

Lampiran 1.

RINGKASAN PENGAJIAN KEAMANAN PAKAN CANOLA PRG *EVENT* MS11

I. PENDAHULUAN

Canola (*Brassica napus*) PRG *event* MS11 merupakan canola produk rekayasa genetik dari PT BASF Indonesia yang mempunyai sifat toleran terhadap herbisida amonium glufosinat dan mandul jantan (*male sterility*). Canola PRG *event* MS11 mengandung tiga gen sisipan yaitu *bar*, *barnase*, dan *barstar*. Gen *bar* mengode protein PAT dan memberikan sifat toleran terhadap herbisida amonium glufosinat. Gen *barnase* mengode enzim *ribonuclease* Barnase. Protein Barnase menyebabkan jantan steril (*male sterility*). Gen *barstar* mengode protein Barstar, yang merupakan penghambat protein Barnase. Ekspresi protein Barstar dalam sel tapetum menyebabkan pemulihan fertilitas, namun ekspresinya sangat lemah sehingga tidak berfungsi. Walaupun begitu protein Barstar ini dapat menghambat protein Barnase yang secara tidak disengaja terekspresi di jaringan selain di anther. Canola PRG *event* MS11 akan digunakan untuk produksi benih hibrida Canola PRG *stack event* MS11xRF3 dan tidak dikomersialkan sebagai produk tunggal. Gen *bar*, *barnase*, dan *barstar* yang diekspresikan di tanaman Canola telah dikaji keamanan pakannya pada Canola PRG *event* MS8, RF3, dan *stack event* MS8xRF3. Canola PRG *event* MS8 dan RF3 telah terbit sertifikat aman pakannya pada tahun 2021, sedangkan Canola PRG *stack event* MS8xRF3 sudah direkomendasikan aman pakan oleh TTKH PRG Bidang Keamanan Pakan untuk proses selanjutnya.

Canola PRG *event* MS11 telah memperoleh sertifikat aman pangan di 9 (sembilan) negara yaitu Amerika Serikat, Australia, dan Selandia Baru (2017); Kanada dan Taiwan (2018); Filipina, Jepang, dan Korea (2019); serta **Indonesia** (2021).

Sertifikat aman pakan telah diperoleh di 8 (delapan) negara yaitu Amerika Serikat, Australia, dan Selandia Baru (2017); Kanada dan Taiwan (2018); serta Filipina, Jepang, dan Korea (2019).

Sertifikat aman lingkungan telah diperoleh di 3 (tiga) negara yaitu Amerika Serikat (2017) serta Kanada dan Australia (2018).

Berdasarkan Peraturan Menteri Pertanian No. 36/Permentan/LB.070/8/2016 tentang Pengkajian Keamanan Pakan PRG dan Keputusan Kepala Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian No.466.2/Kpts/OT.210/H/11/2016 tentang Pedoman Teknis Tata Cara dan Mekanisme Pengkajian Keamanan Pakan PRG, TTKH PRG Bidang Keamanan Pakan telah melakukan pengkajian keamanan pakan Canola PRG *event* MS11 berdasarkan informasi genetik dan informasi keamanan pakan sebagaimana diuraikan berikut ini.

II. INFORMASI GENETIK

II.1 Elemen Genetik

Hasil analisis *Southern blot* (Peeters, 2017) menunjukkan adanya sisipan tunggal T-DNA lengkap yang mengandung kaset gen *bar*, *barnase*, dan *barstar*. Ketiga gen sisipan tersebut sebagai berikut:

1. Gen *bar* dengan promotor PssuAt dan terminator 3'g7 mengode protein PAT dan memberikan sifat toleran terhadap herbisida amonium glufosinat. Gen *bar* dikendalikan oleh promotor tanaman PssuAt yang bersifat aktif di semua jaringan hijau tanaman.
2. Gen *barnase* dengan promotor Pta29 dan terminator 3'nos mengode enzim *ribonuclease* Barnase. Protein Barnase menyebabkan jantan steril (*male sterility*). Promotor Pta29 menyebabkan ekspresi gen terbatas hanya di sel tapetum selama perkembangan antera sehingga tidak menghasilkan serbuk sari yang viabel (jantan steril).
3. Gen *barstar* dengan promotor Pnos dan terminator 3'g7 mengode protein Barstar, yang merupakan penghambat protein Barnase. Ekspresi protein Barstar dalam sel tapetum menyebabkan pemulihan fertilitas.

II.2. Sumber Gen

Menurut Peeters (2015) sumber gen sisipan Canola PRG *event* MS11, yaitu:

1. Gen *bar* diisolasi dari bakteri *Streptomyces hygroscopicus*.
2. Promotor PssuAt berasal dari *Arabidopsis thaliana*.
3. Terminator 3'g7 berasal dari *Agrobacterium tumefaciens*.
4. Gen *barnase* diisolasi dari *Bacillus amyloliquefaciens*.
5. Promotor Pta29 berasal dari *Nicotiana tabacum*.
6. Gen *barstar* diisolasi dari *B. amyloliquefaciens*.
7. Promotor Pnos berasal dari *A. tumefaciens*.
8. Terminator 3'nos berasal dari *A. tumefaciens*.

II.3 Sistem Transformasi

Canola PRG *event* MS11 dirakit menggunakan plasmid pTCO113 melalui metode transformasi yang dimediasi *A. tumefaciens* dengan eksplan hipokotil canola varietas N90-740. Plasmid pTCO113 mengandung 3 kaset gen yaitu *bar*, *barnase*, dan *barstar*. Kalus yang ditransformasi diseleksi pada media yang disuplementasi dengan amonium glufosinat. Setelah induksi embriogenesis somatik dan regenerasi ke planlet, kemudian planlet tersebut ditransfer ke rumah kaca untuk pembungaan, pengaturan benih, dan karakterisasi lebih lanjut (Criel, 2008).

II.4 Stabilitas Genetik

Hasil analisis *Southern blot* Canola PRG *event* MS11 menunjukkan bahwa T-DNA stabil sampai enam generasi silang balik. Canola PRG *event* MS11 mengandung masing-masing satu kopi sisipan gen *bar*, *barnase*, dan *barstar*, yang diwariskan mengikuti hukum Mendel. Selain itu, melalui analisis *Southern blot* dan PCR menunjukkan tidak terdeteksinya sekuen *backbone* dari plasmid pTCO113 (Peeters, 2017).

Berdasarkan hasil kajian informasi genetik dapat disimpulkan bahwa:

1. Canola PRG *event* MS11 mengandung satu kopi T-DNA lengkap yang berisi kaset gen *bar*, *barnase*, dan *barstar*;
2. T-DNA dalam Canola PRG *event* MS11 stabil sampai enam generasi dan diwariskan mengikuti hukum Mendel; dan
3. Canola PRG *event* MS11 tidak mengandung sekuen *backbone* dari plasmid transformasi pTCO113.

III. INFORMASI KEAMANAN PAKAN

III.1 Kesepadanan Substansial

Pengkajian kesepadanan substansial biji Canola PRG *event* MS11 dan biji canola non-PRG dilakukan berdasarkan dokumen *Study Number 14-RSBBS019 Amended MS11 Composition Analysis Report, Bayer CropScience LP* (Jeffries *et al.*, 2017). Penelitian dilakukan di *Bayer CropScience LP Seed & Trait Safety*, 407 Davis Drive Morrisville, NC 27560, USA. Laboratorium ini telah menerapkan *Good Laboratory Practices* (GLP). Penilaian komposisi kimia dilakukan sesuai dengan dokumen konsensus OECD tentang senyawa untuk varietas canola baru (OECD, 2001).

Bahan yang digunakan untuk uji kesepadanan substansial adalah biji yang diperoleh dari tanaman Canola PRG *event* MS11, canola non-PRG kontrol (varietas N90-740) dan enam varietas canola komersial non-PRG (varietas 46A65, AC Elect, AC Excel, Peace, Spectrum, dan Westar). Percobaan penanaman canola dilakukan pada tahun 2014 di 9 lokasi uji coba, yaitu 6 lokasi di Kanada (Wakaw-Saskatchewan, Gibbons-Alberta, MacGregor-Manitoba, Starbuck-Manitoba, Minto-Manitoba, dan Saskatoon-Saskatchewan) dan 3 lokasi di Amerika Serikat (Northwood-North Dakota, Jerome-Idaho, dan Ephrata-Washington). Di setiap lokasi, canola ditanam mengikuti *randomized complete block design* (RCBD). Sesuai dengan perlakuannya, sebagian tanaman canola memperoleh perlakuan herbisida amonium glufosinat.

Analisis pada sampel biji canola meliputi proksimat (kadar air, abu, karbohidrat, protein, dan lemak), serat, 9 jenis mineral (kalsium, fosfor, kalium, magnesium, natrium, besi, mangan, tembaga, dan seng), 2 jenis vitamin (vitamin E dan vitamin K), 18 jenis asam amino (alanin, arginin, asam aspartat, sistein, asam glutamat, glisin, histidin, isoleusin, leusin, lisin, metionin, fenilalanin, prolin, serin, treonin, triptofan, tirosin, dan valin), 12 jenis asam lemak (palmitat, palmitoleat, stearat, oleat, linolenat, arakidat, eikosanoat, eikosadienoat, bahenat, erukat, lignoserat, dan nervonat), dan 4 jenis zat antigizi (asam fitat, glukosinolat, tannin, dan sinapin).

Hasil analisis komposisi biji canola menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata pada komposisi proksimat, serat, asam amino, asam lemak, vitamin, dan antigizi antara Canola PRG *event* MS11 dan canola kontrol (non-PRG). Semua nilai pengamatan masuk ke dalam kisaran komposisi kimia canola pada umumnya (OECD, 2001). Berdasarkan pengkajian kesepadanan substansial dapat disimpulkan bahwa biji Canola PRG *event* MS11 sepadan dengan biji canola non-PRG (kontrol).

III.2 Toksisitas

III.2.1 Studi bioinformatika toksisitas protein PAT/bar, Barnase, dan Barstar

Analisis homologi protein PAT/bar (protein PAT yang dikode oleh gen *bar*) dilakukan terhadap basis data protein umum (NCBI, 2016 versi V2016_1006) yang mengandung 103.763.954 sekuens menggunakan program Fasta dengan nilai ambang batas *E-value* 0,1. Analisis homologi protein PAT/bar juga dilakukan terhadap basis data toksin (BCS, 2016 versi 16.1) yang berisi 49.681 sekuens dengan nilai ambang batas *E-value* 10 (Rasclé, 2016a; Capt, 2017).

Program dan nilai ambang batas *E-value* yang sama diterapkan pada analisis homologi protein Barnase dan Barstar terhadap basis data protein umum (NCBI, 2016 versi 2016.0206) yang mengandung 81.622.391 sekuens dan analisis homologi terhadap basis data toksin (BCS, 2016 versi 16.1) yang berisi 24.496 sekuens (Rasclé, 2016a; Capt, 2017; Rasclé, 2017).

Hasil analisis homologi protein PAT/bar, Barnase, dan Barstar, baik terhadap basis data protein umum maupun toksin, menunjukkan bahwa tidak ada sekuens yang relevan secara biologis. Oleh karena itu, disimpulkan bahwa protein PAT/bar, Barnase, dan Barstar tidak mempunyai potensi toksik.

III.2.2. Uji Kecernaan *In Vitro*

III.2.2.1 Kecernaan *in vitro* protein PAT/bar

Protein PAT/bar yang digunakan untuk uji kecernaan *in vitro* diproduksi dan dimurnikan dari bakteri *E. coli* karena kadarnya yang sangat kecil pada Canola PRG *event* MS11. Bahan uji mengandung protein PAT/bar dengan konsentrasi 1.244 mg PAT/bar protein/ml dan tingkat kemurnian sebesar 65,82% (Vandermarliere, 2015).

Analisis kecernaan protein PAT/bar dilakukan melalui uji simulasi cairan lambung (*Simulated Gastric Fluid/SGF*) berdasarkan *Report Number*: SA 09045 (Rasclé, 2009) dan uji simulasi cairan usus halus (*Simulated Intestine Fluid/SIF*) berdasarkan *Report Number*: SA 09046 (Rasclé, 2016b).

Uji SGF dilakukan dengan menginkubasi protein PAT/bar dalam larutan SGF yang mengandung enzim pepsin pH 1,2 pada suhu 37°C selama interval waktu 0; 0,5; 2; 5; 10; 20; 30; dan 60 menit. Hasil pencernaan protein selanjutnya dievaluasi dengan metode SDS-PAGE dan *Western blot*.

Uji SIF dilakukan dengan menginkubasi protein PAT/bar dalam larutan SIF yang mengandung enzim pankreatin pH 7,5 pada suhu 37°C selama interval waktu 0; 0,5; 2; 5; 10; 20; 30; dan 60 menit. Hasil pencernaan protein selanjutnya dievaluasi dengan metode SDS-PAGE dan *Western blot*.

Hasil pengujian kecernaan SGF dan SIF menunjukkan protein PAT/bar sangat cepat dicerna dimana >90% protein tercerna dalam waktu 0,5 menit.

Disimpulkan bahwa protein PAT/bar dapat dicerna dengan cepat di lambung maupun di usus halus.

III.2.2.2 Kecernaan *in vitro* protein Barnase

Protein Barnase yang digunakan untuk uji kecernaan *in vitro* diproduksi dan dimurnikan dari bakteri *E. coli*, karena kadarnya yang sangat kecil pada Canola PRG event MS11. Bahan uji *batch number* 1205_Barnase mengandung protein Barnase dengan konsentrasi 0,95 mg/ml dan tingkat kemurnian sebesar 100% (Wierckx, 2013).

Analisis kecernaan protein Barnase dilakukan melalui uji SGF berdasarkan *Report Number*: SA 11361 (Lautraite, 2012a) dan uji SIF berdasarkan *Report Number*: SA 11362 (Lautraite, 2012b).

Uji SGF dilakukan dengan menginkubasi protein Barnase dalam larutan SGF yang mengandung enzim pepsin pH 1,2 pada suhu 37°C selama interval waktu 0; 0,5; 1; 2; 5; 10; 20; 30; dan 60 menit. Hasil pencernaan protein selanjutnya dievaluasi dengan metode SDS-PAGE dan *Western blot*.

Uji SIF dilakukan dengan menginkubasi protein Barnase dalam larutan SIF yang mengandung enzim pankreatin pH 7,5 pada suhu 37°C selama interval waktu 0; 0,5; 2; 5; 10; 20; 30; dan 60 menit. Hasil pencernaan protein selanjutnya dievaluasi dengan metode SDS-PAGE dan *Western blot*.

Hasil pengujian kecernaan SGF menunjukkan semua protein Barnase telah tercerna di lambung dalam waktu 0,5 menit. Hasil pengujian kecernaan SIF menunjukkan protein Barnase telah tercerna dalam cairan usus halus selama 60 menit.

Disimpulkan bahwa protein Barnase dapat dicerna dengan cepat di lambung maupun di usus halus.

III.2.2.3 Kecernaan *in vitro* protein Barstar

Protein Barstar yang digunakan untuk uji kecernaan *in vitro* diproduksi dan dimurnikan dari bakteri *E. coli* karena kadarnya yang sangat kecil pada Canola PRG event MS11. Bahan uji mengandung protein Barstar dengan konsentrasi 0,58 mg/ml dan tingkat kemurnian sebesar 97% (Lautraite, 2012c).

Analisis kecernaan protein Barstar dilakukan melalui uji SGF berdasarkan *Report Number*: SA 11358 (Lautraite, 2012d) dan uji SIF berdasarkan *Report Number*: SA 11360 (Lautraite, 2012e).

Uji SGF dilakukan dengan menginkubasi protein Barstar dalam larutan SGF yang mengandung enzim pepsin pH 1,2 pada suhu 37°C selama interval waktu 0; 0,5; 1; 2; 5; 10; 20; 30; dan 60 menit. Hasil pencernaan protein selanjutnya dievaluasi dengan metode SDS-PAGE dan *Western blot*.

Uji SIF dilakukan dengan menginkubasi protein Barstar dalam larutan SIF yang mengandung enzim pankreatin pH 7,5 pada suhu 37°C selama interval waktu 0; 0,5; 2; 5; 10; 20; 30; dan 60 menit. Hasil pencernaan protein selanjutnya dievaluasi dengan metode SDS-PAGE dan *Western blot*.

Hasil pengujian pencernaan SGF menunjukkan semua protein Barstar telah tercerna di lambung dalam waktu 0,5 menit. Hasil pengujian pencernaan SIF menunjukkan >90% protein Barstar telah tercerna dalam cairan usus halus dalam waktu 10 menit.

Disimpulkan bahwa protein Barstar dapat dicerna dengan cepat di lambung maupun di usus halus.

III.2.3 Uji Toksisitas Oral Akut Protein PAT/bar, Barnase, dan Barstar

Bahan yang diuji:

- 1) protein PAT/bar (protein PAT yang diproduksi dalam *E. coli*, *Batch number* 1342_PATbar, dengan kemurnian sebesar 98%) dilarutkan dalam larutan penyangga fosfat (PBS) pH 7,3. Larutan penyangga fosfat tersebut digunakan sebagai kontrol.
- 2) protein Barnase (*Batch number* 1205_Barnase yang diproduksi pada *E. coli*, dengan kemurnian sebesar 100%). Bahan uji dalam bentuk kering beku, kemudian diformulasi menjadi suspensi dengan konsentrasi 50 mg/ml pada hari sebelum dilakukan pencekokan, dengan cara disuspensikan dalam larutan penyangga Na₂CO₃ 50 mM pH 9,6, dikocok perlahan pada suhu 5±3°C. Selanjutnya dihomogenisasi lagi dengan cara agitasi secara perlahan sebelum pencekokan. Larutan penyangga Na₂CO₃ pH 9,6 digunakan juga sebagai kontrol (Totis, 2014).
- 3) Protein Barstar diproduksi pada bakteri *E. coli* (*Batch number* 1340_Barstar dengan kemurnian 93±2%). Bahan uji dalam bentuk kering beku, kemudian diformulasi menjadi suspensi dengan konsentrasi 50 mg/ml pada hari sebelum dilakukan pencekokan, dengan cara disuspensikan dalam larutan penyangga Na₂CO₃ 50 mM pH 9,6, dikocok perlahan pada suhu 5±3°C. Selanjutnya dihomogenisasi lagi dengan cara agitasi secara perlahan sebelum pencekokan. Larutan penyangga Na₂CO₃ pH 9,6 digunakan sebagai kontrol (Totis, 2014)

Pengujian untuk protein PAT/bar dilakukan dengan menggunakan mencit strain C57BL/6J terdiri dari 20 ekor mencit jantan (bobot badan (BB) 17,4-19,6 g) dan 20 ekor mencit betina (BB 13,7-15,7 g). Semua mencit berumur sekitar 8 minggu yang berasal dari *Charles River Laboratories, Saint Germain sur l'Arbresle, France* (Blanck, 2014).

Semua mencit diaklimatisasi selama 6 hari sebelum digunakan dalam pengujian, untuk menyesuaikan pada kondisi laboratorium. Mencit dibagi menjadi dua kelompok (kelompok kontrol dan kelompok perlakuan), yang masing-masing terdiri dari 10 ekor mencit jantan dan 10 ekor mencit betina. Mencit dipelihara secara individual di dalam kandang selama aklimatisasi dan pengujian berlangsung. Kandang ditempatkan dalam ruangan dengan suhu 20–24°C dan kelembaban relatif

40–70%, dengan kondisi 12 jam gelap dan 12 jam terang. Sirkulasi udara dalam ruangan dikontrol setiap 10-12 kali per jam.

Pengujian untuk protein Barnase dan Barstar dilakukan dengan menggunakan mencit strain C57BL/6J jantan (BB 18,4–20,3 g) dan betina (BB 13,6-17,1 g) masing-masing 12 ekor pada hari pertama perlakuan, berumur sekitar 8 minggu. Mencit diperoleh dari *Charles River Laboratories, Saint Germain sur l'Arbresle, France*. Mencit mengalami aklimatisasi selama 8 hari sebelum diberi perlakuan.

Mencit pada pengujian protein Barnase dan Barstar dibagi menjadi dua kelompok yang masing-masing terdiri dari 12 ekor mencit jantan (6 ekor kelompok kontrol dan 6 ekor kelompok perlakuan), dan 12 ekor mencit betina (6 ekor kelompok kontrol dan 6 ekor kelompok perlakuan).

Pakan berupa pelet bersertifikat (*certified rodent pelleted and irradiated diet A04C-10*), yang diperoleh dari *SAFE (Scientific Animals Food and Engineering)*, Augy, Perancis dan air minum diberikan secara *ad libitum*. Sebelum dilakukan pengujian (pencekokan), semua mencit dipuasakan selama 24 jam.

Pengujian toksisitas akut protein PAT/bar, Barnase, dan Barstar sebagai dosis tunggal dilakukan dengan cara dicekok yang dilakukan pada hari pertama perlakuan, diikuti dengan periode observasi selama 14 hari. Pemberian bahan uji dan kontrol dilakukan dengan menggunakan sonde lambung.

Metoda Penelitian: kelompok 1 sebagai kontrol dicekok larutan penyangga dan kelompok 2 dicekok suspensi protein dengan dosis masing-masing 2.000 mg/kg BB. Suspensi protein diberikan dua kali (dosis 1.000 mg/kg BB) dengan selang waktu 3 jam. Volume suspensi protein maupun larutan penyangga yang diberikan adalah 20 ml/kg BB.

Pengamatan gejala klinis dilakukan setiap hari selama pengujian berlangsung. Penimbangan bobot badan dilakukan pada hari pertama sebelum pemberian bahan uji dan kemudian dilakukan setiap minggu. Penimbangan terakhir dilakukan sebelum mencit diterminasi. Konsumsi ransum dihitung setiap minggu. Pada hari terakhir pengujian (hari ke-15) semua mencit di-*eutanasia* dengan isofluran, kemudian dilakukan pembedahan (nekropsi) dan pemeriksaan anatomi makroskopis terhadap rongga perut dan rongga dada serta organ dan jaringan vital.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa: (1) selama pengujian berlangsung tidak terdapat mencit yang mati maupun sakit, (2) tidak terdapat perbedaan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol dalam hal perkembangan dan penambahan bobot badan, konsumsi pakan, dan kondisi organ dalam, dan (3) tidak ditemukan adanya tanda-tanda kelainan klinis pada mencit akibat pemberian bahan uji.

Dari hasil pengujian toksisitas akut diketahui bahwa tidak terdapat efek toksik pada mencit akibat pemberian protein PAT/bar, Barnase, dan Barstar sampai dosis 2.000 mg/kg BB.

Berdasarkan uji toksisitas untuk Canola PRG *event* MS11 melalui studi bioinformatika, uji pencernaan *in vitro*, dan toksisitas akut disimpulkan:

- a. Studi bioinformatika untuk protein PAT/bar, Barnase, dan Barstar menunjukkan tidak ada kemiripan dengan protein toksin yang sudah dikenal.
- b. Uji pencernaan *in vitro* menunjukkan protein PAT/bar, Barnase, dan Barstar dapat dicerna dengan cepat di lambung dan usus halus.
- c. Uji toksisitas akut pada mencit menggunakan protein rekombinan PAT/bar, Barnase, dan Barstar menunjukkan bahwa protein tersebut tidak bersifat toksik.

III.3. STUDI PAKAN

Telah dilakukan studi pakan yang bertujuan untuk mengevaluasi nilai nutrisi ransum yang mengandung Canola PRG *event* MS11 dibandingkan dengan ransum yang mengandung canola non-PRG (N90-740) dan canola non-PRG komersial (AC Elect) (Stafford, 2017). Studi dilakukan di *Smithers Viscient Laboratory, Carolina Research Center* dengan mengikuti standar *U.S. EPA Good Laboratory Practice regulations* (40 CFR, Part 160, 1989) dan *Standard Operation Procedure* dari *Smithers Viscient, Carolina Research Center* (SMV, CRC).

Dalam studi ini digunakan 420 ekor DOC broiler (galur Ross 708-*Gallus gallus domesticus*) jantan dan betina yang diperoleh dari *Sanderson Farms, Kinston, North Carolina, USA*. Ayam broiler dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan pakan, masing-masing kelompok terdiri dari 7 ulangan betina dan 7 ulangan jantan, dimana setiap ulangan terdiri dari 10 ekor.

Ransum penelitian mengandung masing-masing 10% Canola PRG *event* MS11, canola non-PRG, dan canola non-PRG komersial. Pada setiap kelompok ransum penelitian, dibuat 3 jenis ransum yaitu untuk periode *starter* yang diberikan pada ayam umur 1-7 hari; untuk periode *grower* yang diberikan pada ayam umur 8-21 hari; dan untuk periode *finisher* yang diberikan pada ayam umur 22-42 hari. Parameter yang diamati adalah kesehatan; kematian; penambahan bobot badan; konversi pakan; bobot karkas termasuk didalamnya berat dada, paha, kaki, dan sayap; dan lemak perut.

Hasil pengamatan menunjukkan tidak terdapat perbedaan nyata ($p > 0,05$) pada seluruh parameter yang diamati, baik pada ayam broiler yang diberi ransum mengandung Canola PRG *event* MS11 maupun ayam broiler yang diberi ransum mengandung canola non-PRG dan non-PRG komersial.

Disimpulkan bahwa ayam broiler yang diberi pakan mengandung Canola PRG *event* MS11 memiliki performa yang sama dengan ayam broiler yang diberi pakan mengandung canola non-PRG dan non-PRG komersial.

IV. KESIMPULAN

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

1. Canola PRG *event* MS11 mengandung masing-masing satu kopi gen *bar*, *barnase*, dan *barstar*; stabil sampai enam generasi; mengikuti pola pewarisan hukum Mendel; dan tidak mengandung sekuens *backbone* dari plasmid transformasi pTCO113.
2. Canola PRG *event* MS11 sepadan secara substansial dengan canola non-PRG dan tidak bersifat toksik.
3. TTKH PRG Bidang Keamanan Pakan menilai bahwa Canola PRG *event* MS11 yang diajukan adalah aman untuk dikonsumsi sebagai bahan pakan.
4. Apabila di kemudian hari ditemukan data dan informasi baru yang tidak sesuai dengan data keamanan pakan yang diperoleh hingga saat ini, status keamanan pakan Canola PRG *event* MS11 perlu dikaji ulang.
5. Apabila setelah ditetapkan aman pakan kemudian Canola PRG *event* MS11 terbukti menimbulkan dampak negatif terhadap kesehatan ternak, pemohon wajib melakukan tindakan pengendalian dan penanggulangan, serta menarik Canola PRG *event* MS11 dari peredaran.

DAFTAR PUSTAKA

- Blanck, M. 2014. *PAT/bar protein Acute toxicity by oral gavage in mice*. Lampiran 35. M-475319-01- 1. BOOK 2- Hal. 31.
- Capt, A. 2017. *PAT/bar protein: amino acid sequence homology search with known allergens and known toxins*. Study report number: TXTPS002. Bayer SAS, Crop Science Division, 355 rue Dostoïevski, CS 90153, Valbonne, 06906 Sophia Antipolis Cedex, France.
- Criel, I., 2008. *Description of the MS 11 transformation methodology*. Study Report No. M-307476-01-1. Bayer CropScience N.V., BioScience, Gent, Belgium.
- Jeffries, A.T., Dharmasri, C., Gillikin, N., and Su H. 2017. *MS11 B. napus – Composition Analysis of Field Samples Grown in Canada and the USA during 2014*. Bayer CropScience LP, 2 T.W. Alexander Drive, Research Triangle Park, NC 27709.
- Lautraite, S. 2012a. *Barnase protein: in vitro digestibility study in human simulated gastric fluid at pH 1.2*. Study Report No. SA 11361. Bayer SAS Crop Science Division, 355 rue Dostoïevski CS 90153, Valbonne 06906 Sophia Antipolis Cedex, France. Report Completed on April 25, 2012
- Lautraite, S. 2012b. *Barnase protein: in vitro digestibility study in human simulated intestinal fluid*. Study Report No. SA 11362. Bayer SAS Crop Science Division, 355 rue Dostoïevski CS 90153, Valbonne 06906 Sophia Antipolis Cedex, France. Report Completed on April 26, 2012.
- Lautraite, S. 2012c. *Certificate of analysis : Barstar protein produced in E.coli, Batch Number; MWW020911B*. No. SA 11358. Bayer CropScience N.V. - Regulatory Science - Protein and Product Characterization Technologiepark 38, 9052 Zwijnaarde – BELGIUM.
- Lautraite, S. 2012d. *Barstar protein - In vitro digestibility study in human simulated gastric fluid at pH 1.2*. Study Report No. SA 11358. Bayer SAS Crop Science

- Division, 355 rue Dostoïevski CS 90153, Valbonne 06906 Sophia Antipolis Cedex, France. Report Completed on April 25, 2012
- Lautraite, S. 2012e. *Barstar protein - In vitro digestibility study in human simulated intestinal fluid*. Study Report No. SA 11360. Bayer SAS Crop Science Division, 355 rue Dostoïevski CS 90153, Valbonne 06906 Sophia Antipolis Cedex, France. Report Completed on April 25, 2012
- OECD, 2001. *Consensus Document on Key Nutrients and Key Toxicants in Low Euristic Acid Rapeseed (Canola)*. ENV/JM/MONO(2001)13.
- Peeters, K. 2015. *Description of vector pTCO113*. Study Report BIO-2-070_VecDescript_25. Bayer CropScience N.V.-Innovation Center Seed & Trait Safety, Technologiepark 38, 9052 Ghent, Belgium.
- Peeters, K. 2017. *Detailed insert characterization and confirmation of the absence of vector backbone sequence in Brassica napus MS11*. Study Report no. 14-RSLJS018. Bayer CropScience N.V.-Innovation Center Seed & Trait Safety, Technologiepark 38, 9052 Ghent, Belgium.
- Rasclé, J. B. 2009. *PAT/bar protein: in vitro digestibility study in human simulated gastric fluid*. Study Report No. SA 09045. Bayer SAS Crop Science Division, 355 rue Dostoïevski CS 90153, Valbonne 06906 Sophia Antipolis Cedex, France. Report Completed on June 5, 2009.
- Rasclé, J. B. 2016a. *Barstar protein - Amino acid sequence homology search with known allergens and known toxins*. Study Report No. TXGWN016. Bayer SAS Crop Science Division, 355 rue Dostoïevski CS 90153, Valbonne 06906 Sophia Antipolis Cedex, France. Report Completed on June 12, 2009; amended on April 11, 2016.
- Rasclé, J. B. 2016b. *PAT/bar protein: in vitro digestibility study in human simulated intestinal fluid*. Study Report No. SA 09046. Bayer SAS Crop Science Division, 355 rue Dostoïevski CS 90153, Valbonne 06906 Sophia Antipolis Cedex, France. Report Completed on June 12, 2009; amended on June 28, 2016.
- Rasclé, J.B. 2017. *Barnase protein – amino acid sequence homology search with known allergens and known toxins*. Study report number: TXFEN016-2. Bayer SAS, Crop Science Division, 355 rue Dostoïevski, CS 90153, Valbonne, 06906 Sophia Antipolis Cedex, France.
- Stafford, J., 2017. Broiler Chicken Feeding Study with MS11 Canola. Smithers Viscient Laboratory, Carolina Research Center 2900 Quakenbush Road Snow Camp, NC 27349. Amended Final Report 2. Study number: 13798.4155.
- Totis M, 2014. *Barnase protein: Acute toxicity study by oral gavage in mice*. Study Number: SA 14025. Test Facility: Bayer S.A.S., Bayer CropScience, 355, rue Dostoïevski, CS 90153. Valbonne, 06906 Sophia Antipolis Cedex, France. Lampiran 36. M-497799-02-1. BOOK 8-Hal. 199.
- Vandermarliere, N. 2015. *Characterization of plant produced PAT/bar protein purified from MS11 Brassica napus plants (batch 1520_PATbar (MS11)) and comparability with the recombinant protein batch 1215_PATbar*. Study Report No. 5-RSLJS020. Bayer CropScience N.V. Innovation Center– Seed & Trait