

Pengkajian Keamanan Lingkungan Produk Rekayasa Genetik Vaksin Himmvac Dalguban BN Plus Oil Vaccine

Vaksin *Himmvac Dalguban BN plus Oil Vaccine* adalah vaksin PRG inaktif diproduksi oleh *Korea Biologicals Environmental products Pharmaceuticals, Inc* (KBNP, *Inc*) yang akan diedarkan di Indonesia oleh PT Blue Sky Biotech. Vaksin ini ditujukan untuk pengendalian penyakit *Newcastle Disease* (ND) dan *Infectious Bronchitis* (IB) pada ternak ayam. Vaksin *Himmvac Dalguban BN plus Oil Vaccine* mengandung jasad renik PRG berupa rekombinan virus ND strain La Sota (ATCC VR-699) dengan gen F dan HN dari virus ND strain KBNP 4152 (virus ND genotip VII). Virus ND La Sota telah sejak lama dipakai sebagai strain vaksin ND di Indonesia. Vaksin ini sudah terdaftar dan diedarkan (sudah mendapatkan *Certificate of Free Sale*) sebagai vaksin ND untuk unggas di negara Korea Selatan, Nepal dan Myanmar.

Berdasarkan Peraturan Pemerintah No. 21 Tahun 2005 tentang Keamanan Hayati Produk Rekayasa Genetik dan Peraturan Menteri Lingkungan Hidup No. 25 Tahun 2012 tentang Pedoman Penyusunan Analisis Risiko Lingkungan Produk Rekayasa Genetik, maka Tim Teknis Keamanan Hayati Produk Rekayasa Genetik (TTKH PRG) telah melakukan pengkajian keamanan lingkungan vaksin *Himmvac Dalguban BN plus Oil Vaccine*. Pengkajian didasarkan pada informasi genetik dan informasi keamanan lingkungan yang terdiri dari hospes alami dari tetua jasad renik PRG, sifat genetik yang direkayasa, stabilitas genetik jasad renik PRG, kemampuan penyebaran jasad renik, dan kemungkinan menimbulkan risiko terhadap lingkungan sebagaimana diuraikan di bawah ini.

Selengkapnya Klik Disini

Ringkasan Pengkajian Keamanan Lingkungan Produk Rekayasa Genetik *Himmvac Dalguban BN plus Oil Vaccine*.

I. Pendahuluan

Vaksin *Himmvac Dalguban BN plus Oil Vaccine* adalah vaksin PRG inaktif diproduksi oleh *Korea Biologicals Environmental products Pharmaceuticals, Inc* (KBNP, Inc) yang akan diedarkan di Indonesia oleh PT Blue Sky Biotech. Vaksin ini ditujukan untuk pengendalian penyakit *Newcastle Disease* (ND) dan *Infectious Bronchitis* (IB) pada ternak ayam. Vaksin *Himmvac Dalguban BN plus Oil Vaccine* mengandung jasad renik PRG berupa rekombinan virus ND strain La Sota (ATCC VR-699) dengan gen F dan HN dari virus ND strain KBNP 4152 (virus ND genotip VII). Virus ND La Sota telah sejak lama dipakai sebagai strain vaksin ND di Indonesia. Vaksin ini sudah terdaftar dan diedarkan (sudah mendapatkan *Certificate of Free Sale*) sebagai vaksin ND untuk unggas di negara Korea Selatan, Nepal dan Myanmar.

Berdasarkan Peraturan Pemerintah No. 21 Tahun 2005 tentang Keamanan Hayati Produk Rekayasa Genetik dan Peraturan Menteri Lingkungan Hidup No. 25 Tahun 2012 tentang Pedoman Penyusunan Analisis Risiko Lingkungan Produk Rekayasa Genetik, maka Tim Teknis Keamanan Hayati Produk Rekayasa Genetik (TTKH PRG) telah melakukan pengkajian keamanan lingkungan vaksin *Himmvac Dalguban BN plus Oil Vaccine*. Pengkajian didasarkan pada informasi genetik dan informasi keamanan lingkungan yang terdiri dari hospes alami dari tetua jasad renik PRG, sifat genetik yang direkayasa, stabilitas genetik jasad renik PRG, kemampuan penyebaran jasad renik, dan kemungkinan menimbulkan risiko terhadap lingkungan sebagaimana diuraikan di bawah ini.

II. Informasi Jasad Renik PRG

II.1. Deskripsi Umum Jasad Renik PRG

Jasad renik PRG di dalam vaksin *Himmvac Dalguban BN plus Oil Vaccine* ini adalah virus ND strain KBNP-C4152R2L, yang merupakan rekombinan antara virus ND strain La Sota (genotipe II) sebagai virus tetua dengan gen F dan HN dari virus ND strain KBNP-4152 (genotipe VII) sebagai donor gen. Virus ND strain La Sota merupakan virus yang tidak patogenik pada ayam. Virus ND strain La Sota secara umum tidak dapat menginfeksi ataupun menimbulkan penyakit pada manusia, hewan dan organisme non target lain (Cho *et al.* 2008).

II.2. Informasi Sifat Genetik Jasad Renik

Tetua jasad renik yang direkayasa genetik ini adalah virus ND strain La Sota (ATCC VR-699). Hospes alami dari virus ini adalah unggas.

Gen F dan HN virus ND strain KBNP-4152 digunakan sebagai donor untuk menggantikan gen F dan HN dari virus tetuanya (virus ND strain La Sota). Jasad renik rekombinan ini disebut dengan virus ND strain KBNP-C4152R2L, yang telah terdaftar dalam GenBank dengan nomor akses EU140955. Virus ND rekombinan strain KBNP-C4152R2L telah diuji stabilitas genetiknya sampai dengan 10 kali pasase pada ayam *Specific Pathogen Free*

(SPF), 20 kali pasase pada embrio ayam, dan 10 kali pasase pada trakea ayam SPF (Cho *et al.* 2008).

II.3. Metoda Konstruksi Genetik

Jasad renik PRG KBNP-C4152R2L berasal dari virus ND strain La Sota (ATCC VR-699) sebagai tetua dan gen F dan HN virus ND strain KBNP-4152 sebagai gen interes.

Genom virus ND strain La Sota diamplifikasi dengan menggunakan metoda RT-PCR dengan tidak menyertakan gen F dan HN sehingga diperoleh fragmen S1-S6. Fragmen gen F dari strain KBNP-4152 diamplifikasi dengan RT-PCR sehingga diperoleh fragmen S7. Selanjutnya pada fragmen gen F ini dilakukan *side-directed mutagenesis* untuk mengubah ¹¹²RRQKRF₁₁₇ (*high pathogenic*) menjadi ¹¹²GRQARL₁₁₇ (*low pathogenic*). Gen HN dari strain KBNP-4152 diamplifikasi dengan RT-PCR, sehingga diperoleh fragmen S8. Fragmen S1-S8 diligasi dengan vektor plasmid pTMH dengan urutan S1, S6, S7, S8, S3, S4, S2, sehingga menjadi pTMH-NDV.

Plasmid yang mengekspresikan gen NP, P, dan L dari virus ND La Sota dikonstruksi dengan menggunakan plasmid pcDNA3.1 Topo berturut-turut menjadi pcDNA-NP, pcDNA-P, pcDNA-L.

Rekombinan virus ND diperoleh dengan jalan melakukan kotransfeksi plasmid pTMH-NDV, pcDNA-NP, pcDNA-P, pcDNA-L ke dalam kultur sel HEP-2 yang sudah diinfeksi dengan virus *vaccinia* rekombinan yang mengekspresikan T7 RNA *polymerase*. Hasil seleksi virus rekombinan diberi nama virus ND strain KBNP-C4152R2L (Cho *et al.* 2008).

II.4. Karakter Modifikasi Genetik

Penyisipan gen F dan HN virus ND KBNP 4152 tidak mempengaruhi virulensi virus tetuanya, bahkan penggantian gen tersebut akan menyebabkan ekspresi protein yang berfungsi untuk memberikan perlindungan terhadap infeksi virus ND tipe VII yang saat ini banyak ditemukan di Indonesia (Adi *et al.* 2009; GenBank No. akses HQ 697254.1 sampai HQ 697261.1).

Virus ND rekombinan strain KBNP-C4152R2L bersifat stabil secara fenotipik, yang ditunjukkan dengan uji *in vivo* setelah pasase 10 kali intratrakea dan 20 kali pasase intracerebral pada anak ayam SPF. Hasil uji patogenisitas menunjukkan *Mean Death Time* (MDT) > 168 dan *Intra Cerebral Pathogenic Index* (ICPI) = 0 (Cho and Kim 2007). Dengan demikian maka strain dari virus ND hasil modifikasi yaitu strain KBNP-C4152R2L tetap sebagai virus strain lentogenik.

II.5. Kemungkinan terjadinya ketidakstabilan gen yang disisipkan sehingga dapat dipindahkan ke organisme lain

Jasad renik PRG di dalam vaksin *Himmvac Dalguban BN plus Oil Vaccine* secara genotipe cukup stabil. Hal ini dibuktikan dengan kesamaan sekuens sampai dengan pasase ke-10 pada ayam SPF (tidak ditemukan mutasi pada *cleavage site* gen F). Data laboratorium juga menunjukkan stabilitas genetik virus PRG setelah pasase sebanyak 20 kali pada embrio ayam dan 10 kali pada trakea ayam SPF (Cho and Kim 2007). Analisis BLAST menunjukkan gen F-HN tersebut tidak mempunyai homologi dengan sekuens gen organisme lain, sehingga perpindahan gen tidak dimungkinkan.

Galur virus ND strain KBNP-C4152R2L tidak akan berubah menjadi patogenik karena telah dilakukan *double mutation* melalui teknik *side-directed mutagenesis*.

Berdasarkan hasil pengkajian informasi genetik jasad renik PRG dalam vaksin ini dapat disimpulkan bahwa :

1. Virus ND rekombinan strain KBNP-C4152R2L adalah rekombinan antara virus ND strain La Sota dengan gen F dan HN dari virus ND strain KBNP-4152 yang telah dilakukan *site-directed mutagenesis* pada *cleavage site*. Penggantian gen F dan HN ini tidak mengubah sifat virulensi virus tetuanya.
2. Virus ND rekombinan strain KBNP-C4152R2L mengandung satu kopi gen F dan HN yang stabil secara genotipe dan fenotipe.
3. Gen F dan HN dari virus ND rekombinan strain KBNP-C4152R2L tidak berpeluang untuk disebarkan/dipindahkan ke organisme lain.

III. Informasi Keamanan Lingkungan

III.1. Kemampuan Penyebaran Jasad Renik PRG dalam Vaksin

Virus ND rekombinan strain KBNP-C4152R2L di dalam *Himmvac Dalguban BN plus Oil Vaccine* telah dimatikan (diinaktivasi) sehingga tidak dapat diisolasi kembali dari ekskreta hewan yang divaksinasi dan tidak ditemukan virus hidup di lingkungan.

III.2. Informasi Cakupan Hospes Organisme Tetua Virus PRG untuk Vaksin

Tetua virus ini adalah virus ND strain La Sota, termasuk dalam Famili Paramyxoviridae, Genus *Avulavirus*, Spesies *Newcastle Disease Virus*, strain La Sota (ATCC-VR-699). Hospes alaminya adalah ayam, sedangkan hospes alternatifnya adalah semua jenis unggas (Alexander and Senne 2003).

III.3. Informasi Kajian Molekuler

Sifat genetik yang direayasa di dalam jasad renik PRG ini adalah penggantian gen F dan HN virus ND strain La Sota dengan gen F dan HN dari virus ND strain KBNP-4152. Gen F yang disisipkan sudah dilakukan *side-directed mutagenesis* dari $_{112}RRQKRF_{117}$ menjadi $_{112}GRQARL_{117}$. Perubahan ini dicirikan dengan data MDT dan ICPI. MDT pada strain KBNP-C4152R2L adalah >168 dan ICPI adalah 0. Berbeda dengan strain virus tetuanya yaitu strain La Sota dan strain virus donornya yaitu KBNP-4152 dengan nilai MDT masing-

masing sebesar 114 dan 48, sedangkan nilai ICPI masing-masing sebesar 0,25 dan 1,92 (Cho *et al.* 2008). Dengan demikian maka virus ND strain KBNP-C4152R2L termasuk ke dalam strain lentogenik.

Penanda atau sekuen yang dapat dipakai untuk mengidentifikasi jasad renik PRG virus ND strain KBNP-C4152R2L adalah dengan menggunakan metode RT-PCR dengan primer NDPt-R (20mer) dengan susunan sekuen 5'-TGC CAC TGM TAG TTG YGA TA-3' dan NDcomF156 (20mer) dengan susunan sekuen 5'-ATA CAC CTC RTC YCA GAC AG-3' , serta dikonfirmasi dengan menggunakan metoda sekuensing (Cho and Kim 2013).

III.4. Kemungkinan Dampak Negatif Jasad Renik PRG dalam Vaksin terhadap Lingkungan
Analisis BLAST menunjukkan gen F dan HN tersebut tidak mempunyai homologi dengan sekuen gen organisme lain, sehingga tidak memungkinkan terjadinya perpindahan gen.

Virus ND strain KBNP-C4152R2L memiliki nilai MDT >168 dan ICPI 0. Dengan demikian virus ND strain KBNP-C4152R2L termasuk ke dalam strain lentogenik.

Jasad renik PRG di dalam vaksin *Himmvac Dalguban BN plus Oil Vaccine* merupakan virus yang telah dimatikan sehingga tidak berpotensi menyebar ke lingkungan maupun organisme non target. Oleh karena itu, jasad renik PRG di dalam *Himmvac Dalguban BN plus Oil Vaccine* sehingga tidak ada kemungkinan risiko terhadap lingkungan.

IV. Informasi Produk

Sebelum mendapatkan sertifikat keamanan lingkungan produk ini telah diinformasikan kepada pemangku kepentingan melalui komunikasi risiko. Setelah mendapatkan izin peredaran, informasi dan komunikasi mengenai produk dapat dilakukan melalui :

1. Website : www.kbnp.net atau www.kbnp.co.kr
2. E-mail : kbnpexport@kbnp.co.kr atau sales.bsbiotech@gmail.com
3. Media massa majalah INFOVET dan POULTRY
4. Pertemuan berkala yang dilakukan *Technical Sales Representative* (TSR) dengan pengguna

KESIMPULAN

Atas dasar hasil pengkajian tentang informasi jasad renik PRG, keamanan lingkungan, komunikasi risiko lingkungan, serta rencana pengelolaan dan pemantauan *Himmvac Dalguban BN plus Oil Vaccine* disimpulkan hal-hal berikut :

1. Vaksin *Himmvac Dalguban BN plus Oil Vaccine* bersifat aman terhadap lingkungan karena tidak berisiko menyebarkan jasad renik ke lingkungan. Hal ini karena jasad renik PRG di dalam vaksin *Himmvac Dalguban BN plus Oil Vaccine* merupakan virus yang telah dimatikan sehingga tidak menyebar ke lingkungan.
2. Berdasarkan kajian stabilitas genotipe dan fenotipe jasad renik PRG dalam vaksin *Himmvac Dalguban BN plus Oil Vaccine* dinyatakan stabil.

3. TTKH PRG Bidang Keamanan Lingkungan menilai bahwa vaksin *Himmmvac Dalguban BN plus Oil Vaccine* yang diajukan adalah aman terhadap lingkungan.
4. Apabila kemudian ditemukan data dan informasi baru yang tidak sesuai dengan data keamanan lingkungan yang diperoleh hingga saat ini, maka status aman lingkungan terhadap vaksin *Himmmvac Dalguban BN plus Oil Vaccine* perlu dikaji ulang.
5. Apabila setelah ditetapkan aman lingkungan, kemudian produk tersebut terbukti menimbulkan risiko terhadap kesehatan manusia dan hewan maka pemohon wajib melakukan tindakan pengendalian dan penanggulangan serta memusnahkan vaksin *Himmmvac Dalguban BN plus Oil Vaccine* yang berada di wilayah teritori Indonesia.
6. Vaksin *Himmmvac Dalguban BN plus Oil Vaccine* tidak boleh digunakan sebagai vaksin ayam sebelum memperoleh ijin aman lingkungan.

PUSTAKA

1. Adi AAAM, Astawa NM, Putra KSA, Hayashi Y, Matsumoto Y. (2010) Isolation and characterization of a pathogenic Newcastle disease from a natural case in Indonesia. *J. Vet. Med. Sci.* 72(3): 313-319.
2. Alexander DJ, Senne DA. 2003. Newcastle disease, other avian paramyxoviruses, and pneumovirus infections. In: Saif YM (ed) *Disease of Poultry*, 7th ed. Iowa State University Press. Ames, p 63-92
3. Cho SH, Kim CH. (2007) Genetic Stability of KBNP-C4152R2L Strain. *BioPOA*.
4. Cho SH, Kwon HJ, Kim TE, Kim JH, Yoo HS, Park MH, Park YH, dan Kim SJ. (2008) Characterization of a recombinant Newcastle disease virus vaccine strain. *Clin. Vacc. Immunol.* 15(10): 1572-1579.
5. Cho SH, Kim CH. (2013) Primer Sequence for Identification KBNP-C4152R2L Strain. *BioPOA*.
6. Hasil BLAST jasad renik PRG. (2014) [www. ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) [14 Februari 2014].