

ISOLASI DAN ANALISIS GEN HORMON PERTUMBUHAN LELE (*Clarias gariepinus* Burch.)

Ibnu Dwi Buwono^{*)}, Nono Carsono^{**)}, dan Yuniar Mulyani^{*)}

^{*)} Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Padjajaran
Jl. Raya Bandung Sumedang km 21, Jatinangor 45363
E-mail: ibnudw1@yahoo.com

^{**)} Fakultas Pertanian, Universitas Padjajaran
Jl. Raya Bandung Sumedang km 21, Jatinangor 45363

(Naskah diterima: 31 Oktober 2011; Disetujui publikasi: 14 Agustus 2012)

ABSTRAK

Isolasi gen hormon pertumbuhan lele dumbo (*C. gariepinus*) dari hipofisa ikan merupakan sumber DNA yang selanjutnya dapat digunakan sebagai cetakan untuk mengkopi gen tersebut menggunakan primer Amc-GH-F dan Amc-GH-R. Fragmen DNA lele dumbo hasil isolasi terdeteksi berdasar elektroforesis gel agarosa 1%. Amplifikasi gen penyandi hormon pertumbuhan (*Growth Hormone / GH*) lele dumbo menggunakan primer Amc-GH-F (5'-GCAGAAATGGCTCGAGGTAAGG-3') dan Amc-GH-R (5'-CAGGGTGCAGTTGGAATCC-3') dapat mengkopi sekuen gen GH lele dengan ukuran fragmen PCR sekitar 1.400 bp. Sementara amplicon gen GH *American catfish* (*Rhamdia quelen*) menggunakan primer Amc-GH-F dan Amc-GH-R sebesar 1.465 bp. Hasil analisis sekuensing gen penyandi GH menggunakan program BlastP dan Genetyx versi 7.0, menunjukkan bahwa sekuen gen penyandi GH lele dumbo memiliki homologi 80% dengan sekuen GH *C. gariepinus* pada bank gen (no. akses AF 416488.1), sehingga sebagian besar sekuen gen penyandi hormon pertumbuhan ikan tersebut dapat diamplifikasi secara *in vitro*.

KATA KUNCI: isolasi, analisis, gen hormon pertumbuhan, lele dumbo

ABSTRACT: *Isolation and analysis of growth hormone gene African catfish (Clarias gariepinus Burch.). By: Ibnu Dwi Buwono, Nono Carsono, and Yuniar Mulyani*

Isolation of African catfish growth hormone gene (C. gariepinus) from the pituitary of fish is a source of DNA that can then be used as a template for copying the gene using Amc-GH-F and Amc-GH-R primers. DNA fragments of the isolated from African catfish were detected by 1% agarose gel electrophoresis. Amplification of the gene encoding growth hormone African catfish using primer Amc-GH-F (5'-GCAGAAATGGCTCGAGGTAAGG-3') and Amc-GH-R (5'-CAGGGTGCAGTTGGAATCC-3') can be used to copy GH gene sequences catfish the size of the test sample PCR fragments (African catfish) approximately 1,400 bp. While the GH gene amplicons American catfish (Rhamdia quelen) using Amc-GH-F and Amc-GH-R primers were 1,465 bp. The results of sequencing analysis of GH-coding genes using BlastP program and Genetyx version 7.0, indicating that the gene sequence coding for African catfish GH has 80% homology with sequences GH C. gariepinus in gen bank (accession no. AF 416488.1), so most of the growth hormone gene sequences coding for these fish can be amplified in vitro.

KEYWORDS: *isolation, analysis, growth hormone gene, African catfish*

PENDAHULUAN

Hormon pertumbuhan (*growth hormone/GH*) ikan merupakan hormon polipeptida yang disekresikan oleh hipofisis anterior. GH ini dapat memperbaiki kecepatan pertumbuhan individu ikan dengan meningkatkan biosintesis protein dan perubahan lemak (lipid) (Feng *et al.*, 2002).

Gen hormon pertumbuhan beberapa jenis ikan telah dapat dikloning dan disekuensing untuk keperluan konstruksi transgen '*all-fish*' dalam vektor ekspresi ikan yang bersangkutan (Degani *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2009). DNA genomik hormon pertumbuhan ikan dapat diisolasi dari kelenjar hipofisa ikan (Roberts *et al.*, 2004; Alimuddin *et al.*, 2007) dan mengandung *coding sequence* (cgs) GH yang memiliki kesamaan (*similarity*) tinggi antara ikan yang masih sekerabat.

Gen GH *Heteropneustes fossilis* (lele India) memiliki ukuran 1.132 bp yang tersusun dari *Open Reading Frame* (ORF) atau cgs berukuran 603 bp yang menyandikan 200 asam amino penyusun hormon tersebut (Anathy *et al.*, 2001). Sementara itu, ukuran genom hormon pertumbuhan *American catfish* (*Rhamdia quelen*) sebesar 1.465 bp, yang mengandung ORF gen tersebut sebesar 603 bp (Vaz *et al.*, 2010). Panjang fragmen ORF hormon pertumbuhan *channel catfish* (*Ictalurus punctatus*) dan *blue catfish* (*Ictalurus furcatus*) masing-masing adalah 689 bp dan 702 bp yang memiliki kemiripan tinggi pada sekuen ORF (Fei *et al.*, 2010), di mana ORF merupakan sekuen penyandi protein hormon pertumbuhan ikan tersebut.

DNA hormon pertumbuhan dari *I. punctatus* (Anathy *et al.*, 2001), *Pangasius pangasius* (Lemaire & Panyim, 1993), *P. gigas* (Lemaire *et al.*, 1994) dan *H. fossilis* telah dapat dikloning dalam *Escherichia coli* sebagai tahap awal untuk *all fish gen transfer vector* dalam upaya menghasilkan ikan auto transgenik.

Tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah mengisolasi gen hormon pertumbuhan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) dan menganalisis sekuen gen penyandi hormon tersebut.

BAHAN DAN METODE

Ikan Uji

Ikan yang digunakan sebagai sampel uji adalah lele dumbo (*Clarias gariepinus* Burch.)

diperoleh dari lokasi pembudidaya ikan lele di Sumedang berukuran sekitar 350-400 g per ekor. Hipofisa ikan digunakan sebagai sumber untuk ekstraksi DNA lele.

Ekstraksi DNA Lele Dumbo

Ekstraksi DNA lele dilakukan menggunakan kit *High Pure DNA Tissue* (Roche) mengacu pada protokol kit tersebut. Sampel berupa 10 mg jaringan hipofisa lele digerus lembut dengan *pestle* steril, kemudian dihomogenisasi dengan *syringe* plastik steril 5-10 kali, dan dilisiskan dengan penambahan 400 µL *lysis (binding buffer)*. Selanjutnya, *lysate*, disentrifugasi selama 2 menit pada kecepatan 14.000 rpm, dan ditambahkan 200 µL etanol absolut yang dicampurkan menggunakan mikropipet. Campuran tersebut dipindahkan ke tabung koleksi (2 mL) yang telah diisi tabung filter (*high pure filter tube*) untuk menyaring *lysate*.

Tahap berikutnya melakukan sentrifugasi 30 detik pada kecepatan 14.000 rpm, dilanjutkan dengan pembuangan cairan dari tabung koleksi. Selanjutnya ditambahkan 500 µL *wash buffer I* ke dalam tabung filter, lalu disentrifugasi pada 11.000 rpm selama 15 detik, dan cairan yang tertampung dalam tabung koleksi dibuang. Penambahan 500 µL *wash buffer II* dilakukan kembali ke dalam tabung filter, kemudian disentrifugasi pada 14.000 rpm selama 2 menit. Sentrifugasi dilakukan kembali selama 1 menit pada 14.000 rpm, lalu tabung filter diambil dari tabung koleksi dan ditempatkan ke dalam tabung *ependorf* 1,5 mL steril.

Elusi DNA dilakukan dengan menambahkan 100 µL *elution buffer* ke dalam tabung filter, kemudian disentrifugasi selama 1 menit pada 14.000 rpm, dan DNA sudah tertampung dalam tabung *ependorf* 1.5 yang kemudian disimpan pada -20°C.

Amplifikasi Sekuen Gen Penyandi GH Lele Dumbo

Pengerjaan amplifikasi gen GH lele dumbo dilakukan untuk mendapatkan produk PCR berupa fragmen gen GH lele dumbo menggunakan primer Amc-GH-F dan Amc-GH-R serta *fast start PCR master mix* untuk keperluan amplifikasi tersebut. Penggunaan primer *American catfish* (Amc-GH-F : 5'-GCAGAAATGGCTCGAGGTAAGG-3' dan Amc-GH-R : 5'-CAGGGTGCAGTTGGAATCC-3') dapat dipakai untuk mengkopi sekuen gen GH lele

dumbo (*C. gariepinus*) karena baik *C. gariepinus* dan *American catfish* (*Rhamdia quelen*) memiliki hubungan kekerabatan gen GH (Vaz *et al.*, 2010). Ukuran amplikon GH R. *Quelen* dengan primer Amc-GH-F dan Amc-GH-R sebesar 1.465 bp.

Program amplifikasi gen GH lele dumbo dengan PCR, meliputi tahap pra denaturasi 94°C (3 menit); denaturasi 94°C (30 detik); *annealing* 55°C (30 detik); ekstensi 72°C (2 menit) dan ekstensi akhir 72°C (7 menit) dengan jumlah siklus penggandaan 35.

Formulasi campuran reaksi PCR (volume total 50 µL), terdiri atas *fast start PCR master mix* 25 µL; primer Amc-GH-F (25 pmol) 5 µL; primer Amc-GH-R (25 pmol) 5 µL; DNA (*template*) 5 µL dan *water PCR grade* 10 µL. Sampel DNA yang sudah diamplifikasi kemudian disimpan pada suhu -20°C semalam untuk pengerjaan elektroforesis.

Elektroforesis

Sampel DNA yang telah diamplifikasi, dianalisis dengan melakukan elektroforesis menggunakan gel agarosa secara *submarine* atau terendam seluruhnya. Sebanyak 10 µL DNA hasil PCR dicampurkan dengan 3 µL *buffer* pemuat (*loading buffer*), lalu dimasukkan ke dalam sumur-sumur yang dibentuk pada gel agarosa, satu sumur untuk 1 sampel DNA hasil amplifikasi. Konsentrasi gel agarosa 1%, yang direndam dalam *running buffer* TBE 0,5X. Elektroforesis dijalankan pada voltase 75 volt selama 1,5 jam. Sebagai pembandingan ukuran fragmen digunakan marker DNA ladder 1 kb.

Gel agarosa hasil elektroforesis direndam dalam larutan *etidium bromida* (Et-Br) dengan konsentrasi 2 µg/mL selama 30 menit, selanjutnya gel agarosa dicuci dengan akuades selama 15 menit. Visualisasi pita DNA produk elektroforesis dilakukan di bawah lampu UV dengan panjang gelombang $\lambda = 312$ nm (*UV-Illuminator*) dan difoto menggunakan kamera digital.

Sekuensing GH Lele Dumbo

Setelah diperoleh hasil amplifikasi sekuen GH lele dumbo dengan primer Amc-GH-F dan Amc-GH-R maka tahap selanjutnya dilakukan analisis sekuen DNA GH tersebut. Analisis sekuen GH lele tersebut menggunakan jasa service sekuensing PT Genetika Science Indonesia (Jakarta) untuk sampel produk PCR menggunakan primer Amc-GH-F dan Amc-GH-R.

Fragmen DNA hasil amplifikasi untuk sekuen gen GH lele dumbo ini perlu diverifikasi dengan menjajarkan (*alignment*) dengan sekuen gen GH *Claria gariepinus* (lele dumbo) yang terdapat pada bank gen untuk mengetahui kemiripan sekuen-sekuen tersebut, terutama *coding sequence* (sekuen penyandi) protein GH ikan (Punia *et al.*, 2000). Fragmen DNA ini kemudian digunakan sebagai sampel untuk sekuensing.

Identifikasi urutan basa nukleotida dari fragmen tersebut menggunakan analisis kesejajaran lokal (*local alignment*) berdasarkan urutan nukleotida yang ada di *GenBank* melalui program BLAST (*Basic Local Alignment Search Tools*) yang diakses dari NCBI (*National for Biotechnology Information*) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>).

Sekuen nukleotida dan asam amino GH sampel uji hasil amplifikasi dibandingkan dengan data base dalam bank gen dengan program BlastP. Penjajaran (*alignment*) dan persentase kemiripan (*similarity*) asam amino dianalisis menggunakan program GENETYX versi 7.0 (Alimuddin *et al.*, 2007).

HASIL DAN BAHASAN

Isolasi DNA Lele Dumbo (*C. gariepinus*)

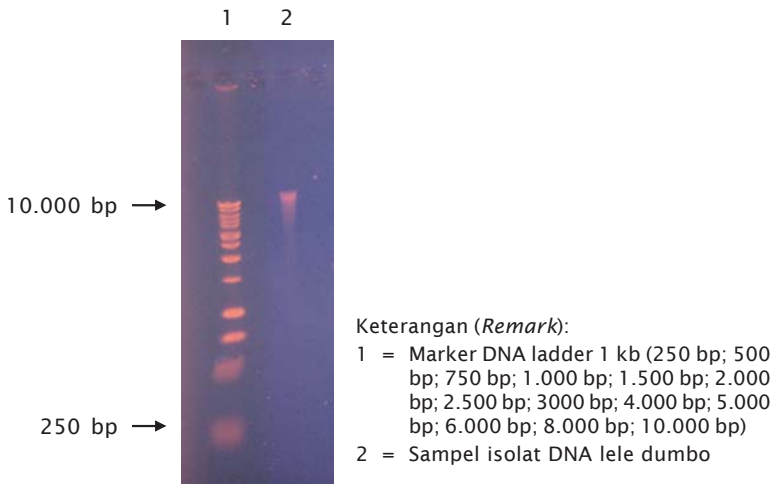
Hasil isolasi DNA yang berasal dari hipofisa ikan lele dumbo berdasar uji elektroforesis gel agarosa 1% disajikan pada Gambar 1.

Hasil pembuktian keberadaan DNA hasil isolasi dari hipofisa ikan lele dumbo dengan elektroforesis gel agarosa 1% diperoleh fragmen DNA dari sampel uji isolat DNA lele dumbo (sumur ke-2, Gambar 1). Berdasarkan pedoman ukuran fragmen dari marker DNA ladder 1 kb (kisaran 0,2-10 kb), fragmen DNA lele dumbo berukuran lebih dari 10 kb, dikarenakan mengandung banyak ekson-intron berbagai gen penyandi, sehingga ukuran fragmennya relatif panjang. Dengan demikian fragmen DNA dari sampel uji terdeteksi melalui elektroforesis gel agarosa 1% (Roche, 2005).

Amplifikasi Sekuen *Growth Hormone* (GH) Lele Dumbo

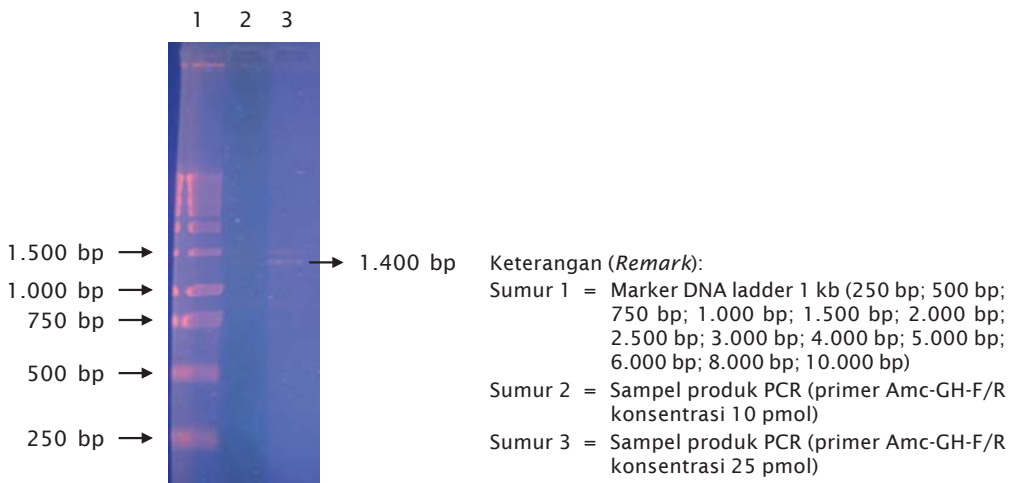
Hasil optimasi PCR dengan menggunakan primer Amc-GH-F dan Amc-GH-R pada sampel uji (lele dumbo) disajikan dalam Gambar 2.

Fragmen DNA hasil amplifikasi yang tertera pada Gambar 2, yakni pada sumur ke-3, terpapar 2 fragmen dengan ukuran sekitar 1.400 bp dan



Gambar 1. Elektroforegram produk isolasi DNA lele dumbo

Figure 1. DNA isolation products electrophoregram in African catfish



Gambar 2. Elektroforegram fragmen gen GH lele dumbo

Figure 2. GH gene fragment electrophoregram African catfish

1.500 bp, dan didasarkan atas ukuran sekuen gen GH *American catfish* (*Rhamdia quelen*) sebesar 1.465 bp, fragmen DNA dari sampel uji (sekitar 1.400 bp) diduga merupakan kandidat kuat gen GH lele dumbo. Hal ini juga diperkuat dari hasil sekuensing gen GH *Clarias gariepinus* yang terdapat pada bank gen berukuran 1.456 bp, sehingga ukuran fragmen DNA sampel uji yang terpapar pada posisi 1.400 bp tersebut merupakan gen penyandi GH lele dumbo. Lebih lanjut dikemukakan Feng *et al.* (2002), bahwa GH ikan sangat konser-

vatif, di mana ikan-ikan dalam ordo atau famili yang sama menunjukkan homologi yang tinggi pada sekuen gen GH dan sekuen protein penyandi GH.

Berpedoman hasil sekuensing gen GH pada bank gen, khususnya untuk *C. gariepinus* (lele dumbo) dengan nomor aksesori AF 416488.1 yang memiliki ukuran basa nukleotida 1.456 bp, maka diperlukan primer yang sesuai untuk gen GH ikan tersebut. Hasil penelitian Vaz *et al.* (2010) menunjukkan

bahwa kekerabatan *Clarias gariepinus* dan *Clarias batrachus* berdasar sekuen gen GH-nya memiliki homologi 99% dan antara kedua jenis *Clarias* tersebut dengan *American catfish* (*Rhamdia quelen*) memiliki kemiripan (*similarity*) berdasar sekuen GH sebesar 100%. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa primer *American catfish* (Amc-GH-F dan Amc-GH-R) dapat digunakan untuk mengkopii sekuen gen GH lele dumbo (*Clarias gariepinus*).

Sekuen Growth Hormone (GH) Lele Dumbo

Hasil sekuensing produk PCR dari sampel uji (menggunakan primer Amc-GH-R) dari PT. Genetika Science Indonesia (1st BASE Molecular Biology Company-Malaysia) diperoleh ukuran panjang sekuen 713 nukleotida (nt) seperti Gambar 3. Sementara hasil sekuensing produk PCR dari sampel uji (menggunakan primer Amc-GH-F) tidak ditampilkan, oleh karena banyak nukleotida yang tidak terdeteksi.

Untuk mendapatkan kemiripan (*similarity*) antara sekuen gen yang terdapat pada bank gen dengan sekuen nukleotida gen sampel yang menyandikan protein hormon pertumbuhan, diperlukan program BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) khususnya dengan program Blast-P secara *online* dan Genetyx versi 7.0 untuk mengetahui sekuen penyandi protein tersebut (Gambar 4).

Hasil penjajaran (*alignment*) dengan data sekuen GH yang ada di bank gen dengan program Blast-P, menunjukkan bahwa sekuen sampel uji memiliki kemiripan 80% dan 92%

dengan sekuen protein GH spesies *Clarias* yang terdapat dalam data base bank gen (Tabel 1).

Berdasar sebaran nukleotida penyandi protein GH yang identik antara spesies *C. gariepinus* dalam bank gen (Tabel 1) dengan sampel uji (lele dumbo), kemiripannya relatif rendah, dikarenakan hasil sekuensing sampel uji parsial dari satu arah saja (*reverse*). Rendahnya kemiripan sekuen nukleotida GH lele dumbo (sampel uji) dengan GH spesies *Clarias* di atas, menyebabkan homologi sekuen asam amino residu antara lele dumbo dengan *C. gariepinus* dan *C. batrachus* relatif rendah (Gambar 5) (Alimuddin *et al.*, 2007; Nugroho *et al.*, 2008). Pada hasil sekuensing sampel uji (GH lele dumbo) di atas (Gambar 3), terkandung sekuen intron pada posisi nt. 713-586 dari arah *reverse* berdasar analisis program Genetyx versi 7.0. Hal ini yang menyebabkan homologi sekuen GH lele dumbo dengan data GH spesies *Clarias* bank gen relatif rendah.

Hasil penjajaran sekuen asam amino GH lele dumbo (sampel uji) dengan data sekuen asam amino GH *C. gariepinus* pada bank gen, menunjukkan kemiripan 87% (Gambar 5), yang tidak jauh berbeda dengan hasil penjajaran sekuen nukleotida GH tersebut (Tabel 1). Sekuen-sekuen asam amino yang menunjukkan domain fungsional GH lele dumbo dengan GH *Clarias gariepinus* (no. akses AF416488.1) adalah empat residu sistein (notasi asam amino C) yang merupakan karakteristik semua GH vertebrata, dan suatu residu ekstra sistein yang keberadaannya penting untuk aktivitas biologis dan integritas

```
GCCTTTTCCCACCCCCCCCCGAGGGGGGGGGGAAGGGGGAGGAAGGGGGTCTTGAAGGTG
GTAGTCACTGAAC TACAGCCCTGGCTGCGTATTGAAAAATAAAGGGACGTCCGGGGTTGACTT
TCTTCTTGACTTTTCTACTTATCAGTTTATGGACATAAAGCTAGACTTGTGGTGGTAACAGTC
ACATTGTGCTTCATTTTTTAAATACGTAATGTACACCAATGTATTGCTTCTTCTTCTACAG
TGTGGTGC TGC TCTGTGGTGGTGGCGAGTCTGTTCTTTAATCAAGGCGCGACATTTGAGA
CCCAGCGGCTCTTCAACAACGCGGT CATCCGTGTGCAACACCTTACCAACTGGCTGCCAAGA
TGATGGATGACTTTGTAAGCGTGC TGCAGACTGATGTAAGCATAGTTTACACCTACAGCAGGA
AACGTGTTAGCTGTAAGCCTTAAGTTATGTGGATT CACGAGCTGAGTCTCGGGTTGTGTTGCA
AATCTAAAAGGAAGAAGCTTTGGTACCTGAAGAACGCAAAGAGCTGAGCGAGATCTTCCGCCCT
GTCATTCTGCAACTCGGACTCTATCGAGGCTCCGGTAGTCTGAGGACGAGACGCAGAAAGGCTC
CGTGATTACAGAGGTGGTGGCGTGAGAGTGTTAGGTATGGGAGAGTGGTCCGGACGTGCGGTA
GGACGTTGGGGGAGGATGTG
```

Gambar 3. Hasil sekuensing produk PCR GH lele dumbo arah *reverse*

Figure 3. The results of sequencing PCR products African catfish GH reverse direction

```
[GENETYX : Translation of Nucleotides into Amino Acids for Thesis]
Date : 2012.08.05
Filename : GH ikan lele dumbo
Sequence Size : 284
Sequence Position: 1 - 284
Translation Position: 1 - 284
Genetic Code : The Standard Code
```

```

      10      20      30      40      50      60
TTGGTGTGCTCTCTGTGGTGGTGGCGAGTCTGTTCTTTAATCAAGGCGCGACATTGAG
L V L L S V V V A S L F F N Q G A T F E

      70      80      90     100     110     120
ACCCAGCGGCTCTTCAACAACGCGGTATCCGTGTGCAACACCTTCACCAACTGGCTGCC
T Q R L F N N A V I R V Q H L H Q L A A

      130     140     150     160     170     180
AAGATGATGGATGACTTTGTAGAAGCTTTGGTACCTGAAGAACGCAAAGAGCTGAGCGAG
K M M D D F V E A L V P E E R K E L S E

      190     200     210     220     230     240
ATCTTCGCGCTGTCAATCTGCAACTCGGACTCTATCGAGGCTCCGGTAGTCGAGGACGAG
I F R L S F C N S D S I E A P V V E D E

      250     260     270     280     290
ACGCAGAAAGGCTCCGTGATTCACAGAGGTGGTGGCGTGAGAGT
T Q K G S V I H R G G G V R
```

Gambar 4. Sekuen asam amino penyandi gen GH lele dumbo (hasil olah sekuen nukleotida produk PCR (program Genetyx versi 7.0)

Figure 4. Amino acid sequence of the gene encoding GH African catfish (the result of a nucleotide sequence of PCR product (Genetyx program version 7.0)

```
Score = 273 bits (590), Expect = 3e-70
Identities = 143/164 (87%), Positives = 149/164 (91%), Gaps = 0/164 (0%)
Frame = +1/+1
```

```

Query 151 VYGHKARLVVVTVTLCFIF*IRNVHQCIAslllqccwccslwwrvCSLIKARHLRPSGSS 330
          VYGHKARLVV TVTLCFIF*IRNVHQCIASLLQ WCCSLWWWVRCCSLIKARHLRPSGSS
Sbjct 184 VYGHKARLVVETVTLCFIF*IRNVHQCIASLLQFWCCSLWWWVCSLIKARHLRPSGSS 363
Query 331 TTRSSVCNTFTNWLPR*WMTL*ACRLM*A*FTPTAGNVLAVSLKLCGFETS*VSGCVANL 510
          TTRSSVCNTFTNWLPR*WMTL*AC RL+*A FTPT GNVLA+S K FTS*+S CVANL
Sbjct 364 TTRSSVCNTFTNWLPR*WMTL*ACFRLI*AWFTPTVGNVLALSFKFVVFTS*ISCCVANL 543
Query 511 KGRSFGT*RTQRAERDLPPVILQLGLYrgsgsrgrDAERLRDSQ 642
          KGRSF T*RTQ AE+DLPPVILQLGLYRGSG +GRD E+LR SQ
Sbjct 544 KGRSFVT*RTQTAEQDLPPVILQLGLYRGSGRQGRDPEKLRKSQ 675
```

Gambar 5. Penjajaran sekuen asam amino GH sampel (lele dumbo) dengan sekuen asam amino GH *Clarias gariepinus* (no. aksesinya AF416488.1) (program tBlastx). Huruf C yang ditebalkan merupakan asam amino Cysteine

Figure 5. Amino acid sequence alignment of GH samples (African catfish) with GH amino acid sequence of *Clarias gariepinus* (accession No. AF416488.1) (tBlastx program). C letters which in bold is amino acid Cysteine

struktural hormon GH (Punia *et al.*, 2000; Syaifudin, 2006). Lima residu sistein terdapat pada sekuen asam amino GH sampel uji (*query*) yang sejajar dengan sekuen asam amino tersebut pada GH bank gen (*subject*), menunjukkan bahwa sekuen produk PCR GH sampel merupakan nukleotida hormon pertumbuhan ikan lele dumbo.

Hasil-hasil penjajaran di atas, menunjukkan bahwa sebagian besar nukleotida hasil sekuensing sampel uji merupakan sekuen gen hormon pertumbuhan lele dumbo. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa produk PCR yang diperoleh dari sampel uji adalah kopi-kopi sekuen penyandi hormon pertumbuhan lele dumbo.

Tabel 1. Homologi nukleotida GH lele dumbo dengan protein GH spesies *Clarias* yang ada dalam bank gen

Table 1. GH nucleotide homology with the African catfish with GH protein *Clarias* species which genes exist in the gene bank

Spesies ikan <i>Fish species</i>	Nomor aksesii <i>Accession number</i>	% Homologi
Gen hormon pertumbuhan <i>Clarias gariepinus</i> <i>Clarias gariepinus growth hormone protein gene</i>	AAL84166.1	80
Gen hormon pertumbuhan <i>Clarias batrachus</i> <i>Clarias batrachus growth hormone protein gene</i>	AAL84164.1	92

KESIMPULAN

Berdasarkan visualisasi elektroforesis produk PCR dari sampel cDNA lele dumbo menggunakan primer Amc-GH-F dan Amc-GH-R, amplicon yang diperoleh berukuran 1.400 bp, sebagian besar merupakan sekuen gen yang menyandi hormon pertumbuhan lele dumbo, oleh karena memiliki homologi 80% dengan sekuen gen GH *Clarias gariepinus* (no. aksesii AF416488.1), dan 92% dengan *C. batrachus* (no. aksesii AF416486.2).

Hasil analisis sekuen GH lele dumbo menunjukkan keberhasilan amplifikasi gen penyandi hormon pertumbuhan lele tersebut secara *in vitro* menggunakan PCR.

SARAN

Diperlukan penggunaan primer spesifik, khususnya yang didesain dari ikan lele dumbo, untuk meningkatkan homologi gen penyandi hormon pertumbuhan ikan dan penggunaan ikan lele berukuran induk guna memperoleh DNA lele dalam konsentrasi relatif tinggi sehingga mempermudah proses sekuensing yang memberikan hasil sekuensing optimum.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Bapak Direktur Jenderal Pendidikan Tinggi, Direktorat Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Kemendiknas dan Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat UNPAD beserta jajarannya yang telah membiayai pelaksanaan penelitian ini dengan Dana DP2M Dikti Tahun Anggaran 2011. Demikian pula diucapkan terima kasih kepada Tim Peneliti serta semua pihak yang telah membantu penelitian hingga selesai.

DAFTAR ACUAN

- Alimuddin, Nugrahani, W., Aliah, R.S., Sumantadinata, K., Faizal, I., Carman, O., & Yoshizaki, G. 2007. Isolasi dan karakterisasi promotor β -actin dari ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*). *J. Ris. Akuakultur*, 2(2): 199-209.
- Anathy, V., Venogupal, T., Koteswaran, R., Pandian, T.J., & Mathavan, S. 2001. Cloning, sequencing and expression of cDNA encoding growth hormone from *Indian catfish (Heteropneustes fossilis)*. *J. Biosci.*, 26: 315-324.
- Degani, G., Jackson, K., Yom-Din, S., & Goldberg, D. 2006. cDNA cloning and mRNA expression of growth hormone in *Belontiidae (Anabantoidei suborder)*. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 58(2): 124-136.
- Fei, C., Lee, Y., Jiang, Y., Wang, S., Peatman, E., Abernathy, J., Liu, H., Liu, S., & Liu, Z. 2010. Identification and characterization of full-length cDNAs in *Channel catfish (Ictalurus punctatus)* and *Blue catfish (Ictalurus furcatus)*. *Plos One* 5(7): e11546. doi: 10.1371/journal.pone.0011546.
- Feng, Qiang, jia, C., Liu, S., Jun, & Yun, L. 2002. Molecular cloning and sequencing of growth hormone gene for black carp. *Acta Laser Biology Sinica*, 11(6): 406-411.
- Lemaire, C., Writ, S., & Panyim, S. 1993. *Pangasius pangasius* growth hormone mRNA complete coding sequence (Gene Bank Accession Number M 63713).
- Lemaire, C., Writ, S., & Panyim, S. 1994. Giant catfish, *Pangasionodon gigas* growth hormone encoding cDNA cloning and sequencing by one sided polymerase chain reaction. *Gene*, 49: 271-276.

- Nugroho, E., Alimuddin, Kristanto, A.H., Carman, O., Megawati, N., & Sumantadinata, K. 2008. Kloning cDNA hormon pertumbuhan dari ikan gurame (*Osphronemus gouramy*). *J. Ris. Akuakultur*, 3(2): 183-190.
- Punia, P.S., Moriyama, S., Takahashi, A., & Kawauchi, H. 2000. Molecular cloning of growth hormone complementary DNA in Barfin Flounder. *Mar. Biotechnol.*, 2: 21-26.
- Roberts, S., Barry, T., Malison, J., & Goetz, F. 2004. Production of recombinantly derived growth hormone antibody and the characterization of growth hormone levels in yellow perch. *Aquaculture*, 232: 591-602.
- Roche. Corporation. 2005. *High Pure RNA Tissue Kit Protocols*.
- Syaifudin, M. 2006. *Isolasi dan karakterisasi cDNA hormon pertumbuhan ikan kerapu bebek (Cromileptes altivelis)*. Tesis. Sekolah Pasca Sarjana IPB. Bogor, 65 hlm.
- Vaz, B.Z., Cerqueira, G.M., Silva, J.C., Manzke, V.H.B., Moreira, C.G.A., & Moreira, H.L.M. 2010. Sequence analysis of the growth hormone gene of the South American catfish *Rhamdia quelen*. *Genetics and Molecular Research*, 9(4): 2,184-2,190.
- Zhang, Mao-qun, Cheng-zun, C., Yong-jun, G., Jing, G., & Xiao-mei, W. 2009. Cloning and sequence analysis of full-length growth hormone cDNA from *Clarias gariepinus*. *Acta Agricultural Boreali-Sinica*, 24(6): 32-37.

Lampiran 1. Hasil sekuensing nukleotida sampel uji (lele dumbo) dari 1 st BASE (Malaysia)

Appendix 1. The results of nucleotide sequencing of the sample (African catfish) from 1 st BASE (Malaysia)

GCCTTTTCCCACCCCCCCCCGAGGGGGGGGGGAAGGGGGAGGAAGGGGGTCTTG
AAGGTGGTAGTCACTGAACTACAGCCCTGGCTGCGTATTGAAAAATAAAGGGACGTCC
GGGGTTGACTTTCTTCTTGACTTTTCTACTTATCAGTTTATGGACATAAAGCTAGACTTGT
GGTGGTAACAGTCACATTGTGCTTCATTTTTTAAATACGTAATGTACACCAATGTATTGC
TTCTCTTCTTCTACAGTGTGGTGCTGCTCTGTGGTGGTGGCGAGTCTGTTCTTTAAT
CAAGGCGCGACATTTGAGACCCAGCGGCTCTTCAACAACGCGGTCATCCGTGTGCAAC
ACCTTACCAACTGGCTGCCAAGATGATGGATGACTTTGTAAGCGTGCTGCAGACTGAT
GTAAGCATAGTTTACACCTACAGCAGGAAACGTGTTAGCTGTAAGCCTTAAGTTATGTG
GATTCACGAGCTGAGTCTCGGGTTGTGTTGCAAATCTAAAAGGAAGAAGCTTTGGTACC
TGAAGAACGCAAAGAGCTGAGCGAGATCTTCCGCCTGTCACTTCTGCAACTCGGACTCT
ATCGAGGCTCCGGTAGTCGAGGACGAGACGCAGAAAGGCTCCGTGATTCACAGAGGT
GGTGGCGTGAGAGTGTTAGGTATGGGAGAGTGGTCCGGACGTCCGGTAGGACGTTGGG
GGAGGATGTG