



PROGRAM KREATIVITAS MAHASISWA

**REKAYASA PRODUKSI IKAN GURAME (*Osphronemus gouramy*)
DENGAN TEKNOLOGI TRANSPLANTASI SEL TESTIKULAR KE
IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) UMUR BERBEDA**

BIDANG KEGIATAN:

PKM-AI

Diusulkan oleh:

Sri Setyo Wulandari	C14080060	2008
Darmawan Setia Budi	C14063519	2006
Jasmadi	C14062978	2006

INSTITUT PERTANIAN BOGOR

BOGOR

2011



PROGRAM KREATIVITAS MAHASISWA

**REKAYASA PRODUKSI IKAN GURAME (*Osphronemus gouramy*)
DENGAN TEKNOLOGI TRANSPLANTASI SEL TESTIKULAR KE
IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) UMUR BERBEDA**

BIDANG KEGIATAN:

PKM-AI

Diusulkan oleh:

Sri Setyo Wulandari	C14080060	2008
Darmawan Setia Budi	C14063519	2006
Jasmadi	C14062978	2006

INSTITUT PERTANIAN BOGOR

BOGOR

2011

Judul Kegiatan : Rekayasa Produksi Ikan Gurame (*Osphronemus gouramy*) dengan Teknologi Transplantasi Sel Testikular ke Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Umur Berbeda

1. Bidang Kegiatan : PKM-AI PKM-GT

2. Bidang Ilmu : Kesehatan Pertanian
 MIPA Teknologi dan Rekayasa
 Sosial Ekonomi Humaniora
 Pendidikan

3. Ketua Pelaksana Kegiatan

4. Anggota Pelaksana Kegiatan/Penulis : 2 orang

5. Dosen Pendamping

Bogor, 2 Maret 2011

Menyetujui,
Ketua Departemen Budidaya Perairan

Ketua Pelaksana Kegiatan

Dr. Odang Carman
NIP. 195912221986011001

Sri Setyo Wulandari
NIM C14080060

Wakil Rektor Bidang Kemahasiswaan

Dosen Pendamping

Prof. Dr. Ir. H. Yonny Koesmaryono
NIP. 195812281985031003

Dr. Alimuddin
NIP. 19700103 199512 1 001

PERNYATAAN SUMBER PENULISAN ILMIAH PKM-AI

1. Judul yang diajukan: Rekayasa Produksi Ikan Gurame (*Osphronemus gouramy*) dengan Teknologi Transplantasi Sel Testikular ke Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Umur Berbeda

2. Sumber Penulisan

() Kegiatan praktek lapangan dan sejenisnya, KKN, Magang, Kegiatan Kewirausahaan

(X) Kegiatan Ilmiah lainnya penelitian laboratorium Pengembangbiakkan dan Genetika Organisme Akuatik dengan keterangan lengkap: Transplantasi sel testikular ikan gurame (*Osphronemus gouramy*) pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) umur berbeda

Keterangan ini kami buat dengan sebenarnya

Mengetahui,
Ketua Departemen Budidaya Perairan

Bogor, 2 Maret 2011
Ketua Pelaksana Kegiatan

Dr. Ir. Odang Carman, M.Sc.
NIP. 19591222 198601 1 001

Sri Setyo Wulandari
NIM. C14080060

**REKAYASA PRODUKSI IKAN GURAME (*Osphronemus gouramy*)
DENGAN TEKNOLOGI TRANSPLANTASI SEL TESTIKULAR KE
IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) UMUR BERBEDA**

**Sri Setyo Wulandari, Jasmadi, Darmawan Setia Budi, Departemen Budidaya
Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor**

Abstrak

Ikan gurame adalah salah satu target peningkatan produksi oleh Kementerian Kelautan dan Perikanan tahun 2010-2014. Namun produksinya terkesan lambat dikarenakan siklus reproduksinya yang relatif lama. Transplantasi sel testikular ikan gurame ke ikan nila dapat dilakukan dengan harapan induk ikan nila akan dapat melahirkan ikan gurame sehingga siklus produksi ikan gurame dapat dipercepat. Dalam penelitian ini dilakukan proses transplantasi sel testikular ikan gurame (donor) pada rongga peritoneal ikan nila (resipien) yang baru menetas. Sel testikular ikan gurame yang mengandung spermatogonia diperoleh dari disosiasi gonad ikan gurame menggunakan PBS dengan tripsin 0,5% kemudian disuntikkan ke ikan nila dengan umur yang berbeda. Hasil penelitian menunjukkan bahwa SR (survival rate) resipien yang disuntik pada umur 1-2 hari (A) lebih rendah (89,34%) dibandingkan resipien yang disuntik umur 3-4 hari (B) (98,96%). Namun tingkat keberhasilan sel donor bergabung atau berkembang di dalam gonad resipien (kolonisasi) 2 bulan setelah penyuntikan pada perlakuan A lebih tinggi (6 dari 6 resipien) (100%) dibandingkan dengan perlakuan B (3 dari 4 resipien) (75%). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ikan nila yang disuntik (dilakukan transplantasi) pada umur 1-2 hari memberikan tingkat kelangsungan hidup yang cukup baik dan kolonisasi tertinggi. Dengan demikian, teknik ini sangat berpotensi untuk rekayasa produksi gamet ikan ekonomis penting yang relatif sukar bereproduksi (komersial) dan memproduksi kembali ikan-ikan yang terancam punah (konservasi).

Kata kunci: *transplantasi; ikan gurame; sel testikular; ikan nila; kolonisasi*

Abstract

Giant gouramy is one of the targeted farmed species to increase its production level in the Indonesian Ministry of Maritime Affairs and Fisheries Program 2010-2014. Its production seemed slow because of the relatively long reproductive cycle. Transplantation of giant gouramy testicular cells to tilapia can be done in the hope that the surrogate broodstock (tilapia) will be able to give birth giant gouramy so the production cycle can be accelerated. In this research, transplantation of giant gouramy testicular cell (donor) in the peritoneal cavity of newly hatched tilapia (recipient) was performed. Giant gouramy testicular cells that contain spermatogonial cells obtained by dissociation of the gonad using PBS with 0.5% trypsin and then injected into tilapia with different ages. The

results showed that SR (survival rate) of 1-2 days old injected larvae (A; 89.34%) were lower compared to that of 3-4 days old (B; 98.96%). Furthermore, the success rate of donor cells colonization in the recipient gonad at 2 months after injection in treatment A (6 of 6 recipients; 100%) was higher than that of treatment B (3 of 4 recipients; 75%). The results of this study indicated that transplantation using 1-2 days old larvae gave highest colonization and comparable level of SR. Thus, this technique has the potential both to manipulate gamet production of economically important fish species that relatively difficult to reproduction (commercial) and reproduce the endangered fish (as conservation).

Keywords: *transplantation; giant gouramy; testicular cells; tilapia; colonization*

PENDAHULUAN

Ikan gurame (*Osphronemus gouramy*) adalah salah satu dari beberapa ikan target KKP yang tingkat produksinya diharapkan mengalami peningkatan dari tahun ke tahun. Berdasarkan KKP (2010) produksi ikan gurame pada saat ini adalah sekitar 40.300 ton lebih tinggi dibandingkan dengan produksi pada tahun sebelumnya yaitu tahun 2009 produksi ikan gurame sekitar 38.500 ton. Kemudian pada tahun 2014 KKP menargetkan nilai produksi ikan gurame Indonesia mencapai 48.900 ton atau meningkat sekitar 21,34% dari produksi pada tahun 2010. Hal ini tentu menjadi tantangan sekaligus tugas pokok bagi lembaga riset maupun pelaksana teknis untuk mewujudkan visi tersebut dengan berbagai upaya ilmiah yang dimiliki oleh instansi terkait, termasuk di dalamnya adalah peran dari perguruan tinggi terkait. Namun ikan gurame yang menjadi target peningkatan produksi oleh KKP tersebut memiliki siklus reproduksi yang relatif lebih lama jika dibandingkan dengan jenis ikan konsumsi lain, misalnya pada ikan nila yang hanya memerlukan waktu 4-5 bulan untuk mencapai tingkat matang gonad pertama kali. Baik ikan gurame jantan maupun betina waktu yang diperlukan untuk mencapai tingkat matang gonad pertama kali relatif lama yaitu sekitar 30-36 bulan atau sekitar 3 tahun (BSN, 2000), sehingga diperlukan upaya ekstra dan waktu yang cukup lama untuk memproduksi ikan gurame dalam mencapai jumlah seperti yang telah ditargetkan. Oleh karena itu diperlukan sistem dan teknologi budidaya yang memadai maupun upaya lain yang mampu menunjang produksi ikan gurame dalam waktu yang relatif cepat dan efisien. Adapun upaya lain tersebut adalah melalui teknologi yang sedang dikembangkan pada saat ini di bidang akuakultur yaitu teknologi transplantasi sel germinal (TSG).

Teknologi ini dilakukan untuk merekayasa teknik produksi individu baru dengan memanfaatkan induk pengganti (*surrogate broodstock*). Keberhasilan dari teknologi TSG ini sudah dibuktikan oleh Takeuchi *et al.* (2003) dengan mentransplantasikan PGC (*primordial germ cell*) yang belum terdiferensiasi dari ikan *rainbow trout* (donor) ke rongga peritoneal larva ikan salmon masu (resipien) yang selanjutnya ikan salmon masu mampu memproduksi sperma dan telur fungsional ikan *rainbow trout*. Jika sperma dan telur difertilisasikan, maka dapat diproduksi larva ikan *rainbow trout*. Selanjutnya Okutsu *et al.* (2006) melakukan

transplantasi menggunakan *testikular germ cell* yang mengandung spermatogonia, dan Yoshizaki *et al.* (2010) dengan memanfaatkan oogonia ikan donor.

TUJUAN

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk menguji keberhasilan transplantasi pada resipien ikan nila dengan kisaran umur yang berbeda dalam rangka memperoleh ikan nila transplan yang membawa sel testikular gurame (donor) dengan melihat tingkat kolonisasi sel donor pada ikan resipien.

METODE

Waktu dan Tempat Pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 15 Maret 2010 sampai dengan 4 Agustus 2010 yang bertempat di Laboratorium Pengembangbiakan dan Genetika Organisme Akuatik, Departemen Budidaya Perairan, Institut Pertanian Bogor.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *micromanipulator*, mikroskop, sentrifuse, satu set alat bedah, cawan petri, akuarium berdimensi 60x50x50 cm³, mangkuk, saringan inkubasi larva, timbangan, satu set aerator, hemasitometer, pipet mikro, PCR (*polymerase chain reaction*) dan bak elektroforesis. Sedangkan bahan yang digunakan adalah ikan gurame jantan ukuran 600-900 g, induk dan larva ikan nila, PBS (*Phosphate Buffer Saline*), *methylene blue*, gonad ikan gurame jantan, larutan fisiologis (NaCl 0,9%), pellet dengan kandungan protein 35-40%, bahan ekstraksi DNA (Gentra, Minneapolis-USA).

Pelaksanaan Kegiatan

Sumber dan Pemeliharaan Induk Ikan Nila

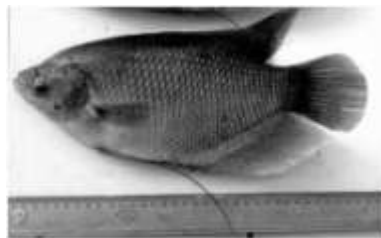
Induk ikan nila yang digunakan dalam penelitian ini adalah strain nila BEST (*Bogor Enhanced Strain Tilapia*) yang diperoleh dari Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar, Bogor. Bobot induk ikan nila yang digunakan adalah 350-500 g dengan fekunditas 800-1500 butir telur/ekor.

Induk ikan nila dipelihara dalam akuarium berdimensi 60x50x50 cm³ dan berisi air sebanyak $\frac{3}{4}$ bagian dari volume total akuarium. Aerasi ditempatkan dan diatur pada setiap akuarium sebagai suplai oksigen utama untuk kebutuhan ikan. Setiap akuarium diisi satu induk ikan untuk mencegah terjadinya kontak fisik antar ikan yang dapat mengakibatkan kerusakan fisik ikan itu sendiri dan untuk

memudahkan dalam pemijahan. Pakan berupa pellet dengan kandungan protein 35-40% diberikan selama masa pemeliharaan 3-5 kali pada setiap harinya, hal ini bertujuan agar nutrisi induk terpenuhi dengan baik serta untuk menjaga kualitas telur dan spermanya. Air disifon setiap hari dan dilakukan pergantian air setiap tiga hari untuk membantu dalam menjaga dan memperbaiki kualitas air.

Sumber dan Pemeliharaan Ikan Gurame

Ikan gurame jantan dengan bobot 600-900 g/ekor (Gambar 1) diperoleh dari seorang pengumpul yang ada di wilayah Kayumanis, Bogor, Jawa Barat. Ikan gurame jantan dapat dibedakan dengan melihat ciri-ciri morfologinya, yaitu pada ikan jantan pangkal sirip dada berwarna putih bening dan kepala bagian atas relatif lebih menonjol “nongnong”, sedangkan pada ikan gurame betina pada pangkat sirip dada berwarna gelap dan kepala bagian atas tidak menonjol seperti halnya ikan jantan.

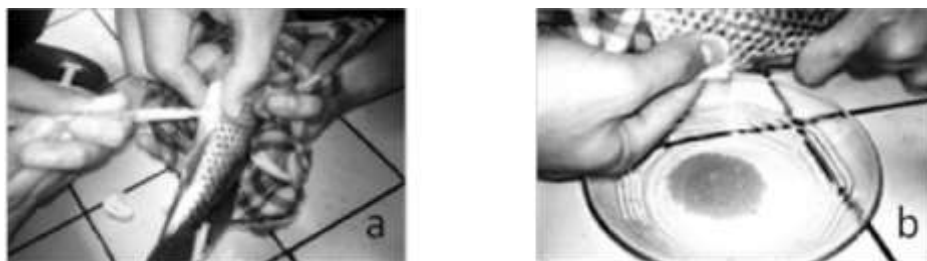


Gambar 1. Ikan gurame jantan ukuran 600-900 g

Sebelum diambil gonadnya untuk transplantasi ikan gurame dipelihara di hapa ukuran 3x1,5x1 m³ pada kolam pemeliharaan. Pakan berupa daun sente diberikan setiap hari selama masa pemeliharaan berlangsung.

Persiapan Resipien untuk Transplantasi

Induk ikan nila dipijahkan secara alami dengan perbandingan jantan dan betina 1:1. Setelah induk betina mengeluarkan telur 1-2 kali, maka kedua induk ikan diambil dan disimpan dalam wadah terpisah. Telur dan sperma dikeluarkan dengan cara mengurut bagian perut (*stripping*) (Gambar 2a dan 2b) ke arah urogenital. Telur ditampung dalam mangkuk, sedangkan sperma dikumpulkan menggunakan spuit ukuran 1 ml. Untuk menjaga kualitas telur sebelum dilakukan pembuahan buatan maka diberikan larutan fisiologis (NaCl 0,9%).



Gambar 2. a) Stripping sperma ikan nila (resipien) untuk pembuahan buatan. b) Stripping telur ikan nila

Telur sebanyak 150 butir dicampurkan dengan sperma sebanyak 0,15-0,2 ml ke dalam cawan petri dan ditambahkan larutan fisiologis (NaCl 0,9%), kemudian dihomogenkan atau diaduk menggunakan bulu ayam untuk mencampur telur dan

sperma. Air ditambahkan ke dalam cawan petri berisi sperma dan telur, dan waktu pencampuran tersebut dihitung sebagai waktu pembuahan. Setelah dibiarkan selama 3 menit, sisa-sisa sperma dibuang atau dipisahkan dari telur dan selanjutnya telur diinkubasi dalam akuarium untuk proses penetasan.

Inkubasi dilakukan dalam saringan yang sudah ditempatkan pada akuarium inkubasi. Aerasi diatur sedemikian rupa sehingga telur selalu bergerak dalam rangka menghindari telur saling menempel dan suplai oksigen dapat merata pada setiap telur. Untuk mencegah serangan jamur, ke dalam media inkubasi ditambahkan *methylene blue* 0,2 ppm. Selama masa inkubasi telur, juga dilakukan pemisahan telur yang mati. Larva hasil penetasan tersebut dipelihara dalam wadah yang sama sampai dilakukan proses transplantasi (mikroinjeksi).

Persiapan dan Pelaksanaan Transplantasi

Transplantasi diawali dengan penyiapan sel gonad ikan donor (ikan gurame jantan) melalui proses disosiasi. Dalam proses disosiasi ikan donor dibedah untuk diambil gonadnya, kemudian gonad dibersihkan dari lemak dan jaringan lain yang menempel, untuk menjaga gonad agar tidak kering dan rusak sebelum dilakukan disosiasi maka ditambahkan PBS (*Phosphate Buffer Saline*) dan dimasukkan ke dalam cawan petri.

Gonad dipotong-potong menjadi ukuran sekitar 5 mm di dalam cawan petri dan dicacah selama 3-5 menit. Sebanyak 1-2 ml PBS yang mengandung tripsin 0,5% ditambahkan pada cacahan testis, lalu dicacah kembali 3-5 menit sampai keruh dan untuk membantu proses disosiasi sel dari jaringannya, maka cacahan tersebut dipipet-teteskan menggunakan mikropipet sampai berbuih membentuk suspensi sel. Suspensi sel tersebut disaring dengan saringan 60 μm dan dimasukkan ke dalam *microtube*, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit sampai sel mengendap. Supernatan dibuang dan diganti dengan PBS sebanyak 200-400 μl untuk menjaga sel agar tidak rusak dan memutus kerja dari tripsin. Suspensi sel dihomogenasi menggunakan vortex. Setelah itu sel diambil beberapa mikroliter untuk dihitung kepadatannya menggunakan hemasitometer. Kepadatan sel diatur menjadi 20.000 sel/0,5 μl atau 40.000 sel/ μl PBS sesuai dengan kebutuhan untuk transplantasi.

Setting Mikroinjektor dan Transplantasi

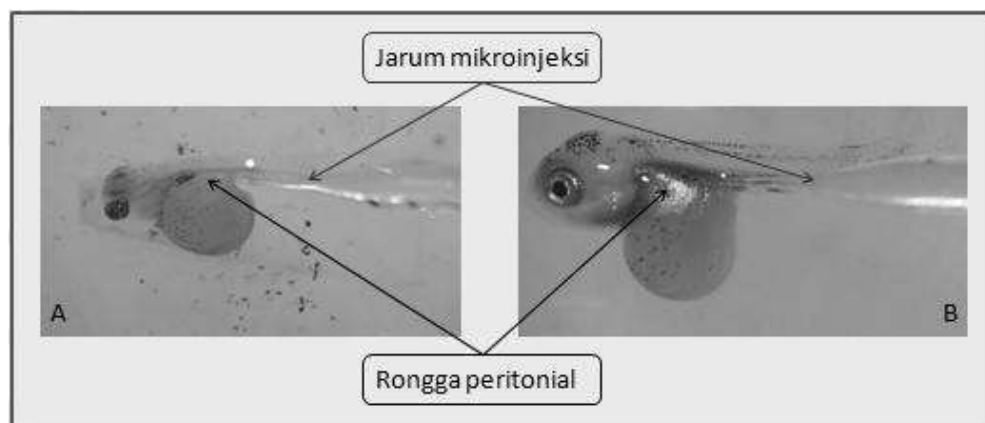
Jarum mikroinjeksi dipasang pada *needle holder*, dan diisi dengan minyak mineral yang terdapat pada alat *micromanipulator* yang terpasang dengan mikroskop “Stemi DV4, Zeiss” (Gambar 3). Setelah jarum mikroinjeksi terisi penuh dengan minyak mineral, sel testikular hasil disosiasi diambil menggunakan mikropipet sebanyak 0,5 μl dan dikeluarkan di atas parafilm.

Needle holder yang terhubung dengan jarum mikroinjeksi dilepaskan dari *micromanipulator*, kemudian sel yang terdapat di parafilm dimasukkan ke dalam jarum mikroinjeksi dengan cara disedot langsung dengan jarum mikroinjeksi yang telah terhubung dengan alat *micromanipulator*. Pada proses pemasukan sel ke dalam jarum mikroinjeksi tidak boleh terdapat gelembung udara di dalamnya karena hal ini akan mengganggu proses penyuntikan pada larva, bahkan jika gelembung udara masuk ke dalam larva pada saat penyuntikan dapat menyebabkan kematian pada larva. Setelah itu *needle holder* dipasang kembali pada *micromanipulator* dan siap untuk menyuntik larva.



Gambar 3. Peralatan yang digunakan untuk mikroinjeksi

Larva umur 1-2 hari disiapkan pada tatakan agar dalam kondisi miring, kepala sebelah kiri dan ekor di sebelah kanan. Ujung jarum mikroinjeksi yang telah terisi sel testikular (sel donor) diatur posisinya agar mengarah ke rongga peritoneal larva (Gambar 4). Hal yang sama juga dilakukan dengan larva ikan nila umur 3-4 hari setelah penetasan. Larva hasil penyuntikan dipelihara sampai umur sekitar 2 bulan di dalam akuarium $60 \times 50 \times 50 \text{ cm}^3$. Ikan hasil penyuntikan diberikan pakan berupa cacing sutra selama 2 minggu secara *at satiation*, setelah itu selama pemeliharaan diberi pakan pellet F999 protein 38% secara *at satiation*. Air disifon satu kali dalam sehari dan diganti 80% setiap 3 hari. Kelangsungan hidup (SR) larva juga diamati sampai hari ke-7 setelah penyuntikan untuk mengetahui tingkat ketahanan larva terhadap penyuntikan.



Gambar 4. Posisi resipien saat mikroinjeksi. A) resipien yang disuntik saat berumur 1-2 hari setelah menetas; B) resipien yang disuntik saat umur 3-4 hari setelah menetas.

Analisis PCR

Untuk konfirmasi keberhasilan dari penyuntikan (mikroinjeksi sel testikular donor pada resipien), maka ikan diambil secara acak dari populasi. DNA diekstraksi dari ikan resipien umur satu hari menggunakan kit isolasi DNA (Gentra, Minneapolis-USA) dengan prosedur seperti dalam manual. Setelah itu diperoleh DNA campuran (resipien dan donor) yang dapat disimpan pada suhu -20°C atau langsung dilakukan proses selanjutnya yaitu PCR. Analisa kemurnian DNA hasil ekstraksi dapat dilakukan dengan menggunakan *GeneQuant*. Sedangkan tingkat kolonisasi sel donor pada gonad resipien dapat diketahui dengan analisa PCR pada gonad ikan resipien 2 bulan setelah penyuntikan.

PCR dilakukan menggunakan primer GH (*growth hormone*) ikan gurame, yaitu F1GH (5'-TGTTCTCTGACGGCGTGGTT-3') dan R1GH (5'-GCAACAAAAACCAACAGAAAGAG-3') dengan program seperti dijelaskan oleh Achmad (2009), yaitu menggunakan suhu *annealing* 58⁰ C selama 30 detik dan suhu ekstensi 72⁰ C selama 45 detik sebanyak 45 siklus. PCR untuk kontrol internal *loading* DNA dilakukan menggunakan primer tiβ-aktin (F: 5'-GTGCCCATCTACGAGGGTTA-3' R : 5'-TTTGATGTCACGCACGATTT-3') Elektroforesis dilakukan menggunakan gel agarosa 1% dan visualisasi DNA menggunakan sinar UV.

Parameter yang Diamati

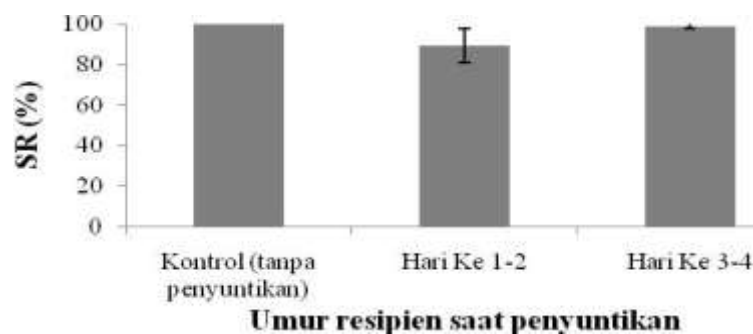
Tingkat kelangsungan atau *Survival Rate* (SR) hidup resipien 7 hari setelah penyuntikan dilakukan dengan formula:

$$SR = \frac{\text{jumlah resipien akhir}}{\text{jumlah resipien yang disuntik}} \times 100\%$$

Dan tingkat kolonisasi sel donor pada resipien menggunakan analisis PCR.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tingkat kelangsungan hidup resipien 7 hari setelah penyuntikan menunjukkan kecenderungan peningkatan seiring dengan semakin meningkatnya umur resipien pada saat penyuntikan dilakukan (Gambar 5). Resipien yang disuntik pada umur 1-2 hari setelah menetas memiliki tingkat kelangsungan hidup yang lebih rendah (89,34%) dibandingkan dengan resipien umur 3-4 hari setelah menetas (98,96%) dan kontrol (100%).

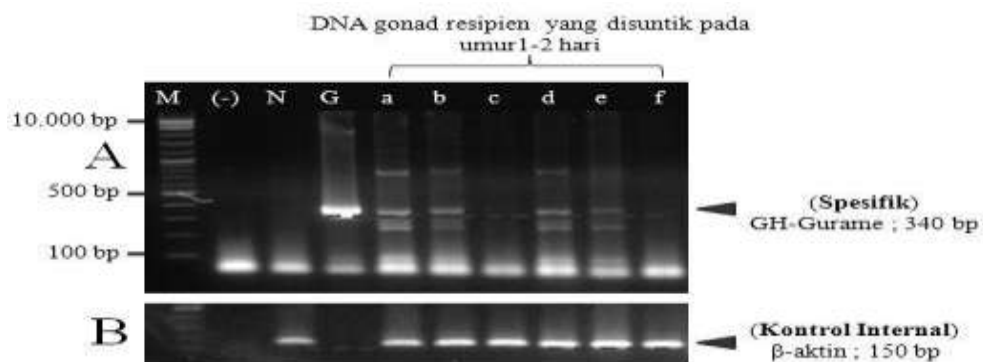


Gambar 5. *Survival rate* (SR) larva hingga 7 hari setelah penyuntikan. Hari 3-4, resipien yang disuntik saat berumur 3-4 hari setelah menetas; hari 1-2, resipien yang disuntik saat berumur 1-2 hari setelah menetas.

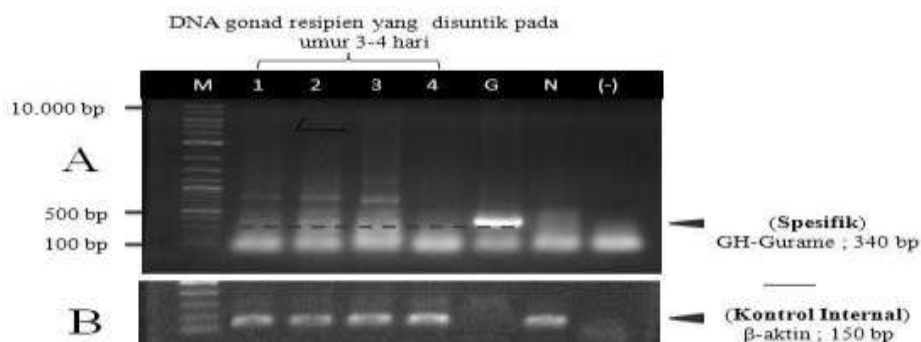
Terlihat bahwa tingkat kelangsungan hidup larva (*Survival Rate*) paling tinggi adalah kontrol, kemudian diikuti dengan perlakuan penyuntikan pada larva umur 3-4 hari (98,96%) dan paling rendah adalah perlakuan penyuntikan pada larva umur 1-2 hari (89,34%) (Gambar 5). Diduga umur larva yang masih muda memiliki daya tahan tubuh lemah dan rentan terhadap gangguan fisik dari luar yang dalam hal ini adalah teknis penyuntikan. Karena teknis penyuntikan ini

beresiko mengenai organ lain yang dapat menyebabkan kerusakan organ sehingga larva mudah mati ketika selesai disuntik. Hal ini sesuai dengan Takeuchi *et al.* (2009) yang menyatakan bahwa resipien yang lebih kecil memiliki tingkat kelangsungan hidup yang lebih kecil juga, hal ini diperlihatkan dengan menurunnya SR larva dari 63,3% (pada resipien ikan nibe larva ukuran 6 mm) menjadi 2,9% (pada resipien 3 mm).

Tampak 6 (a-f) dari 6 sampel ikan nila resipien (disuntik pada umur 1-2 hari setelah menetas) yang diperiksa gonadnya melalui PCR memperlihatkan adanya pita DNA penyandi spesifik GH-gurame (Gambar 6) yang sejajar dengan (G) pita DNA gurame sebagai kontrol positif, hal ini menunjukkan bahwa semua sampel (100%) yang diperiksa membawa sel donor (sel testikular dari gonad ikan gurame) yang berarti sel donor mampu berkolonisasi di dalam gonad ikan resipien. Berbeda dengan hasil PCR terhadap resipien yang disuntik pada umur 1-2 hari setelah menetas, hasil deteksi terhadap larva resipien yang disuntik pada umur 3-4 hari (Gambar 7) menunjukkan adanya resipien yang tidak membawa sel donor (sampel ke-4) dalam gonadnya yang berarti sel donor gagal berkembang dan terkolonisasi di dalam gonad resipien.



Gambar 6. A) Analisis PCR DNA sampel resipien (yang disuntik pada umur 1-2 hari setelah menetas) 2 bulan setelah penyuntikan menggunakan marka molekular spesifik GH-Gurame. M, marker; (-), kontrol negatif bahan PCR, N, DNA ikan nila; G, DNA ikan gurame; a-f, DNA sampel resipien yang berumur 2 bulan setelah penyuntikan. B) PCR menggunakan primer Ti β-aktin sebagai kontrol internal.



Gambar 7. A) Analisis PCR DNA sampel resipien (yang disuntik pada umur 3-4 hari setelah menetas) 2 bulan setelah penyuntikan menggunakan marka

molekular spesifik GH-Gurame. M, marker; 1-4, DNA sampel resipien yang berumur 2 bulan setelah penyuntikan; G, DNA ikan gurame; N, DNA ikan nila; (-), kontrol negatif bahan PCR. B) PCR menggunakan primer Ti β -aktin sebagai kontrol internal.

Berdasarkan deteksi sel gonad resipien dengan menggunakan teknik PCR tersebut dapat dikatakan bahwa keberhasilan kolonisasi dengan melakukan penyuntikan terhadap resipien yang berumur 1-2 hari setelah menetas dalam TSG ini adalah 100% (Gambar 6). Keberhasilan ini diduga oleh karena *rejection immune system* resipien belum berkembang dengan sempurna sehingga resipien masih mampu menerima sel donor dari luar yang dimasukkan ke dalam rongga peritonealnya. Pada beberapa spesies ikan yang baru menetas sistem imun masih relatif belum berkembang baik (Manning *et al.*, 1996) sehingga sel donor masih dapat berkembang di dalam tubuh resipien. Selain itu Nakanishi (1985) menyatakan bahwa beberapa ikan dapat melakukan *allograft rejection* (penolakan transplantasi jaringan atau organ dari individu lain yang sama spesies oleh sistem imun) setelah umur tertentu, misalnya pada ikan mas umur 16 hari setelah menetas pada suhu 20-22⁰C, *Xiphophorus maculatus* 23 hari setelah fertilisasi pada suhu 20⁰C, dan pada *rainbow trout* 14 hari setelah menetas pada suhu 14⁰C.

Berbeda dengan hasil PCR terhadap resipien yang disuntik pada umur 1-2 hari setelah menetas, hasil deteksi terhadap larva resipien yang disuntik pada umur 3-4 hari (Gambar 7) menunjukkan adanya resipien yang tidak membawa sel donor (sampel ke-4) dalam gonadnya yang berarti sel donor gagal berkembang dan terkolonisasi di dalam gonad resipien. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa keberhasilan kolonisasi hanya mencapai 75% dari 4 sampel yang diperiksa gonadnya. Hal ini diduga bahwa umur resipien memiliki pengaruh penting dalam memberikan lingkungan di dalam peritoneal (*micro-environment*) yang mampu mengarahkan migrasi sel donor ke *genital ridge*-nya sehingga sel donor dapat terkolonisasi. Hilangnya kondisi lingkungan di dalam *peritoneal cavity* resipien ikan *rainbow trout* yang mampu mengarahkan PGC donor hasil transplantasi bermigrasi ke *genital ridge*-nya ketika resipien berumur antara 40 dan 45 dpf (Takeuchi *et al.* (2003). Kemudian hal ini juga sesuai dengan Takeuchi *et al.* (2009) bahwa tingkat kolonisasi sel donor pada resipien (ikan nibe croaker (*Nibea mitsukurii*)) 3 minggu setelah penyuntikan mengalami kenaikan seiring dengan menurunnya ukuran resipien yang digunakan, resipien ukuran 6 mm (tidak ada kolonisasi), 5 mm (7,3 \pm 3,6%), 4 mm (36,3 \pm 12,1%) dan 3 mm (50%).

KESIMPULAN

Transplantasi sel testikular ikan gurame pada larva ikan nila umur 1-4 hari telah berhasil dilakukan. Hasil transplantasi pada larva yang disuntik umur 1-2 hari lebih baik dibandingkan larva umur 3-4 hari.

DAFTAR PUSTAKA

- [BSN], 2000. Induk ikan gurame *Osphronemus gouramy*, Lac. kelas induk pokok (*parent stock*). SNI-01-6485.1-2000.
- Achmad, M., 2009. Pengembangan marka molekuler DNA dalam identifikasi sel gonad ikan gurame *Osphronemus gouramy* dan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) menggunakan PCR. [tesis]. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor
- KKP., 2010. Rencana strategis Kementerian Perikanan dan Kelautan 2010-2014. Kementerian Kelautan dan Perikanan, Jakarta.
- Manning, M.J., Nakanishi, T., 1996. The specific immune system: cellular defences. In: Iwama G, Nakanishi T (eds.), The fish immune system. New York: Academic Press; 1996:159–205.
- Nakanishi, T., 1985. Ontogenetic development of the immune respon in the marine teleost *Sebasticus marmoratus*. Bulletin of Japanese Sci Fisheries 53(3), 473-477.
- Okutsu, T., Suzuki, K., Takeuchi, Y., Takeuchi, T., Yoshizaki, G., 2006. Testikular germ cells can colonize sexually undifferentiated embryonic gonad and produce functional egg in fish. Proc Natl Acad Sci USA 103, 2725-2729.
- Takeuchi, Y., Higuchi, K., Yatabe, T., Miwa, M., Yoshizaki, G., 2009. Development of spermatogonia cell transplantation in nibe croaker *Nibe mitsukurii* (Perciformes, Sciaenidae). Biology of Reproduction 81, 1055-1063.
- Takeuchi, Y., Yoshizaki, G., Takeuchi, T., 2003. Generation of live fry from intraperitoneally transplantation primordial germ cells in rainbow trout. Biology of Reproduction 6, 1142-1149.
- Yoshizaki, G., Okutsu, T., Ichikawa, M., Hayashi, M., Takeuchi, Y., 2010. Sexual plasticity of rainbow trout germ cells. Animal Reproduction 7, 187-196.

Daftar Riwayat Hidup

Ketua pelaksana

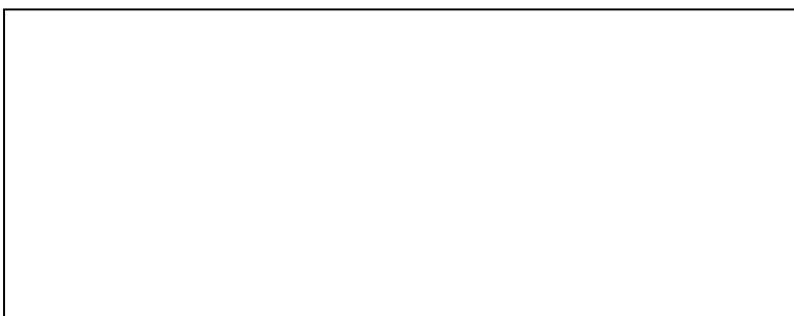


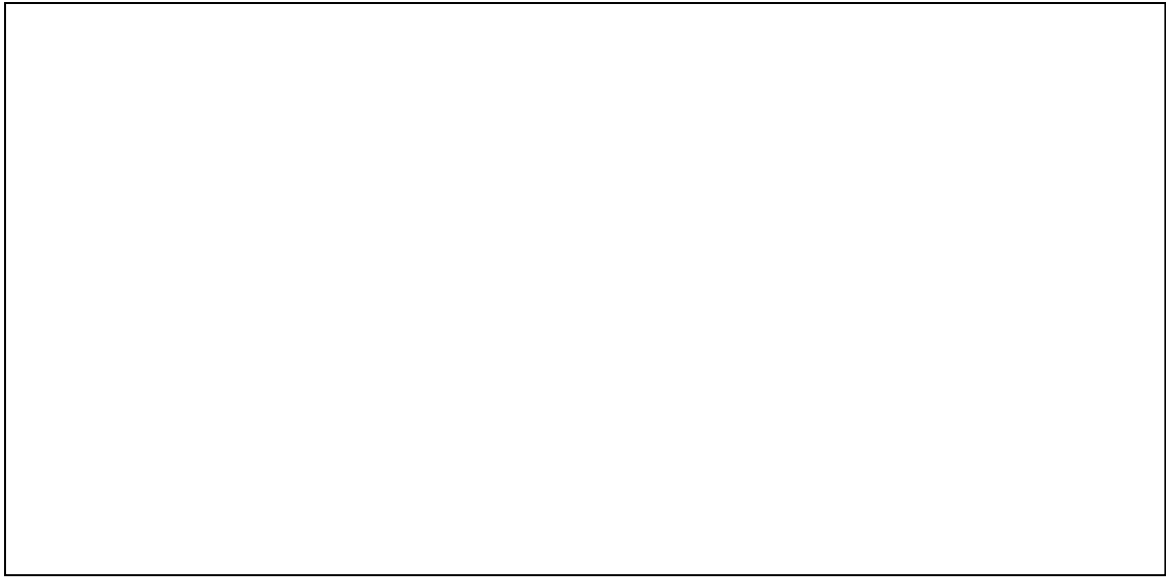
Sri Setyo Wulandari
NIM. C14080060



Anggota

Darmawan Setia Budi
NIM. C14063519

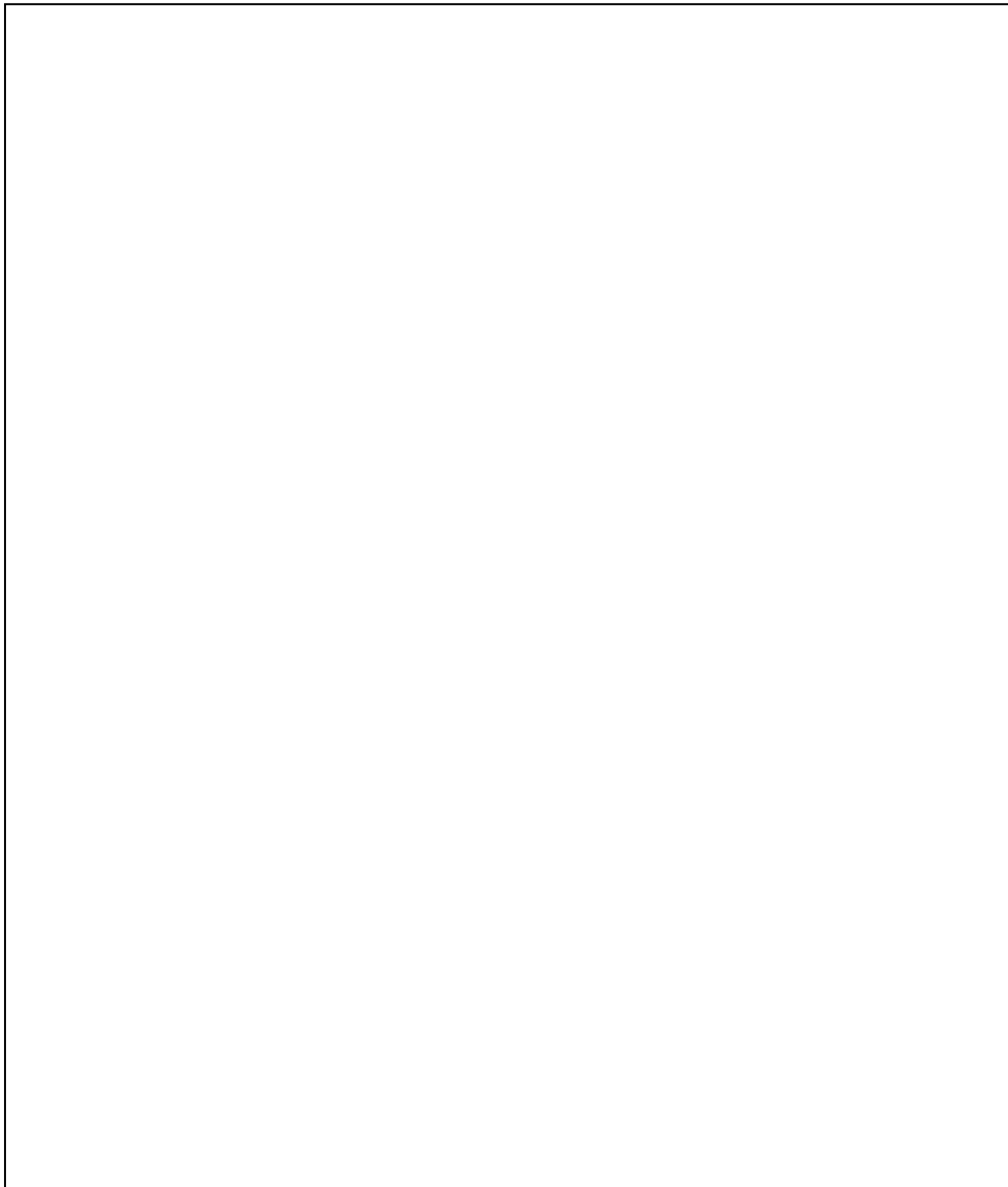


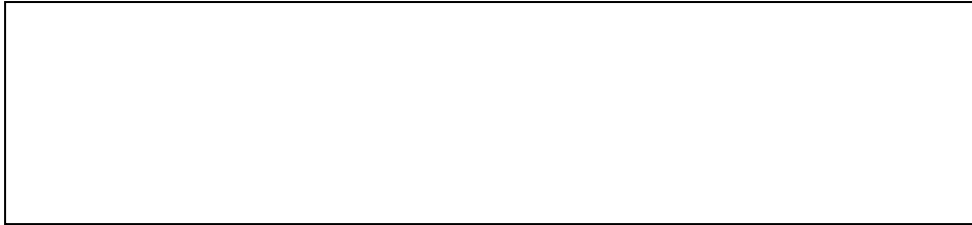


Anggota

Jasmadi
NIM.C14062978

Daftar Riwayat Hidup Pembimbing





Dosen Pendamping,

Dr.Alimuddin, S.Pi, M.Sc
NIP. 19700301 199512 1 001