

Lampiran 1

RINGKASAN PENGAJIAN KEAMANAN PAKAN JAGUNG PRG *STACK EVENT* Bt11 × GA21

I. PENDAHULUAN

Jagung PRG *stack event* Bt11 × GA21 merupakan jagung produk rekayasa genetik dari PT Syngenta Seed Indonesia yang dihasilkan dari persilangan konvensional dua *event* jagung PRG, yaitu Jagung PRG *event* Bt11 dan Jagung PRG *event* GA21 yang keduanya telah memperoleh persetujuan keamanan pakan di Indonesia pada tahun 2018 dari Kementerian Pertanian RI. Persilangan konvensional dilakukan antara Jagung PRG *event* Bt11 (sebagai tetua betina) dan Jagung PRG *event* GA21 (sebagai tetua jantan) untuk menghasilkan Jagung PRG *stack event* Bt11 × GA21 generasi F₁.

Jagung PRG *stack event* Bt11 × GA21 mengandung 3 (tiga) gen sisipan, yaitu gen *cry1Ab* yang memberikan sifat ketahanan terhadap serangga hama penggerek jagung *Ostrinia furnacalis*, gen *pat* yang memberikan sifat toleransi terhadap herbisida berbahan aktif *glufosinat*, dan gen *mepsps* yang memberikan sifat toleransi terhadap herbisida berbahan aktif glifosat.

Menurut ISAAA (2020), Jagung PRG *stack event* Bt11 × GA21 telah memperoleh sertifikat aman pangan di 15 (lima belas) negara, yaitu Korea Selatan (2006); Filipina, Jepang, dan Meksiko (2007); Argentina, Brazil, dan Taiwan (2009); Uni Eropa (2010); Afrika Selatan, Republik Rakyat Tiongkok, dan Uruguay (2011); Kolombia (2012); Thailand (2013); Paraguay dan Vietnam (2015). Di **Indonesia**, Jagung PRG *stack event* Bt11 × GA21 ini dinyatakan aman pangan berdasarkan Surat Keputusan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan No. HK.02.02.1.5.07.20.279 Tahun 2020.

Jagung PRG *stack event* Bt11 × GA21 telah memperoleh sertifikat aman pakan di 13 (tiga belas) negara, yaitu Filipina dan Jepang (2007); Korea Selatan (2008); Argentina dan Brazil (2009); Kolombia dan Uni Eropa (2010); Afrika Selatan, Republik Rakyat Tiongkok, Turki, dan Uruguay (2011); Paraguay dan Vietnam (2015).

Jagung PRG *stack event* Bt11 × GA21 juga telah memperoleh sertifikat aman lingkungan di 9 (sembilan) negara, yaitu Kanada (2005); Jepang (2007); Argentina dan Brazil (2009); Afrika Selatan dan Filipina (2010); Uruguay (2011); Paraguay dan Vietnam (2015).

Berdasarkan Peraturan Menteri Pertanian No. 36/Permentan/LB.070/8/2016 Tahun 2016 tentang Pengkajian Keamanan Pakan PRG dan Keputusan Kepala Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian No. 466.2/Kpts/OT.210/H/11/2016 Tahun 2016 tentang Pedoman Teknis Tata Cara dan Mekanisme Pengkajian Keamanan Pakan PRG, TTKH Pakan PRG telah melakukan pengkajian keamanan pakan Jagung

PRG *stack event* Bt11 × GA21 berdasarkan informasi genetik dan informasi keamanan pakan sebagaimana diuraikan berikut ini.

II. INFORMASI GENETIK

II.1 Elemen Genetik

Jagung PRG *stack event* Bt11 × GA21 merupakan hasil persilangan konvensional antara Jagung PRG *event* Bt11 (tetua betina) dan Jagung PRG *event* GA21 (tetua jantan). Kedua PRG ini telah mendapatkan sertifikat aman pakan pada tahun 2018 di Indonesia. Setelah disilangkan secara konvensional, hasil analisis komparatif *Southern blot* memperlihatkan bahwa hasil persilangan masih memiliki sifat gabungan dari kedua tetuanya dan tidak mengandung *backbone* (Harper, 2008). Hal ini menunjukkan bahwa integritas sisipan transgenik dipertahankan selama pemuliaan konvensional. Hasil persilangan Jagung PRG *stack event* Bt11 × GA21 ini mengandung tiga gen sisipan yang didapatkan dari tetua-tetuanya, yaitu:

1. Satu kopi gen *cry1Ab* memproduksi protein Cry1Ab yang bertanggung jawab dalam ketahanan terhadap serangga hama penggerek jagung *O. furnacalis*.
2. Satu kopi gen *pat* yang mengode enzim PAT yang bertanggung jawab dalam toleransi terhadap herbisida berbahan aktif glufosinat. Sifat toleransi terhadap herbisida glufosinat digunakan sebagai penanda dan penyeleksi dalam proses pengembangan Jagung PRG *event* Bt11.
3. Lima kopi gen *mepsps* yang mengode protein mEPSPS yang bertanggung jawab dalam toleransi terhadap herbisida berbahan aktif glifosat.

II.2 Sumber Gen Sisipan

Sumber gen sisipan Jagung PRG *stack event* Bt11 × GA21 adalah dari kedua tetuanya, yaitu Jagung PRG *event* Bt11 dan Jagung PRG *event* GA21. Sumber gen sisipan tersebut dijelaskan sebagai berikut:

1. Gen *cry1Ab* berasal dari *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* strain HD-1 (Perlak *et al.*, 1991), promotor 35S berasal dari *Cauliflower mosaic virus*/CaMV (Gardner *et al.*, 1981), sekuen intron IVS6-ADH1 berasal dari *alcohol dehydrogenase1/Adh1* jagung (Freeling dan Bennett, 1985), dan terminator gen *nopaline synthase*/NOS berasal dari *Agrobacterium tumefaciens*.
2. Gen *pat* berasal dari gen sintetik *pat* dari *Streptomyces viridochromogenes* strain Tu494, promotor 35S berasal CaMV, sekuen intron IVS2-ADH1 berasal dari *Adh1* jagung, dan terminator NOS berasal dari *A. tumefaciens* (Depicker *et al.*, 1982).
3. Gen *mepsps* berasal dari jagung, promotor *actin* dan *intron rice actin* berasal dari padi. Sekuen *optimized transit peptide* (OTP) terdiri atas gen *ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase oxygenase (RuBisCo)* dari sekuen *chloroplast transit peptide* bunga matahari (*ssu*) dan gen *RuBisCo* dari sekuen *chloroplast transit peptide* jagung (*mssu*) (Lebrun *et al.*, 1996). Terminator NOS berasal dari *A. tumefaciens* yang berfungsi menghentikan transkripsi (Bevan *et al.*, 1984).

II.3 Sistem Transformasi

Proses transformasi hanya dilakukan dalam pengembangan produk Jagung PRG *event* Bt11 (Mettler *et al.*, 2000) dan Jagung PRG *event* GA21 (Spencer *et al.*, 1998; Rabe *et al.*, 2006).

II.4 Stabilitas Genetik

Kestabilan gen sisipan pada Jagung PRG *stack event* Bt11 × GA21 dievaluasi melalui perbandingan pola pewarisan gen sisipan pada hibrida terhadap tetuanya. Hasil analisis menggunakan *Southern blot* menunjukkan bahwa gen *Cry1Ab* dan *pat* dari Jagung PRG *event* Bt11 dan gen *mepsps* dari Jagung PRG *event* GA21 diwariskan secara utuh ke Jagung PRG *stack event* Bt11 × GA21. Pola pewarisan ini sesuai dengan prediksi dan menunjukkan bahwa gen sisipan diwariskan secara utuh dan stabil pada Jagung PRG *stack event* Bt11 × GA21 (Harper, 2008).

Berdasarkan hasil kajian informasi genetik dapat disimpulkan bahwa:

1. Jagung PRG *stack event* Bt11 × GA21 mengandung satu kopi gen *cry1Ab*, satu kopi gen *pat*, dan lima kopi gen *mepsps*.
2. Jagung PRG *stack event* Bt11 × GA21 tidak mengandung sekuen *backbone* dari plasmid transformasi pZO1502 dan pDPG434.
3. Jagung PRG *stack event* Bt11 × GA21 mengandung tiga gen, yaitu *cry1Ab*, *pat*, dan *mepsps* yang tetap stabil diwariskan dari tetuanya secara utuh, yaitu dari Jagung PRG *event* Bt11 dan Jagung PRG *event* GA21.

III. INFORMASI KEAMANAN PAKAN

III.1 Kesepadanan Substansial

Pengkajian kesepadanan substansial tanaman Jagung PRG *stack event* BT11 × GA21 dilakukan dengan mempelajari dokumen *Compositional Analysis of Grain and Forage from a Bt11 × GA21 Maize Hybrid Grown during 2005 in USA* (de Fontes, 2006). Sampel yang diuji berupa biji (*grain*) dan hijauan (*forage*), diambil dari 6 (enam) lokasi tanam di Amerika Serikat, yaitu 1 (satu) lokasi masing-masing di Janesville (Wisconsin), Alleman (Iowa), Seward (Nebraska), dan Bondville (Illinois), serta 2 (dua) lokasi di Bloomington (Illinois). Analisis dilakukan di Covance Laboratories, Inc., 3301 Kinsman Boulevard, Madison, Wisconsin, AS. Laboratorium ini telah menerapkan *Good Laboratory Practices* (GLP).

Analisis biji Jagung PRG *stack event* Bt11 × GA21 yang dibandingkan dengan biji jagung non-PRG dilakukan untuk mengetahui kesepadanan substansialnya. Pengujian laboratorium dilakukan pada biji dan hijauan Jagung PRG *stack event* Bt11 × GA21. Analisis biji jagung yang dilakukan meliputi analisis proksimat, yaitu kadar air, protein, lemak, abu, dan karbohidrat, serta komponen serat. Analisis lain meliputi mineral (Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, P, K, Se, Na, dan Zn), vitamin (A, B1, B2, B3, B6, B9, dan E), profil asam amino (asam aspartat, treonin, serin, asam glutamat, prolin, glisin, alanin, valin, isoleusin, leusin, tirosin, fenilalanin, histidin, lisin, arginin,

triptofan, sistein, dan metionin), dan profil asam lemak (palmitat, stearat, oleat, linoleat, linolenat, arakhidat, eikosenoat, dan behenat), zat antinutrisi (asam fitat, rafinosa, dan inhibitor tripsin), dan metabolit sekunder (asam ferulat, furfural, asam p-kumarat, dan inositol). Hasil analisis proksimat (air, protein, lemak, abu, dan karbohidrat, serta komponen serat), vitamin, mineral, profil asam amino, profil asam lemak, zat antinutrisi, dan metabolit sekunder pada biji jagung menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata di antara Jagung PRG *stack event* Bt11 × GA21 dan jagung kontrol non-PRG, dan masuk dalam kisaran komposisi jagung pada umumnya (ILSI, 2006).

Pada hijauan tanaman jagung dilakukan analisis proksimat dan mineral (kalsium dan fosfor). Hasil analisis proksimat dan mineral hijauan tanaman jagung menunjukkan tidak ada perbedaan di antara Jagung PRG *stack event* Bt11 × GA21 dan jagung non-PRG, dan masih dalam kisaran yang terdapat dalam basis data ILSI (2006).

Berdasarkan pengkajian kesepadanan substansial dapat disimpulkan bahwa Jagung PRG *stack event* Bt11 × GA21 sepadan dengan jagung non-PRG.

III.2 Toksisitas

Uji toksisitas telah dilakukan untuk kedua tetua, yaitu Jagung PRG *event* Bt11 dan Jagung PRG *event* GA21, melalui studi bioinformatik (Altschul *et al.*, 1997; Bailey, 2016; Bauman, 2016), uji pencernaan *in vitro* (Privalle, 1994; Graser, 2005; Graser dan Mims, 2006; Song dan Winslow, 2010), dan toksisitas akut (Meeusen dan Mettler, 2000; Barnes, 2005; Graser, 2005; Hosako, 2013). Dari hasil studi bioinformatik, protein Cry1Ab, PAT, dan mEPSPS masing-masing tidak ada kemiripan dengan protein toksin atau toksin putatif (*putative toxin*). Berdasarkan uji pencernaan *in vitro* dan toksisitas akut pada mencit menggunakan rekombinan dari protein Cry1Ab, PAT, dan mEPSPS secara terpisah, diketahui bahwa ketiga protein tersebut tidak bersifat toksik.

III.3 Studi Pakan

Studi pakan Jagung PRG *stack event* Bt11 × GA21 telah dilakukan pada tetuanya, yaitu studi pakan Jagung PRG *event* Bt11 (Foster dan Beavers, 1997) dan studi pakan Jagung PRG *event* GA21 (Brake, 2005). Hasil pengujian pada kedua tetuanya tidak menunjukkan performa yang negatif dibanding dengan jagung non-PRG. Kedua Jagung PRG *event* Bt11 dan Jagung PRG *event* GA21 masing-masing telah dinyatakan aman pakan.

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengkajian tentang informasi genetik, kesepadanan substansial, toksisitas dan studi pakan disimpulkan dan disarankan hal-hal sebagai berikut:

1. Jagung PRG *stack event* Bt11 × GA21 merupakan *stack event* hasil persilangan konvensional antara Jagung PRG *event* Bt11 dan Jagung PRG *event* GA21. Kedua jagung PRG tersebut telah mendapatkan sertifikat aman pakan di

Indonesia pada tahun 2018 dari Kementerian Pertanian RI. Hasil persilangan menunjukkan tetap mempertahankan sifat kedua tetuanya.

2. Jagung PRG *stack event* Bt11 × GA21 mengandung tiga gen sisipan, yaitu gen *cry1Ab*, *pat*, dan *mepsps*, dengan jumlah kopi masing-masing adalah satu kopi gen *cry1Ab*, satu kopi gen *pat*, dan lima kopi gen *mepsps*.
3. Gen *cry1Ab*, *pat*, dan *mepsps* pada Jagung PRG *stack event* Bt11 × GA21 tetap stabil diwariskan dari tetuanya secara utuh, yaitu dari Jagung PRG *event* Bt11 dan Jagung PRG *event* GA21, dan tidak mengandung fragmen *backbone* plasmid transformasi.
4. Jagung PRG *stack event* Bt11 × GA21 sepadan secara substansial dengan jagung non-PRG dan tidak bersifat toksik.
5. TTKH Bidang Keamanan Pakan PRG menilai bahwa Jagung PRG *stack event* Bt11 × GA21 yang diajukan adalah aman untuk dikonsumsi sebagai bahan pakan.
6. Apabila di kemudian hari ditemukan data dan informasi baru yang tidak sesuai dengan data keamanan pakan yang diperoleh hingga saat ini, status keamanan pakan Jagung PRG *stack event* Bt11 × GA21 perlu dikaji ulang.
7. Apabila setelah ditetapkan aman pakan, kemudian Jagung PRG *stack event* Bt11 × GA21 terbukti menimbulkan dampak negatif terhadap kesehatan manusia dan hewan, pemohon wajib melakukan tindakan pengendalian dan penanggulangan, serta menarik Jagung PRG *stack event* Bt11 × GA21 dari peredaran.
8. Jagung PRG *stack event* Bt11 × GA21 tidak boleh dibudidayakan sampai ditetapkan aman lingkungan.

DAFTAR PUSTAKA

- Altschul, S.F., Madden, T.L., Schaffer, A.A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W., and Lipman, D.J. 1997. *Gapped BLAST and PSI-BLAST: A new generation of protein database search programs*. *Nucleic Acid Research*, 25:3389–3402.
- Bailey, K. 2016. *eCry3.1Ab: Assessment of amino acid sequence similarity to known or putative toxin*. Report number: SSB-128-16 A3. Syngenta Crop Protection, LLC, 3054 East Cornwallis Road, Research Triangle Park, NC 27709-2257, USA.
- Barnes, E. 2005. *GA21-0104, single dose toxicity study in the mouse*. Report number: CTL/AM7513/REG/REPT (unpublished). Central Toxicology Laboratory, Alderley Park, UK provided to Syngenta Crop Protection, LLC, Research Triangle Park, NC 27709-2257, USA. 190 pp.
- Bauman, P.A. 2016. *PAT (pat): Assessment of amino acid sequence similarity to known or putative toxin*. Report number: SSB-108-16 A1. Syngenta Crop Protection, LLC, 3054 East Cornwallis Road, Research Triangle Park, NC 27709-2257, USA.
- Bevan, M. 1984. *Binary Agrobacterium vectors for plant transformation*. *Nucleic Acids Research*, 12:8711–8721.
- Brake, J.T. 2005. *Evaluation of event GA21 transgenic maize (corn) in broiler chickens*. Department of Poultry Science, North Carolina State University, Chicken Education Unit, Lake Wheeler Road Field Laboratory, 4108 Lake Wheeler Road, Raleigh, North Carolina, USA.

- de Fontes, J. 2006. *Compositional analysis of grain and forage from a Bt11 × GA21 maize hybrid grown during 2005 in the USA*. Study number: BTGA-05-101, Report number: SSB-173-06. Syngenta Biotechnology, Inc., 3054 East Cornwallis Road, PO Box 12257, Research Triangle Park, NC 27709-2257, USA.
- Depicker, A., Stachel, S., Dhaese, P., Zambrysky, P., and Goodman, H.M. 1982. *Nopalinsynthase: transcript mapping and DNA sequence*. *Journal of Molecular Applied Genetics*, 1:561–573.
- Foster, J.W. and Beavers, J.B. 1997. *An evaluation of laying hen (Gallus gallus) fed diets containing transgenic event 176 and Bt11 maize (corn)*. Wildlife International Ltd. Project number: 108-394. Novartis Seeds, 3054 Cornwallis Road, Research Triangle Park, NC 27709, USA.
- Freeling, M. and Bennett, D.C. 1985. *Maize Adh1*. *Annual Review of Genetics*, 19:297–323.
- Gardner, R.C., Howarth, A.J., Hahn, P., Brown-Luedi, M., Sheperd, R.J., and Messing, J. 1981. *The complete nucleotide sequence of an infectious clone of Cauliflower mosaic virus by M13mp7 shotgun sequencing*. *Nucleic Acid Research*, 9:2871–2888.
- Graser, G. 2005. *Characterization of the double mutated maize 5-enolpyruvylshikimate 3-phosphate synthase (mEPSPS) enzyme produced in event GA21-derived maize (corn) and comparison with mEPSPS expressed in recombinant Escherichia coli*. Report number: SSB-008-05. Syngenta Biotechnology, Inc., 3054 East Cornwallis Road, PO Box 12257 Research Triangle Park, NC 27709-2257, USA. Report completed on 29 November 2005.
- Graser, G. and Mims, G. 2006. *In vitro digestibility of 5-enol pyruvylshikimate-3-phosphate synthase (mEPSPS) test substance GA21-0104 under simulated mammalian intestinal conditions*. Report number: SSB-046-06. Syngenta Biotechnology, Inc., 3054 East Cornwallis Road, PO Box 12257, Research Triangle Park, NC 27709-2257, USA. Report completed on 24 October 2006.
- Harper, B. 2008. *Comparative southern analysis of event Bt11, event GA21 and event Bt11 × GA21 maize hybrid*. Report number: SSB-165-06 A2. Syngenta Biotechnology, Inc. Regulatory Science, PO Box 12257, 3054 East Cornwallis Road, Research Triangle Park, NC 27709-2257, USA.
- Hosako, H. 2013. *PAT: acute oral (gavage) toxicity study in mice with a 14-day observation period*. Company report. Performing laboratory: WIL Research, 1407 George Road, Ashland, OH 44805-8946, USA. Laboratory project ID: Report number: WIL-639181; Study number: WIL-639181; Task number: TK0117267. Syngenta Seeds, Inc., 3054 East Cornwallis Road, PO Box 12257, Research Triangle Park, NC 27709-2257, USA.
- ILSI. 2006. *ILSI crop composition database*. Version 3.0. International Life Science Institute. <http://www.cropcomposition.org>.
- ISAAA. 2020. *Summary of regulatory approvals: country, year and type of approval: event number Bt11 × GA21*. [Online] Available from: <https://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/event/default.asp?EventID=133> (Accessed 18 August 2020).
- Lebrun, M., Leroux, B., and Sailland, A. 1996. *Chimeric gene for the transformation of plants*. US patent number: 5,510,471.
- Meeusen, R. and Mettler, I. 2000. *Equivalence of plant and microbially produced Bacillus thuringiensis kurstaki HD-1 protein*. Lab project number: 1/NK5EQ.

- Novartis Seeds/Nothrup King Co. Research, University of Wisconsin-Biotechnology Center, Kendrick Laboratory, and Protein and Nucleic Acid Chemistry Laboratory, Washington University School of Medicine. Report completed on 22 August 1994, revised on 3 July 1998 and 23 October 2000.
- Mettler, I.J., Dietrich, P.S., and Sinibaldi, R.M. 2000. *Nucleic acid construct comprising Bacillus thuringiensis cry1Ab gene*. US patent number: 6,114,608.
- Perlak, F.J., Roy, L.F., Duff, A.D., McPherson, S., and Fischhoff, D.A. 1991. *Modification of the coding sequence enhances plant expression of insect control protein genes*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 88:3324–3328.
- Privalle, L. 1994. *In vitro digestibility of Cry1A(b) protein from Bt maize (corn) and Bacillus thuringiensis subspecies kurstaki under simulated mammalian gastric condition*. Lab project number: CAB/007/94. Unpublished study prepared by Ciba Seeds Agricultural Biotechnology Research Unit. 17 p.
- Rabe, S., Pulliam, D., Harper, B., and Chalk, T. 2006. *Molecular characterization of transgenic maize event GA21*. Amended report number: SSB-131-05 A2. Syngenta Biotechnology, Inc., Regulatory Science & Product Support, PO Box 12257, 3054 East Cornwallis Road, Research Triangle Park, NC 27709-2257, USA.
- Spencer, M., Mumm, R., Gwyn, J., McElroy, D., and Stephen, M.A. 1998. *Glyphosate resistant maize lines*. US patent: WO 1998044140 A1.
- Song, S. and Winslow, S. 2010. *In vitro digestibility of phosphinothricin acetyltransferase (PAT) protein under simulated mammalian intestinal conditions*. Report number: SSB-046-06. Syngenta Biotechnology, Inc., 3054 East Cornwallis Road, PO Box 12257, Research Triangle Park, NC 27709-2257, USA. Report completed on 13 October 2010.