masuk atau keluar para staf dengan mencatat laporan kecelakaan, daftar hadir dan pemantauan kejadian penyakit akibat pekerjaan di FUT

Lampiran 1. Lanjutan

	Tingkat I	Tingkat II	Tingkat III	Tingkat IV
		Bila diperlukan, sampel serum staf diambil tergantung agen yang ditangani. Sebagai tambahan, serum juga diambil secara periodik	Bila diperlukan, sampel serum staf diambil tergantung agen yang ditangani. Sebagai tambahan, serum juga diambil secara periodik	Bila diperlukan, sampel serum staf diambil tergantung agen yang ditangani. Sebagai tambahan, serum juga diambil secara periodik
			Penggunaan dan pembuangan hewan percobaan dicatat pada buku induk	Penggunaan dan pembuangan hewan percobaan dicatat pada buku induk

Lampiran 1. Lanjutan

	Tingkat I	Tingkat II	Tingkat III	Tingkat IV
Pemindahan Bahan		Bahan biologik berbahaya pada saat dipindah ditempatkan pada kontainer pertama yang selanjutnya ditempatkan pada kontainer kedua. Keduanya telah didesinfektan dan tahan banting. Pemindahan harus seizin pimpinan FUT. Kontainer dibuka pada laboratorium dengan KTB sama atau lebih tinggi	Bahan biologik berbahaya pada saat dipindah ditempatkan pada kontainer pertama yang selanjutnya ditempatkan pada kontainer kedua. Keduanya telah didesinfektan dan tahan banting. Untuk memindahkan bahan/ organ transgenik maka harus ada izin TTKH, disertai keamanan khusus dan prosedur dekontaminasi	Bahan biologik yang masih utuh dari laboratorium dengan persyaratan maksimal pada saat dipindah ditempatkan pada kontainer pertama yang selanjutnya ditempatkan pada kontainer kedua. Keduanya telah diisolasi rapat dan keluar melalui bak desinfektan atau lorong fumigasi atau lorong kedap udara yang dirancang khusus untuk pekerjaan ini. Bahan tersebut harus dibuka pada laboratorium dengan KTB IV. Pada saat keluar harus ada izin TTKH, disertai keamanan khusus dan prosedur dekontaminasi

Lampiran 1. Lanjutan

	Tingkat I	Tingkat II	Tingkat III	Tingkat IV
Lain-lain	Bayi hewan transgenik (atau sangkarnya) diberi tanda tetap dalam waktu 72 jam setelah lahir dan dipisahkan dari bayi hewan biasa	Bayi hewan transgenik (atau sangkarnya) diberi tanda tetap dalam waktu 72 jam setelah lahir dan dipisahkan dari bayi hewan biasa	Bayi hewan transgenik (atau sangkarnya) diberi tanda tetap dalam waktu 72 jam setelah lahir dan dipisahkan dari bayi hewan biasa	Bayi hewan transgenik (atau sangkarnya) diberi tanda tetap dalam waktu 72 jam setelah lahir dan dipisahkan dari bayi hewan biasa
	Hewan jantan dan betina dipisah dengan penyekat ganda	Hewan jantan dan betina dipisah dengan penyekat ganda	Hewan jantan dan betina dipisah dengan penyekat ganda	Hewan jantan dan betina dipisah dengan penyekat ganda
		Suntikan dan jarum hanya digunakan untuk injeksi melalui pembuluh darah dan pengambilan cairan tubuh hewan. Suntikan berjarum atau yang sekali pakai saja yang dipakai, dan setelah selesai ditempatkan pada kontainer antiseptik, didekontaminasi (diharapkan dengan autoklaf) dan dibuang	Suntikan dan jarum hanya digunakan untuk injeksi melalui pembuluh darah dan pengambilan cairan tubuh hewan. Suntikan berjarum atau yang sekali pakai saja yang dipakai, dan setelah selesai ditempatkan pada kontainer antiseptik, didekontaminasi (diharapkan dengan autoklaf) dan dibuang	Suntikan dan jarum hanya digunakan untuk injeksi melalui pembuluh darah dan pengambilan cairan tubuh hewan. Suntikan berjarum atau yang sekali pakai saja yang dipakai, dan setelah selesai ditempatkan pada kontainer antiseptik, didekontaminasi (diharapkan dengan autoklaf) dan dibuang

Lampiran 1. Lanjutan

	Tingkat I	Tingkat II	Tingkat III	Tingkat IV
		Penularan terhadap staf harus dicegah. Bila vektor diketahui rute penularannya maka rute tersebut harus dicegah. Sedang bila tidak diketahui, maka semua rute harus diperhatikan	Penularan terhadap staf harus dicegah. Bila vektor diketahui rute penularannya maka rute tersebut harus dicegah. Sedang bila tidak diketahui, maka semua rute harus diperhatikan	
		Dilarang makan, minum, merokok dan berhias di FUT	Dilarang makan, minum, merokok dan berhias di FUT	Dilarang makan, minum, merokok dan berhias di FUT
		Staf yang menangani hewan atau bahan transgenik harus mencuci tangan sebelum keluar	Staf yang menangani hewan atau bahan transgenik harus mencuci tangan sebelum keluar	Staf yang menangani hewan atau bahan transgenik harus mencuci tangan sebelum keluar
			Setelah selesai digunakan, hewan disuntik mati dan bangkainya didekontaminasi sebelum dibuang	Setelah selesai digunakan, hewan disuntik mati dan bangkainya didekontaminasi sebelum dibuang

Lampiran 1. Lanjutan

	Tingkat I	Tingkat II	Tingkat III	Tingkat IV
			Pengujian hewan yang hanya membutuhkan KTB lebih rendah dari KTB III dapat dilaksanakan di KTB III bersamaan dengan pengujian lain asal memenuhi syarat	Pengujian hewan yang hanya membutuhkan KTB lebih rendah dari KTB III dapat dilaksanakan di KTB III bersamaan dengan pengujian lain asal memenuhi syarat
			Ruang harus dibersihkan minimal sehari sekali dan didekontaminasi bila terjadi bahan tumpah	Ruang harus dibersihkan minimal sehari sekali dan didekontaminasi bila terjadi bahan tumpah
			Semua langkah pengujian meminimalkan terbentuknya aerosol	Semua langkah pengujian meminimalkan terbentuknya aerosol
				Sistem penunjang keselamatan untuk jas laboratorium berventilasi harus dilengkapi dengan alarm dan tabung udara cadangan. Tersedia listrik dan alat komunikasi darurat
				Tersedia fasilitas ruang karantina, isolasi, dan perawatan kesehatan

Lampiran 2. Contoh hewan transgenik

Spesies	Transgen	Fenotip yang diharapkan	Keterangan
Mencit	MT/hGH	Pertumbuhan yang meningkat	Hewan transgenik pertama gangguan kesuburan
Mencit	MT/GHRH	Pertumbuhan yang meningkat	Perbaikan kesuburan
Babi	MT/GH	Pertumbuhan yang meningkat	Peningkatan kecepatan pertumbuhan patologi, serupa dengan kondisi menyimpang akibat injeksi GH
Domba	BLG/a1-AT	Produksi bahan obat pada susu	35-60 g protein/l susu 3 mg protein/l susu
Kambing	WAP/LatPA	Produksi bahan obat pada susu	Dimumikan 8000 kali
Ayam	RSV-MT/bGH	Pertumbuhan yang meningkat	100 µg protein/l susu
Ayam	ALV env	Daya tahan terhadap virus	Ketahanan terhadap RSV yang diperantarai oleh <i>retrovirus</i>

Lampiran 3. Contoh bahan asal hewan transgenik dan protein rekombinan

Organisme inang	Keunggulan	Kelemahan	Contoh
<i>Escherichia coli</i>	Tercirikan dengan baik, mudah dimanipulasinya Sistem ekspresi yang baik Kultur sederhana	Protein biasanya masih tertinggal dalam sel Protein dapat teragregasi atau terdegradasi sedikit modifikasi	Insulin Interferon Hormon pertumbuhan
Ragi	Sudah sangat lama digunakan Kulturnya sederhana Sistem ekspresi yang baik	Modifikasi protein tidak akurat Protein dapat mengalami agregasi	Antigen hepatitis
Sel kultur	Ekspor protein yang dimodifikasi Sistem ekspresi yang baik	Risiko kontaminasi kultur Kultur yang mahal	Eritropoietin Tissu plasminogen activator (tPA)
Hewan	Kultur sederhana: perbanyakkan secara mandiri Modifikasinya akurat Sistem ekspresi yang baik	Manipulasinya sulit Pengalaman yang terbatas	Alpha - Antitripsin Tissu plasminogen activator (tPA)

Lampiran 4. Protein yang potensial untuk obat-obatan dan kimia medis yang telah diproduksi menggunakan teknik rekombinan DNA

Produk	Manfaat
Insulin	Pengobatan diabetes melitus
Interferon	Agen antivirus
Growth Hormone	Pengobatan gangguan kelenjar
Tumor necrosis factor	Penghancuran sel kanker
Macrophage activating factor	Stimulasi sistem kekebalan
Human Serum Albumin	Operasi dan pengobatan luka bakar
Growth factor	Penyembuhan luka, agen antiborok/luka
Plasminogen activator	Penyingkiran bekuan darah
Cholestokimia	Penghambatan/menekan nafsu makan

Lampiran 5. Ekspresi transgen pada jaringan tertentu

Jaringan	Gen atau promotor
Otak	MBP, Thy-1, NFP, GRH, VP
Lensa	Crystallin
Sel-sel epitel ambing	β -Lactoglobulin, WAP
Spermatid	Protamine
Pankreas	Insulin, Elastase
Ginjal	Ren-2
Hati	Alb, AGP-A, CRP, α 2u-G, AAT, HBV
Selaput Kuning Telur	α Fetoprotein
Jaringan Hemopoietik	
-Sel-sel erosit	β -Globin
- Sel-sel B	k Ig, μ Ig
- Sel-sel T	T cell receptor
- Makrofag	M-MuLV LTR
Jaringan Ikat	MSV LTR, Collegen, vimentin
Otot	α -Actin, Myosin light chain
Jaringan-jaringan lain (banyak jaringan)	H-2 (HLA), β 2-m; CuZn SOD

AAT, α -antitrypsin; AGP-A, α 1-acid glycoprotein; Alb, albumin; α 2u-G, α 2u globulin; β -2m, β 2 microglobulin chain; CRP, C-reactive protein; CuZn SOD, Cu/Zn superoxide dismutase; GRH, gonadotropin-releasing hormone; HBV, hepatitis B virus, HLA, histocompatibility antigen class; MBP, myelin basic protein; MSV murine sarcoma virus; NFP, neurofilament protein, Ren-2, renin-2; VP, vasopressin, WAP, whey acidic protein.

Lampiran 6. Parameter kinerja obyektif dan subyektif pada hewan ternak

Jenis Ternak	Kinerja Obyektif	Kinerja Subyektif
<ul style="list-style-type: none"> ◆ Sapi perah (termasuk kerbau dan kambing perah) 	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Produksi susu per laktasi ◆ Produksi susu selama hidup ◆ Persentase lemak susu ◆ Persentase bahan ekstrak tanpa lemak ◆ Berat lahir ◆ Bobot badan ◆ Umur matang kelamin ◆ Calving interval 	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Bentuk tubuh ◆ Ketiadaan cacat ◆ Kemudahan diperah ◆ Perilaku ◆ Kesulitan melahirkan
<ul style="list-style-type: none"> ◆ Sapi potong/ kerja (termasuk kerbau) 	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Umur matang kelamin ◆ Bobot lahir ◆ Bobot disapih ◆ Laju pertumbuhan ◆ <i>Feed efficiency</i> ◆ Kemampuan kerja 	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Bentuk tubuh ◆ Ketiadaan cacat ◆ Kesulitan melahirkan ◆ Libido ◆ Bentuk karkas ◆ Kekuatan
<ul style="list-style-type: none"> ◆ Domba dan kambing 	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Umur matang kelamin ◆ Fertilitas dan Jumlah anak ◆ Berat lahir, berat sapih dan berat dewasa ◆ Sifa-sifat karkas ◆ Berat bulu domba 	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Bentuk tubuh ◆ Ketiadaan cacat
<ul style="list-style-type: none"> ◆ Babi 	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Fertilitas ◆ Frekuensi kelahiran dan banyaknya anak/kelahiran ◆ Jumlah babi yang disapih/kelahiran ◆ Berat sapih ◆ Laju pertambahan bobot setelah disapih ◆ <i>Feed efficiency</i> 	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Bentuk tubuh ◆ Ketiadaan cacat ◆ Perilaku ◆ Libido

Lampiran 6. Lanjutan

Jenis Ternak	Kinerja Obyektif	Kinerja Subyektif
<ul style="list-style-type: none"> ◆ Unggas (petelur) 	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Fertilitas ◆ Daya tetas ◆ Daya hidup ◆ Produksi telur ◆ Survival index ◆ Fitness index ◆ Umur matang kelamin ◆ Umur saat bertelur pertama kali ◆ <i>Feed efficiency</i> ◆ Warna kuning telur ◆ Warna dan kekuatan kulit telur dan sifat-sifat telur lain 	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Perilaku
<ul style="list-style-type: none"> ◆ Unggas (pedaging) 	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Fertilitas ◆ Daya tetas ◆ Daya hidup ◆ Produksi telur ◆ Survival index ◆ Fitness index ◆ Umur matang kelamin ◆ Umur saat bertelur pertama kali ◆ <i>Feed efficiency</i> ◆ Persentase karkas 	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Bentuk karkas

Sumber: Warwick *et al.* (1995) dengan modifikasi

Tim Penyusun
Pedoman Pelaksanaan Pengujian Keamanan Hayati
PBPHRG Seri Hewan

- ◆ Dr. M. Winugroho
- ◆ Dr. Baharuddin Tappa
- ◆ Dr. Bambang Purwantara
- ◆ Drh. Agus Wiyono
- ◆ Dr. Yanuarso Eddy, M.Agr