

Tersedia online di: <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/jra>

## TRANSMISI GEN *PhGH* DAN PERFORMA PERTUMBUHAN IKAN LELE AFRIKA (*Clarias gariepinus*) TRANSGENIK GENERASI KETIGA

Huria Marnis<sup>\*)#</sup>, Bambang Iswanto<sup>\*)</sup>, Selny Febrida<sup>\*)</sup>, Imron<sup>\*)</sup>, Raden Roro Sri Pudji Sinarni Dewi<sup>\*\*)</sup>

<sup>\*)</sup> Balai Penelitian Pemuliaan Ikan

<sup>\*\*)</sup> Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi transmisi transgen *PhGH* dan performa ikan lele Afrika transgenik generasi ketiga ( $F_3$ ) yang meliputi pertumbuhan, rasio efisiensi konversi pakan, konsentrasi hormon pertumbuhan dan hormon IGF-I. Ikan lele transgenik  $F_3$  telah diproduksi dengan menyilangkan ikan lele transgenik  $F_2$  dengan non-transgenik. Deteksi transgen (*PhGH*) dilakukan menggunakan metode PCR. Analisis hormon pertumbuhan dan hormon *insuline-like growth factor* (IGF-I) menggunakan sampel serum darah dan metode *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ikan lele transgenik  $F_3$  yang digunakan pada pengujian ini terdeteksi positif membawa transgen dengan ukuran fragmen gen sebesar 1.500 bp. Transmisi transgen dari induk  $F_2$  ke  $F_3$  berkisar 0-75%. Pertumbuhan bobot populasi ikan lele transgenik  $F_3$  lebih tinggi 51,26% dibandingkan dengan ikan lele non-transgenik ( $P < 0,05$ ). Pertumbuhan bobot populasi ikan transgenik mencapai  $484 \pm 60,3$  g, sedangkan pertumbuhan bobot ikan non-transgenik  $319,98 \pm 65,3$  g. Nilai rasio konversi pakan ikan lele transgenik  $F_3$  sebesar 0,89 sedangkan non-transgenik 1,30. Hal ini menunjukkan bahwa efisiensi pakan ikan lele transgenik  $F_3$  lebih tinggi dibandingkan dengan ikan non-transgenik ( $P < 0,05$ ). Ikan lele transgenik mempunyai konsentrasi hormon pertumbuhan ( $5,67 \pm 2,65$  ng/mL) yang lebih tinggi ( $P < 0,05$ ) jika dibandingkan dengan ikan lele non-transgenik ( $3,00 \pm 1,41$  ng/mL). Ikan lele transgenik juga memiliki kandungan hormon IGF-I ( $6,63 \pm 0,11$  ng/mL) lebih tinggi ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan ikan lele non-transgenik ( $5,38 \pm 0,63$  ng/mL). Tingginya konsentrasi hormon pertumbuhan dan hormon IGF-I dapat mewakili performa pertumbuhan dan efisiensi penggunaan pakan pada ikan lele transgenik.

**KATA KUNCI:** transmisi transgen, performa pertumbuhan, transgenik, hormon pertumbuhan, *Clarias gariepinus*

**ABSTRACT:** *PhGh gene transmission and performance of  $F_3$  transgenic African catfish (Clarias gariepinus). By: Huria Marnis, Bambang Iswanto, Selny Febrida, Imron, and Raden Roro Sri Pudji Sinarni Dewi*

The aim of this study was to determine the transmission of a transgene (*PhGH*) and to evaluate the performance of  $F_3$  transgenic African catfish, such as body weight, feed conversion ratio (FCR), growth hormone and IGF-I hormone profile.  $F_3$  transgenic were produced by mating  $F_2$  transgenic with non-transgenic fish. Detection of transgene was performed using PCR method. Analysis of the growth hormone and the insulin-like growth factor-I (IGF-I) hormone were conducted by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) method using serum samples. The results showed that the transgenic catfish  $F_3$  was positive carrying the transgene 1.500 bp. Transgene transmission from  $F_2$  to  $F_3$  ranged zero to 75%. The performance of  $F_3$  transgenic African catfish was significantly better 51.26% than that the non-transgenic ( $P < 0.05$ ). The body weight of transgenic population ( $484 \pm 255.25$  g) was higher than that non-transgenic ( $319.98 \pm 165.27$  g). FCR of transgenic fish (0.89) was lower than that non-transgenic (1.30). The growth hormone level of transgenic ( $5.67 \pm 2.65$  ng/mL) was higher than that non-transgenic ( $3.00 \pm 1.41$  ng/mL), IGF-I hormone level of  $F_3$  transgenic ( $6.63 \pm 0.11$  ng/mL) was also higher than that non-transgenic ( $5.38 \pm 0.63$  ng/mL). High level of growth hormone and IGF-I hormone represented both growth performance and efficiency of feed utilization of transgenic African catfish.

**KEYWORDS:** transgene transmission, growth performance, transgenic, growth hormone, *Clarias gariepinus*

# Korespondensi: Balai Penelitian Pemuliaan Ikan.  
Jl. Raya 2 Pantura Sukamandi, Patokbeusi, Subang 41263,  
Jawa Barat, Indonesia. Tel. + (0260) 520500  
E-mail: [marnis.huria@gmail.com](mailto:marnis.huria@gmail.com)

## PENDAHULUAN

Peningkatan performa pertumbuhan merupakan salah satu faktor penting dalam keberhasilan usaha budidaya perikanan. Pertumbuhan yang lambat akan menyebabkan rendahnya produktivitas perikanan budidaya karena lamanya waktu pemeliharaan dan besarnya biaya produksi budidaya yang harus dikeluarkan. Lamanya waktu pemeliharaan juga akan meningkatkan risiko pemeliharaan ikan seperti penyakit dan tingginya konsumsi pakan. Metode perbaikan performa yang umum dilakukan untuk meningkatkan pertumbuhan ikan adalah metode seleksi, hibridisasi, dan triploidisasi. Namun, metode-metode tersebut memerlukan waktu yang lebih lama dan fasilitas budidaya yang lebih banyak untuk mendapatkan kualitas performa ikan sesuai yang diinginkan. Metode seleksi membutuhkan waktu sekitar 13-18 tahun dan membutuhkan fasilitas budidaya yang banyak (Kirpichnicov, 1999).

Saat ini, kontribusi genetika molekuler memainkan peran dalam bidang budidaya ikan melalui penerapan metode transgenik. Metode transgenik dapat memperbaiki karakter pertumbuhan cepat pada ikan salmon (Devlin *et al.*, 2004), ikan mas (DeLiang *et al.*, 2007) dan ikan ayu (*Plecoglossus altivelis*) (Cheng *et al.*, 2002).

Pertumbuhan yang cepat pada ikan transgenik berkorelasi dengan perbaikan konversi pakan (FCR) (Zhong *et al.*, 2002) dan hormon pertumbuhan serta hormon *insulin-like growth factor* (IGF-I) (Raven *et al.*, 2008). Selain itu hormon pertumbuhan dapat meningkatkan perilaku makan, peningkatan aktivitas berenang, dan asupan makanan pada ikan transgenik (Abrahams & Sutterlin 1999; Devlin *et al.*, 2000; Ken Overturf, 2009). Metode transgenesis untuk perbaikan performa pertumbuhan ikan lele telah dilakukan di Balai Penelitian pemuliaan Ikan, Sukamandi.

Pada penelitian sebelumnya telah dihasilkan populasi ikan lele transgenik *founder* (F0) dengan menggunakan metode elektroporasi sperma (Dewi, 2010). Hasil penelitian menunjukkan bahwa sebanyak 56 ekor ikan lele transgenik F0 membawa gen *PhGH* pada sirip ekor dan pertumbuhan ikan lele transgenik F0 dua kali lebih besar dibandingkan kontrol (non-transgenik) (Dewi, 2010) dilanjutkan dengan pembentukan populasi F1 ikan lele transgenik dengan mengawinkan masing-masing 9 ekor ikan lele transgenik betina dikawinkan dengan ikan lele non-transgenik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sebanyak 65 ekor induk betina transgenik F1 positif membawa transgen di sirip ekor, hanya 18 ekor (27,69%) induk betina yang positif membawa transgen di telur. Sedangkan pada induk jantan hanya 19 ekor

(46,34%) yang positif membawa transgen di sperma, dari 41 ekor yang positif membawa transgen di sirip. Transmisi transgen dari F0 ke F1 berkisar 8%-48% dengan rata-rata transmisi sebesar 38,22% dengan total sampel yang di cek adalah sebanyak 225 ekor. Pertumbuhan ikan lele transgenik F1 dua kali lebih besar dibandingkan kontrol (non-transgenik) (Marnis *et al.*, 2013). Selanjutnya, dilakukan pembentukan populasi ikan lele transgenik F2 dengan mengawinkan masing-masing 6 pasang sesama ikan lele transgenik F2. Hasil penelitian menunjukkan bahwa transmisi transgen pada ikan lele dari F1 ke F2 dari 6 pasang induk berkisar 8,11%-50% dengan rata-rata transmisi transgen adalah 18,85%. Transmisi transgen pada ikan lele dari F1 ke F2 hampir sama jika dibandingkan dengan transmisi transgen pada ikan lele F0 ke F1 (Marnis *et al.*, 2014a). Pertumbuhan ikan lele transgenik F2 dua kali lebih besar dibandingkan ikan lele kontrol (non-transgenik) (Marnis *et al.*, 2015).

Diharapkan generasi F<sub>2</sub> dapat mentransmisikan transgen dan mewariskan karakter tumbuh cepat pada generasi F<sub>3</sub>. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi transmisi transgen dan performa ikan lele transgenik F<sub>3</sub> yang meliputi pertumbuhan, efisiensi konversi pakan, konsentrasi hormon pertumbuhan dan hormon IGF-I.

## BAHAN DAN METODE

### Ikan Uji

Ikan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah ikan lele transgenik F<sub>3</sub> yang membawa konstruksi gen *pCcBA-PhGH* (Dewi, 2010). Sebanyak 56 pasang ikan lele transgenik F<sub>2</sub> disilangkan dengan ikan lele non-transgenik secara buatan sehingga menghasilkan keturunan ikan transgenik F<sub>3</sub>. Semua induk yang dipijahkan diberi penanda menggunakan *microchip*.

### Deteksi Transgen pada Ikan Lele Transgenik F<sub>3</sub>

#### Penyiapan genom DNA

Pada penelitian ekstraksi genom DNA dilakukan dari 1120 sirip ekor ikan lele transgenik F3. Genom DNA diekstraksi menggunakan kit *GeneJet Genomic DNA Purification* (Thermo Scientific) sesuai protokol yang ada pada kit. Protokol tersebut meliputi tahapan lisis sel, presipitasi DNA, pengikatan DNA pada *column*, pencucian dan elusi DNA. Secara singkat, sirip ekor sebanyak 10 mg dimasukkan ke dalam *microcentrifuge tube* 1,5 mL dan ditambahkan 180  $\mu$ L *digestion solution* dan 20  $\mu$ L proteinase-K. Sampel diinkubasi pada suhu 56°C selama 3 jam. RNase ditambahkan sebanyak 20  $\mu$ L dalam larutan, selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 15 menit. Sampel kemudian ditambahkan 200  $\mu$ L *lysis solution* dan dihomogenisasi dengan

vortex selama 15 detik. Sebanyak 400  $\mu\text{L}$  etanol 50% ditambahkan kedalam sampel, selanjutnya sampel dipindahkan ke dalam *column*, disentrifugasi dengan kecepatan 6.000 x *g* selama 1 menit. DNA yang mengikat pada *column* dicuci sebanyak dua kali dengan 500  $\mu\text{L}$  larutan *wash buffer* dan disentrifugasi pada 8.000 x *g* selama 3 menit (pencucian pertama) dan 12.000 x *g* selama 3 menit untuk pencucian kedua. DNA dilarutkan dengan menambahkan 200  $\mu\text{L}$  *elution buffer*, dan disentrifugasi 8.000 x *g* selama 1 menit. Kualitas dan kuantitas genom DNA yang diperoleh dicek dengan menggunakan gel agarose 1,5% dan alat Qubit 2,0 fluorometri (*invitrogen*) dengan metode fluorometrik.

### Amplifikasi gen *PhGH* pada Ikan Lele Transgenik $F_3$ .

Deteksi transgen dilakukan pada DNA genom hasil ekstraksi dengan PCR menggunakan kit *Maxima Hot Start Green PCR* master (*Thermo Scientific*) dan diamplifikasi dengan PCR *mycycler* (*Biorad*). Komposisi bahan yang digunakan untuk proses PCR adalah 12,5  $\mu\text{L}$  master kit PCR, 1  $\mu\text{L}$  primer (10 pmol/ $\mu\text{L}$ ), 2  $\mu\text{L}$  DNA genom dan ditambahkan *water free RNase* hingga mencapai total volume 25  $\mu\text{L}$ . Primer yang digunakan adalah ACT-107 F (5'- GTGTGT GAC GCT GGA CCA ATC -3') dan *phGH2* R (5'- CGATAA GCA CGC CGA TGC CCA TTT-3') dengan ukuran fragmen 1.500 bp (Hidayani, 2009; Dewi, 2010). Proses PCR dilakukan dengan denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, penempelan primer pada suhu 60°C selama 30 detik dan pemanjangan pada suhu 72°C selama 1 menit, sebanyak 35 siklus. Hasil PCR dipisahkan dengan menggunakan elektroforesis pada gel agarose (*vivantis*) 2,0% dalam larutan TAE 1 x selama 60 menit pada tegangan 60 volt. Sebanyak 4  $\mu\text{L}$  volume ampikon dimigrasikan pada gel elektroforesis. DNA diberi pewarna gelred (*biotium*) 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , dan divisualisasi menggunakan transilluminator UV.

### Pertumbuhan dan Nilai Rasio Konversi Pakan (FCR) Ikan Lele Transgenik $F_3$ .

Pengujian performa pertumbuhan dan rasio konversi pakan ikan dilakukan pada ikan lele transgenik satu keturunan dan sebagai pembanding digunakan ikan non-transgenik dengan umur yang sama. Ukuran ikan yang digunakan mempunyai bobot rata-rata  $0,75 \pm 0,03$  g untuk ikan transgenik dan  $0,77 \pm 0,04$  g untuk ikan non-transgenik. Masing-masing sebanyak 25 ekor ikan transgenik dan non-transgenik dipelihara secara individu pada toples, dimana toples diisi dengan air sebanyak 10 L/per toles. Ikan dipelihara di toples tersebut selama tiga bulan dengan kondisi pemeliharaan yang sama. Total volume air yang

digunakan dengan perbandingan 10 liter untuk 100 gram bobot ikan, selama pemeliharaan air diaerasi. Pemberian pakan dilakukan sebanyak dua kali sehari (pukul 08:00 dan 16:00) secara satiasi menggunakan pakan komersial dengan kandungan protein 30%. Pengukuran bobot tubuh dilakukan setiap 10 hari selama tiga bulan pemeliharaan. Pada akhir pemeliharaan dilakukan perhitungan pertumbuhan dan nilai rasio konversi pakan (FCR) = [(jumlah total pakan yang dikonsumsi): (biomassa akhir-biomassa awal)] (NRC, 1977).

### Pengukuran Kadar Hormon Pertumbuhan dan *Insulin-Like Growth Factor I* (IGF-I)

Pengukuran kadar hormon pertumbuhan dan hormon IGF-I dilakukan dengan menggunakan masing-masing 20 ekor ikan lele transgenik dan ikan lele non-transgenik sebagai pembanding. Kedua kelompok ikan yang digunakan merupakan ikan hasil pemeliharaan selama 3 bulan pada uji performa pertumbuhan dan nilai FCR. Semua sampel pada analisa ini diuji secara duplo. Selanjutnya, dilakukan pengambilan darah sebanyak 1 mL dengan menggunakan 26-gauge *needle syringe* secara *puncting caudal vessel*. Tahap berikutnya darah disentrifugasi dengan kecepatan 5.000 rpm selama 3 menit dengan menggunakan alat *microcentrifuge* (*Thermo Scientific*). Bagian supernatan berupa serum darah digunakan sebagai sampel untuk pengukuran kadar hormon pertumbuhan dan hormon IGF-I pada ikan lele dengan menggunakan metode ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*). Pengukuran tingkat hormon pertumbuhan dengan menggunakan kit *Fish Growth hormone GH ELISA Kit* (USCN LIFE, WUHAN EIAAB SCIENCE CO.,LTD) dan untuk pengukuran tingkat hormon IGF-I menggunakan kit IGF-I (DRG diagnostic, USA), sesuai dengan petunjuk penggunaan. Pembacaan masing-masing sampel dilakukan pada OD  $450 \pm 10$  nm.

### Analisis Data

Pada penelitian ini analisis data menggunakan analisis deskriptif dan statistik kuantitatif. Data deteksi transgen pada ikan lele transgenik  $F_3$  dianalisis secara deskriptif, sedangkan perbedaan signifikan antara ikan transgenik dan non-transgenik untuk parameter performa pertumbuhan, (FCR), kadar hormon pertumbuhan dan IGF-I menggunakan analisis statistik regresi dengan SPSS versi 16 dengan selang kepercayaan 95%. Analisis regresi dilakukan untuk melihat hubungan konsentrasi hormon pertumbuhan dengan hormon IGF-I, hubungan hormon pertumbuhan dengan Pertumbuhan ikan dan hubungan hormon IGF-I dengan pertumbuhan ikan

## HASIL DAN BAHASAN

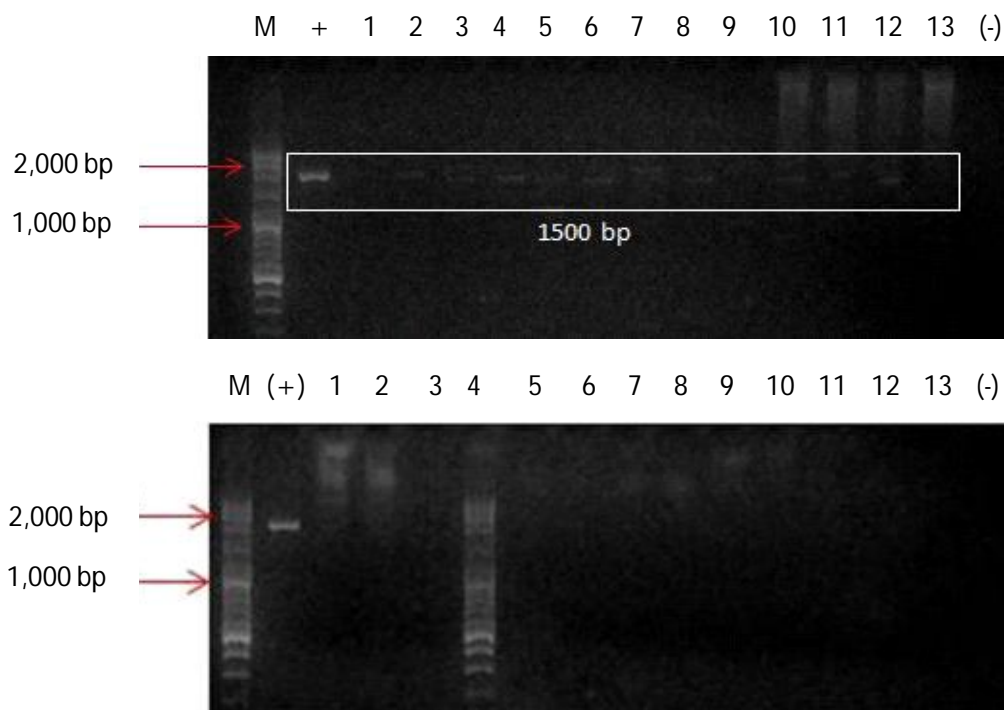
### Deteksi Transgen pada Ikan Lele Transgenik F<sub>3</sub>

Hasil deteksi transgen menunjukkan bahwa sampel ikan lele (*C. gariepinus*) transgenik F<sub>3</sub> yang digunakan pada pengujian ini terdeteksi positif membawa transgen dengan ukuran fragmen gen sebesar 1.500 bp dan sampel ikan non-transgenik (kontrol) tidak terdeteksi transgen (Gambar 1).

Transmisi transgen dari induk F<sub>2</sub> ke F<sub>3</sub> berkisar 0%-75% dengan rata-rata total transmisi sebesar 9,4% dari 56 pasang induk yang dianalisis. Pada induk betina menghasilkan transmisi berkisar 0-30% dengan rata-rata transmisi sebesar 2,8%; yang positif membawa transgen hanya 4 ekor, dan sisanya sebanyak 26 ekor negatif dari 30 ekor yang diuji. Pada induk jantan berkisar 0-75% rata-rata transmisi sebesar 17,1; yang positif membawa transgen 12 ekor, dan sisanya 14

ekor negatif dari 26 ekor yang dideteksi (Tabel 1). Tingginya transmisi transgen pada induk jantan dibandingkan pada induk betina, diduga pengaruh dari awal pembentukan ikan transgenik menggunakan metode elektroporasi sperma, tetapi perlu kajian lebih lanjut.

Transmisi transgen dari induk F<sub>2</sub> ke F<sub>3</sub> (9,4%) ini lebih rendah jika dibandingkan transmisi transgen dari F<sub>1</sub> ke F<sub>2</sub> sebesar 18,85% (Marnis *et al.*, 2014a) dan transmisi *founder* F<sub>0</sub> ke F<sub>1</sub> sebesar 38,22% (Marnis *et al.*, 2014b). Transmisi transgen dari generasi ke generasi semakin menurun. Hal ini mengindikasikan bahwa transgen tidak terintegrasi pada kromosom, melainkan sebagian transgen berada pada ekstra kromosom. Menurut Lin *et al.* (1994), transgen dapat terintegrasi pada sel somatik dan sel germinal, tetapi transgen yang terintegrasi pada sel germinal akan dapat ditransmisikan pada generasi berikutnya.



Gambar 1. Deteksi transgen *PhGH* ikan lele Afrika F<sub>3</sub> (*C. gariepinus*) transgenik dan ikan lele non-transgenik dengan menggunakan metode PCR. (A) Nomor 1-13 = sampel ikan lele transgenik; (B) Nomor 1-13 = sampel ikan lele non-transgenik. M adalah marker DNA (100-3.000 bp, Vivantis); tanda (+) adalah kontrol positif *pCcBA-PhGH*; tanda (-) adalah kontrol negatif, ukuran fragmen gen transgen 1.500 bp

Figure 1. Detection of transgene in transgenic African catfish F<sub>3</sub> (*C. gariepinus*) and non-transgenic African catfish used PCR method. (A) Lane 1-13 = Sample of transgenic African catfish. (B) Lane 1-13 = Sample of non-transgenic. M indicates a DNA marker (100-3,000 bp; Vivantis). (+) positive control (*pCcBA-PhGH*). (-) negative control. The expected size of the amplified fragment of transgene is 1.500 bp

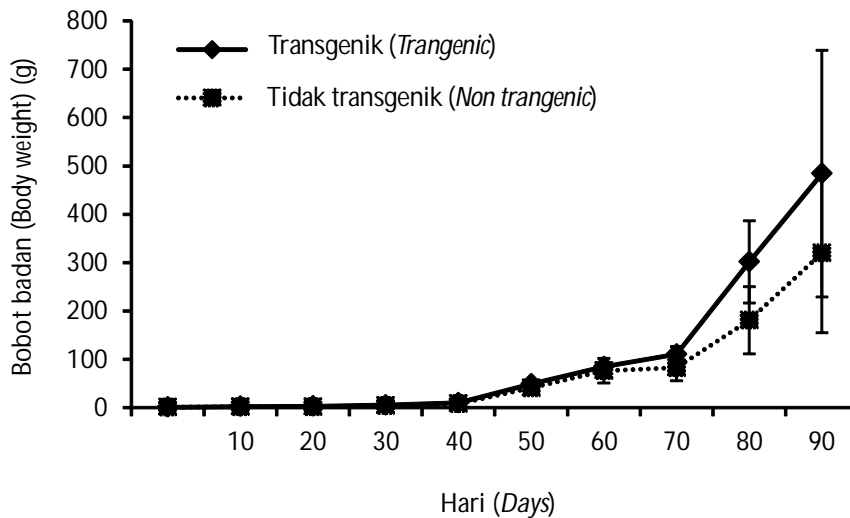
Table 1. Transmisi transgen *PhGH* pada ikan lele Afrika transgenik F<sub>3</sub>.  
 Table 1. Transmission of transgene in transgenic African catfish F<sub>3</sub>.

Kode tagging induk betina F-2 <i>Tang code of female broodsctock F-2</i>	Transmisi transgen <i>Transmission of transgene (%)</i>	Kode tagging induk jantan F-2 <i>Tang code of male broodsctock F-2</i>	Transmisi transgen <i>Transmission of transgene (%)</i>
4460	0 (0/20)	4837	0 (0/20)
1120	0 (0/20)	4469	0 (0/20)
4761	0 (0/20)	4479	0 (0/20)
1231	0 (0/20)	1164	0 (0/20)
1139	0 (0/20)	1146	0 (0/20)
1172	0 (0/20)	4458	20 (4/20)
4854	0 (0/20)	4859	40 (8/20)
4461	0 (0/20)	4817	40 (8/20)
4825	0 (0/20)	1159	20 (4/20)
1204	0 (0/20)	4458	20 (4/20)
4770	30 (6/20)	4859	40 (8/20)
4774	0 (0/20)	4466	0 (0/20)
1851	0 (0/20)	1847	0 (0/20)
1157	0 (0/20)	1235	20 (4/20)
4463	5 (1/20)	4803	0 (0/20)
4839	25 (5/20)	1740	0 (0/20)
4834	0 (0/20)	1221	40 (8/20)
1202	0 (0/20)	1752	0 (0/20)
1231	0 (0/20)	4468	0 (0/20)
4854	0 (0/20)	4450	30 (6/20)
1210	0 (0/20)	4457	0 (0/20)
1152	0 (0/20)	4450	0 (0/20)
4749	15 (3/20)	4444	30 (6/20)
4763	0 (0/20)	4468	0 (0/20)
1857	0 (0/20)	1725	75 (15/20)
4759	0 (0/20)	1159	20 (4/20)
4462	0 (0/20)		
1154	0 (0/20)		
1219	0 (0/20)		
1250	0 (0/20)		
Rata-rata <i>Average</i>	2.8 (17/600)		17.1 (89/520)
Rata-rata total <i>Total of average</i>			9.4 (106/1120)

**Performa Pertumbuhan Ikan Lele Transgenik F<sub>3</sub>**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pertumbuhan bobot populasi ikan lele transgenik F<sub>3</sub> lebih tinggi 51,26% dibandingkan dengan ikan lele non-transgenik (P<0,05). Bobot populasi ikan transgenik mencapai 484±60,3 g, sedangkan bobot ikan non-transgenik sebesar 319,98±65,3 g (Gambar 2). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa gen hormon pertumbuhan

ikan patin siam yang diintroduksi pada ikan lele dapat mempercepat metabolisme sehingga meningkatkan pertumbuhan ikan lele. Hasil penelitian yang sama juga dilaporkan oleh DeLiang *et al.* (2007) bahwa pada ikan mas transgenik terjadi peningkatan pertumbuhan mencapai 1,4-1,9 kali lebih cepat dibandingkan dengan non-transgenik. Pada ikan *Labeo rohita* transgenik, pertumbuhannya 4,5-5,8 kali lipat lebih cepat dibandingkan non-transgenik (Thayanithy



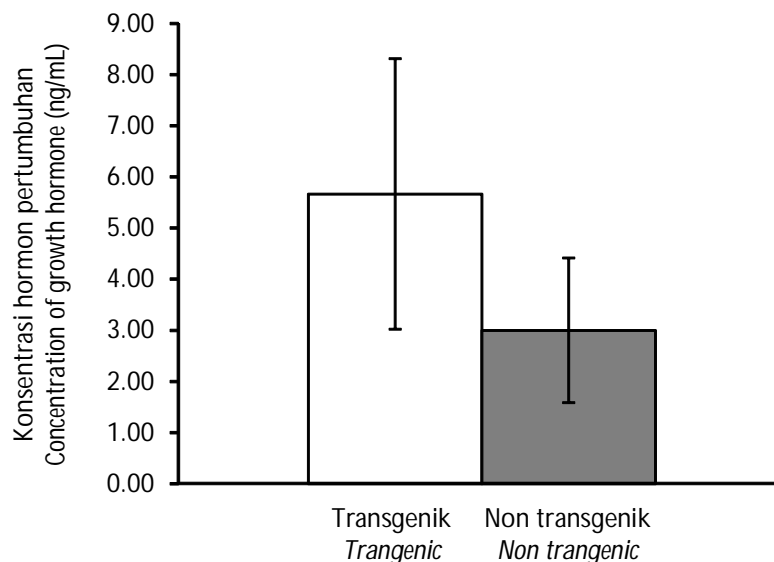
Gambar 2. Pertumbuhan ikan lele Afrika transgenik  $F_3$  yang membawa yang membawa konstruksi gen pCcBA-PhGH (bar merupakan standar deviasi untuk 25 ekor ikan ( $n=25$ ))

Figure 2 Growth of African catfish transgeni  $F_3$  containing pCcBA-PhGH gene constructed. Vertical bars represent standard deviation for 25 fCopyright @ 2016, Jurnal Riset Akuakultur (JRA), p-ISSN 1907-6754, e-ISSN 2502-6534ishes ( $n=25$ )

et al., 2004). Pertumbuhan yang cepat 2-3 kali lipat terjadi pada ikan salmon transgenik (Devlin et al., 2004).

Hasil penelitian ini lebih rendah dari  $F_2$  yang memiliki pertumbuhan 75% dibandingkan kontrol (Marnis et al., 2014a) dan performa pertumbuhan  $F_1$  sebesar 53% lebih tinggi dibanding kontrol (Marnis et

al., 2013). Performa pertumbuhan ikan lele transgenik tiap generasi cenderung menurun dibandingkan dengan generasi sebelumnya. Penurunan performa ikan lele transgenik tiap generasi diduga diakibatkan oleh penurunan transmisi transgen. Hasil penelitian ini berbeda dengan yang dilaporkan oleh Devlin et al. (2004), ukuran tubuh pada ikan transgenik tidak selalu



Gambar 3. Analisis kuantitatif hormon pertumbuhan (GH) pada serum ikan lele Afrika transgenik dan non-transgenik. Bar merupakan strandar deviasi ( $n=20$  ekor ikan) secara duplo

Figure 3. Quantitative analysis of growth hormone (GH) in serum of transgenic African catfish. Vertical bar represented standard deviation ( $n=20$  fishes) in duplicate sample

berkorelasi positif dengan jumlah transgen dan transmisi transgen.

**Rasio konversi pakan ikan lele transgenik F<sub>3</sub>**

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa nilai rasio konversi pakan ikan lele transgenik F<sub>3</sub> sebesar 0,89 sedangkan non-transgenik 1,30. Hal ini menunjukkan bahwa efisiensi pakan ikan lele transgenik F<sub>3</sub> lebih tinggi dibandingkan dengan ikan non-transgenik (P<0,05). Hasil penelitian ini hampir sama dengan populasi ikan lele transgenik F<sub>2</sub> yang memiliki nilai rasio konversi pakan sebesar 0,86 ±0,06 (Marnis *et al.*, 2014b). Hasil penelitian yang sama juga dilaporkan pada ikan nila transgenik (Kobayashi *et al.*, 2007), dan ikan *Labeo rohita* (Thayanithy *et al.*, 2004). Efisiensi pakan ikan lele transgenik disebabkan oleh kandungan hormon GH dan IGF-I yang tinggi. Kim *et al.* (2005) melaporkan bahwa hormon IGF-I erat kaitannya dengan efisiensi pakan.

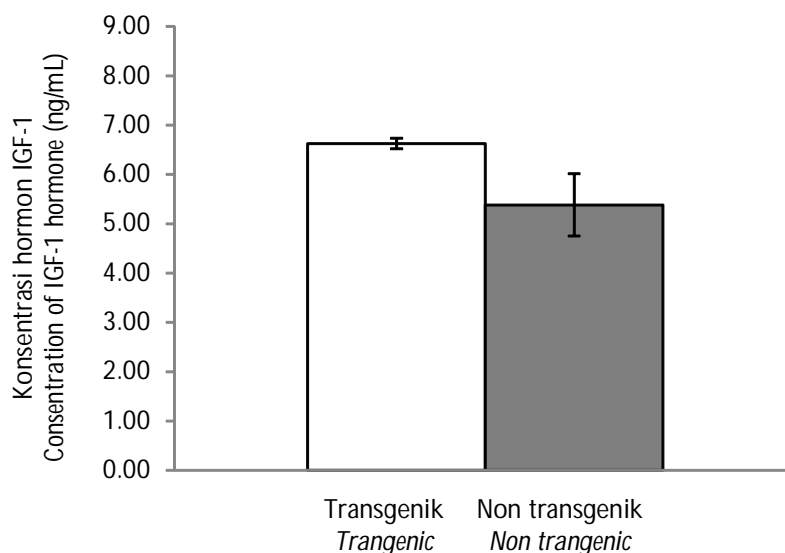
**Profil Hormon Pertumbuhan dan *Insulin-Like Growth Factor I***

Ikan lele transgenik mempunyai konsentrasi hormon pertumbuhan (5,67 ±2,65 ng/mL) yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan ikan lele non-transgenik (3,00 ±1,41 ng/mL) (P<0,05) (Gambar 3). Selain mempunyai hormon pertumbuhan yang lebih tinggi, ikan lele transgenik juga memiliki kandungan hormon IGF-I (6,63 ±0,11 ng/mL) lebih tinggi

dibandingkan dengan ikan lele non-transgenik (5,38 ±0,63 ng/mL) (P<0,05) (Gambar 4). Hal ini disebabkan oleh keberadaan gen *PhGH* atau gen hormon pertumbuhan eksogen yang ada pada ikan lele transgenik. Konsentrasi hormon pertumbuhan berbanding lurus dengan konsentrasi hormon IGF-I. Menurut Björnsson *et al.* (2004), hormon pertumbuhan secara tidak langsung akan mempengaruhi konsentrasi hormon IGF-I.

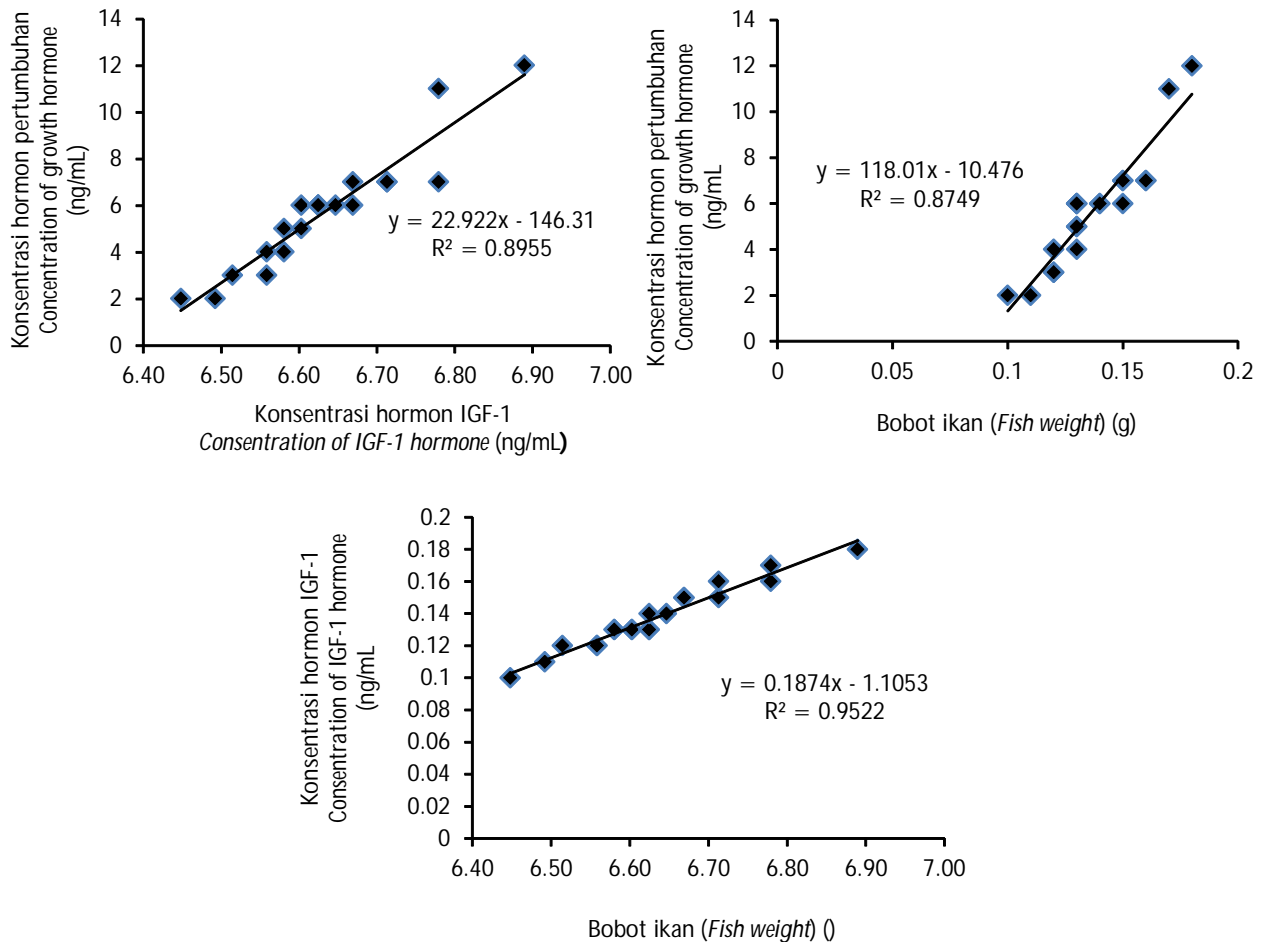
Tingginya konsentrasi hormon pertumbuhan dan hormon IGF-I akan menyebabkan pertumbuhan yang cepat, motivasi makan dan efisiensi pakan yang tinggi pada ikan lele transgenik. Menurut Higgs *et al.* (2009) bahwa hormon pertumbuhan dan IGF-I membantu mempercepat metabolisme karbohidrat dan lemak menjadi energi sehingga mempercepat pertumbuhan pada ikan. Hasil penelitian yang sama juga dilaporkan pada ikan salmon Coho transgenik yang mempunyai pertumbuhan yang lebih cepat dengan profil konsentrasi hormon pertumbuhan dan hormon IGF-I yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan ikan salmon Coho non-transgenik (Raven *et al.*, 2008).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa hormon pertumbuhan berkorelasi positif dengan pertumbuhan ikan lele transgenik (r<sup>2</sup>= 0,87), selain hormon pertumbuhan, hormon IGF-I juga berkorelasi positif dengan pertumbuhan ikan lele transgenik (r<sup>2</sup>= 0,89). Selanjutnya hormon pertumbuhan memiliki korelasi positif dengan hormon IGF-I sebesar (r<sup>2</sup>= 0,95). Dyer



Gambar 4. Analisis kuantitatif hormon *insulin-like growth factor 1* (IGF-I) pada serum ikan lele Afrika transgenik dan non-transgenik. Bar merupakan standar deviasi (n=20 ekor ikan) secara duplo

Figure 4. Quantitative analysis of *insulin-like growth factor 1* (IGF-I) in serum of transgenic African catfish. Vertical bar represented standard deviation (n=20 fishes) in duplicate sample



Gambar 5. Hubungan antara konsentrasi hormon pertumbuhan dengan pertumbuhan (A), hubungan antara konsentrasi hormon IGF-I dengan pertumbuhan transgenik (B) dan hubungan antara konsentrasi hormon IGF-I dengan hormon pertumbuhan (C) pada ikan lele Afrika (*Clarias gariepinus*) transgenik

Figure 5. The relationship between the concentration of growth hormone with growth (A), the relationship between the concentration of IGF-I hormone with growth (B) and the relationship between the concentration of growth hormone with concentration of IGF-I hormone (C) in transgenic African catfish (*Clarias gariepinus*)

et al. (2004) melaporkan bahwa konsentrasi hormon IGF-I berkorelasi positif dengan pertumbuhan pada ikan salmon Atlantik ( $r^2 = 0,67$ ) dan ikan barramundi ( $r^2 = 0,65$ ). Hormon IGF-I juga berkorelasi positif dengan konsentrasi protein ( $r^2 = 0,59$ ) (Gambar 5). Silverstein et al. (2000) juga menyatakan bahwa ikan yang tumbuh cepat mempunyai konsentrasi hormon IGF-I dan hormon pertumbuhan yang tinggi. Hal ini membuktikan bahwa konsentrasi hormon pertumbuhan dan IGF-I dapat digunakan sebagai indikator pertumbuhan pada ikan.

## KESIMPULAN

Gen PhGH dapat terdeteksi pada ikan lele Afrika transgenik  $F_3$  ukuran fragmen gen sebesar 1.500 bp. Transmisi transgen dari  $F_2$  ke  $F_3$  sebesar 0-75% dengan

rata-rata transmisi sebesar 9,4%. Ikan lele transgenik mempunyai performa pertumbuhan 51,26% lebih tinggi dibandingkan ikan lele non-transgenik, efisiensi pakan, konsentrasi hormon pertumbuhan dan hormon IGF-I yang lebih tinggi dibandingkan populasi ikan lele non-transgenik. Tingginya konsentrasi hormon pertumbuhan dan hormon IGF-I dapat mewakili performa pertumbuhan dan efisiensi penggunaan pakan pada ikan lele transgenik.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh APBN melalui DIPA No. 032.11.2.660052/2015 pada Balai Penelitian Pemuliaan Ikan (BPPI), Sukamandi. Terima kasih disampaikan kepada mahasiswa yang telah terlibat Sultan Akbar dan Fery Jaksen Sihotang dan semua teknisi yang terlibat



dalam kegiatan penelitian ini, Puji Sumargono, Ilma Lizandri, dan Maya Febriana Pangestika.

#### DAFTAR ACUAN

- Abrahams, M.V., & Sutterlin, A. (1999). The foraging and anti-predator behaviour of growth enhanced transgenic Atlantic salmon. *J. Anim. Behav.*, 58, 933-942.
- Björnsson, B.Th., Johansson, V., Benedet, S., Einarsdottir, I.E., Hildahl, J., Agustsson, T., & Jönsson, E. (2004). Growth hormone endocrinology of salmonids: regulatory mechanisms and mode of action. *Fish Physiol. Biochem.* In: Plisetskaya, E.M. (Ed.), Special Issue: Fish Growth and Metabolism. *Environmental, Nutritional and Hormonal regulation*, 27, 227-242.
- Cheng, C.A., Lu, K.L., Lau, E.L., Yang, T.Y., Lee, C.Y., Wu, J.L., & Chang, C.Y. (2002). Growth promotion in ayu (*Plecoglossus altivelis*) by gene transfer of the rainbow trout growth hormone gene. *Zool. Stud.*, 41(3), 303-310.
- DeLiang, L., Cui Zhang, F., Wei, H., Shan, Z., Taping, W., & Zuoyan, Z. (2007). Rapid growth cost in "all-fish" carp" Reduced critical swimming speed. *Chinese Science Bulletin*, 52(11), 1501-1506.
- Devlin, R.H., Swanson, P., Clarke, W.C., Plisetskaya, E., Dickhoff, W., Moriyama, S., Yesaki, T.Y. & Hew, C.L. (2000). Seawater adaptability and hormone levels in growth-enhanced transgenic Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Aquaculture*, 191, 367-385.
- Devlin, R.H., Biagi, C.A., & Yesaki, T.Y. (2004). Growth, viability and genetic characteristics of GH transgenic Coho salmon strains. *Aquaculture*, 236, 607-632.
- Dewi, R.R.S.P.S. (2010). Studi over-ekspresi gen hormon pertumbuhan dengan menggunakan metode elektroporasi sperma untuk membentuk ikan patin transgenik tumbuh cepat. Disertasi. Institut Pertanian Bogor, 75 hlm.
- Dyer, A.R., Barlow, C.G., Bransden, M.P., Carter, C.G., Glencross, B.D., Richardson, N., Thomas, P.M., Williams, K.C., & Carragher, J.F. (2004). Correlation of plasma IGF-I concentrations and growth rate in aquacultured finfish: a tool for assessing the potential of new diets. *Aquaculture*, 236, 583-592.
- Higgs, D.A., Sutton, J.N., Kim, H., Oakes, J.D., Smith, J., Biagi, C., Rowshandeli, M. & Devlin, R.H., (2009). Influence of dietary concentrations of protein, lipid and carbohydrate on growth, protein and energy utilization, body composition, and plasma titres of growth hormone and insulin-like growth factor-I in non-transgenic and growth hormone transgenic Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) (Walbaum). *Aquaculture*, 286, 127-137.
- Hidayani, A.A. (2009). *Efektivitas promotor  $\beta$ -aktin dalam mengarahkan ekspresi gen target pada transgenesis ikan mas (*Cyprinus carpio*)*. Thesis, 35 hlm.
- Ken Overturf. (2009). *Molecular Research in Aquaculture*. (p. 222-233). Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell.
- Kim, W.K., Kim, M.H., Seo, D.S., Lee, C.Y, Suk. & Ko, Y. (2005). Associated between feed efficiency, Body growth and serum insuline-like growth factor-I level for korean native ogol chickens. *Asian-Aust. Journal Animal Science*, 18(4), 532-537.
- Kirpichnikov, V.S. (1999). *Genetics and breeding of Common carp*. INRA editions, Paris.
- Kobayashi, S.I., Alimuddin, Morita, T., Endo, M., Takeuchi, T., & Yoshizaki, G. (2007). Transgenic Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) over expressing growth hormone show reduced ammonia excretion. *Aquaculture*, 270, 427-435.
- Lin, S., Yang, S., & Hopkins, N. (1994). lacZ expression in germline transgenic zebrafish Can be detected in living embryos. *Dev. Biol.*, 161, 77-83.
- Marnis, H., Iswanto, B., Suprpto, R., Imron, & Dewi, R.R.S.P.S. (2013). Pembentukan dan evaluasi performa ikan lele Afrika (*Clarias gariepinus*) transgenik F-1. Laporan Teknis Hasil Penelitian Balai Penelitian Pemuliaan Ikan Tahun 2013. Badan Penelitian dan Pengembangan Kelautan dan Perikanan, 25 hlm.
- Marnis, H., Iswanto, B., Suprpto, R., Imron, & Dewi, R.R.S.P.S. (2014a). Transmisi, ekspresi, dan distribusi gen hormon pertumbuhan ikan patin siam pada ikan lele Afrika (*Clarias gariepinus*) transgenik F-2. *Jurnal Riset Akuakultur*, 9(2), 179-190.
- Marnis, H., Iswanto, B., Suprpto, R., Imron, & Dewi, R.R.S.P.S. (2014b). Detection, transmission, and expression cDNA growth hormone gene (*PhGH*) of stripped catfish in F-1 transgenic African catfish. *Indonesia Aquaculture Journal*, 9(2), 89-95.
- Marnis, H., Iswanto, B., Suprpto, R., Imron, & Dewi, R.R.S.P.S. (2015). Performa dan sigositas ikan lele (*Clarias gariepinus*) transgenik F2 yang mengandung gen hormon pertumbuhan ikan patin siam (*Pangasianodon hypopthalmus*). *Jurnal Riset Akuakultur*, 10(2), 161-168.
- National Research Council (NRC). (1977). *Nutrient Requirements of warmwater fishes*. National Academy of Science. Washington D.C., 78 pp.
- Raven, P.A., Uh, M., Sakhrani, D., Beckman, B.R., Cooper, K., Pinter, J., Leder, E.H., Silverstein, J., & Devlin, R.H. (2008). Endocrine effects of growth hormone over expression in transgenic Coho

- salmon. *General and Comparative Endocrinology*, 159, 26-37.
- Silverstein, J.T., Wolters, W.R., Shimizu, M., & Dickhoff, W.W. (2000). Bovine growth hormone treatment of channel catfish: strain and temperature effects on growth, plasma IGF-I levels, feed intake and efficiency and body composition. *Aquaculture*, 190, 77-88.
- Thayanithy, V., Anathy, V., Kirankumar, S., & Pandian, T.J. (2004). Growth enhancement and food conversion efficiency of transgenic fish (*Labeo rohita*). *Journal of experimental Zoology*, 301(6), 477-490.
- Zhong, J.Y., Wang, Y.P., & Zhu, Z.Y. (2002). Introduction of the human lactoferrin gene into grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) to increase resistance against GCH virus. *Aquaculture*, 214, 93-101.