

Ikan komet (*Carassius auratus auratus*) sebagai ikan model dalam rekayasa genetik

Eni Kusrini✉, Muhammad Yamin, Wartono Hadie

Balai Riset Budi Daya Ikan Hias
Jln. Perikanan 13 Pancoran Mas Depok
e-mail: ennyperikanan@yahoo.com

Abstrak

Ikan komet (*Carassius auratus auratus*), yang merupakan salah satu strain ikan mas koki, telah lama dikenal sebagai ikan hias di Indonesia. Ikan ini tergolong mudah dipijahkan, memiliki banyak ragam jenis dan mudah dalam pemeliharannya. Disamping itu ikan ini mudah untuk transgenesis, memiliki embrio yang transparan dan memiliki informasi genom yang cukup lengkap. Dalam beberapa tahun terakhir, ikan komet telah digunakan sebagai ikan model untuk rekayasa genetik ikan. Berbagai tehnik transfer gen ke dalam telur terbukti sukses dilakukan diantaranya microinjection dan electroporasi dan sperm-mediated gene transfer. Beberapa gen yang dilaporkan telah sukses diekspresikan dalam ikan komet diantaranya *green fluorescence protein* (GFP) dari ubur-ubur (*Aequorea victoria*) dan beberapa promoter termasuk α -actin dan β -actin. Model ikan transgenik ini berpotensi digunakan sebagai biosensor maupun dalam ikan hias untuk memperbaiki kualitas dan meningkatkan penampilan ikan.

Kata kunci: ikan komet (*Carassius auratus*), rekayasa genetik, promoter, ikan transgenik.

Pendahuluan

Indonesia dikenal sebagai salah satu negara *megabiodiversitas* jenis hayati dan *megacenter* keanekaragaman hayati. Keanekaragaman ekosistem di Indonesia terlihat dari paling tidak ada 50 tipe ekosistem alam, mulai dari padang rumput hingga hutan bakau di daratan dan padang lamun sampai terumbu karang di laut. Indonesia merupakan negara yang memiliki wilayah terumbu karang terluas di kawasan *Indomalaya*. Terumbu karang Indonesia memiliki keanekaragaman jenis ikan hias laut terbesar dibanding negara lain. Indonesia memiliki sekitar 25% dari jenis ikan yang terdapat di dunia. Tentunya kekayaan keanekaragaman hayati ini akan lebih besar lagi bila dilihat dari keragaman genetik yang terdapat di dalamnya.

Meningkatnya kebutuhan ikan dunia dewasa ini telah mendorong intensifikasi budi daya perikanan di negara-negara produsen termasuk Indonesia. Sayangnya laju permintaan masih lebih tinggi daripada kemampuan meningkatkan produksi, khususnya dari kegiatan budi daya perikanan. Hal ini ditunjang dengan munculnya berbagai masalah penyakit yang merupakan akibat sampingan dari intensifikasi budi daya perikanan. Perbaikan produktifitas dan kualitas ikan yang selama ini dilakukan ternyata belum mampu mengatasi permasalahan akibat keterbatasan yang dihadapi dengan menggunakan teknologi persilangan konvensional seperti terbatasnya keragaman sifat dan kurang presisinya hasil yang dicapai.

Adanya permasalahan ini telah mendorong meningkatnya kegiatan riset bioteknologi khususnya rekayasa genetik untuk mengatasi keterbatasan yang dihadapi dengan teknologi konvensional. Sejak tahun 1985, upaya rekayasa genetik ikan telah berhasil dilakukan, dan semakin lama semakin banyak penelitian rekayasa genetik ikan berhasil dilakukan. Berbagai gen dari spesies yang berbeda telah berhasil ditransfer dan diekspresikan ke ikan seperti *green fluorescence protein* (GFP), *growth hormone*, dan lain-lain. Berbagai promoter juga telah diekspresikan ikan diantaranya β -aktin, RSV-LTR promoter, erythroid-specific GATA promoter musclespecific, α -actin promoter *insulin* promoters dan lain-lain.

Selama beberapa tahun terakhir penelitian rekayasa genetik terhadap ikan komet telah dilakukan di berbagai negara. Salah satu ikan model yang berpotensi untuk dijadikan ikan model dalam rekayasa

genetika di Indonesia adalah ikan komet (*Carassius auratus auratus*). Pengembangan metode introduksi gen asing ke ikan komet telah menunjukkan keberhasilan termasuk ekspresi gen dan pewarisannya ke generasi berikut.

Rekayasa genetik ikan

Perkembangan bioteknologi khususnya teknologi biologi molekuler pada tahun 1970-an dalam rekayasa genetika yang juga dinamakan DNA rekombinan dinyatakan sebagai kemajuan yang paling mengagumkan. Kegiatan rekayasa genetik ikan telah dilakukan sejak pertengahan 1980'an (Zhu *et al.*, 1985). Kegiatan ini berawal dari kegiatan rekayasa genetik ikan mas (*C. auratus*) yang dilakukan oleh Zhu *et al.* (1985). Selanjutnya rekayasa genetik juga dilakukan pada ikan-ikan medaka (Ozato *et al.*, 1986), ikan catfish (Yan and Özgüinen, 1993), crayfish dan zebrafish (Tsai, 2008). Perkembangan teknik transfer gen di ikan bermula dari penggunaan mikroinjeksi (Zhu *et al.*, 1985). Perkembangan selanjutnya sampai tahun 1990, transgenik ikan telah dilakukan pada 13 jenis ikan yaitu atlantic salmon, common carp, goldfish, loach, medaka, mud carp, northern pike, rainbow trout, silver crucian, Nile tilapia, wuchang fish, dan zebra fish (Chen, 1994). Namun teknik ini menimbulkan banyak kegagalan dan kematian telur dan prosesnya berjalan lambat (Dunham *et al.*, 1987).

Berbagai teknik transfer gen yang dikembangkan selanjutnya adalah electroporation, retroviral integration, liposomal-reverse-phase-evaporation, sperm-mediated transfer and high velocity microprojectile bombardment. Teknik-teknik ini selanjutnya memberikan hasil yang lebih efisien yakni diantaranya transfer gen yang dihasilkan lebih banyak dan waktu yang lebih singkat. Elektroporasi dilakukan dengan meletakkan telur diatas buffer solution yang mengandung DNA dan dengan bantuan kejutan elektronik (*electrical pulses*), membran sel akan membuka dan memungkinkan material genetik yang ada di solution untuk masuk ke sel telur. Keberhasilan teknik elektroporasi ditentukan oleh voltase listrik, jumlah kejutan listrik dan frekwensi kejutan listrik.

Efisiensi transfer gen ditentukan oleh beberapa faktor diantaranya persentase penetasan (*hatching percentage*), frekwensi gen yang terintegrasi (*gene integration frequency*), jumlah sel yang biasa dimanipulasi per satuan waktu dan besarnya usaha yang diperlukan untuk melakukan manipulasi embrio. Dalam hal ini elektroporasi merupakan teknik yang paling baik untuk produksi ikan transgenik.

Potensi budi daya ikan komet di Indonesia

Ikan komet adalah salah satu strain ikan mas koki (*Carassius auratus auratus*). Ikan ini pertama dikembangkan di Amerika sekitar abad ke-19. Ikan komet umumnya berukuran kecil, yang dewasa berukuran kurang dari 10 cm. Di pasar harga ikan komet cukup murah dan banyak diminati konsumen ikan hias. Dibanding ikan mas koki, ikan komet memiliki ketahanan tubuh yang lebih baik. Saat ini ikan komet telah banyak dipelihara di akuarium sebagai pajangan dan mudah ditemukan di tempat penjualan ikan hias. Ikan komet dapat memijah sepanjang tahun, baik yang dipelihara di akuarium maupun di kolam.

Ikan komet memiliki ciri khas diantaranya bentuk tubuh dan warna yang mirip seperti ikan mas koki. Ciri yang membedakan ikan komet dengan ikan mas koki adalah ekornya lebih panjang dan bentuk badannya agak membulat tapi tak sebulat ikan mas koki. Perbedaan lainnya adalah ikan komet berekor tunggal sedangkan maskoki itu berekor ganda. Bentuk badan komet juga memanjang dan bisa bergerak

cepat seperti komet, sedangkan badan mas koki kebanyakan membulat dan renangnya lambat. Disamping itu ikan komet kebanyakan berwarna merah dan putih.

Ikan komet tergolong ikan pemakan segala (omnivora). Hal ini bisa dibuktikan dengan pemberian pakan dari sisa-sisa dapur atau tanaman lain yang lunak. Biasanya, benih ikan mas komet hanya memakan Protozoa dan Crustacea. Benih yang berukuran 10 cm memakan jasad dasar seperti chironomidae, Oligochaeta, Epeminiidae, Thricoptera, Tubificidae, Mollusca, dan lain sebagainya. Jasad-jasad tersebut dimakan bersama-sama dengan tanaman air yang membusuk dan bahan organik lainnya. Di alam danau atau sungai tempat hidupnya, ikan ini hidup menepi sambil mengincar pakan berupa binatang kecil yang hidup di atas lapisan lumpur tepi danau atau sungai. Berdasarkan kebiasaan makan ini, tentunya akan lebih mudah mendalami kemauan sang ikan dan kemampuan pengusaha ikan dikolam pekarangan untuk dapat memproduksi semaksimal mungkin. Kebiasaan hidup di alam ikan komet yang dipelihara di kolam atau akuarium dapat dipijahkan sepanjang tahun.

Rekayasa genetik ikan komet di Indonesia

Prinsip dasar teknik memproduksi ikan transgenik didasarkan pada beberapa tahapan penting yaitu penentuan spesies ikan merupakan tahapan pertama dalam teknologi ini. Menurut Chen (1994) secara umum transgenik ikan dilakukan atau diproduksi pada jenis ikan komersial dengan tujuan akhir mendukung peningkatan produksi ikan budi daya. Selain ikan komersial, penggunaan jenis ikan sebagai model untuk kepentingan penelitian, seperti halnya tikus putih yang digunakan sebagai model penelitian obat-obatan. Jenis ikan komet mempunyai beberapa karakteristik ideal. Ikan komet tersebut merupakan salah satu vertebrata kecil dengan panjang antara 16-20 cm. Karakter yang dimiliki ikan ini yaitu mudah bereproduksi, siklus hidup yang tidak terlalu lama, pemijahan terjadi sepanjang tahun baik secara alami maupun buatan, telur yang dihasilkan banyak bahkan ratusan, dan transparan, serta mudah untuk menerima dan mengekspresikan gen asing. Berdasarkan beberapa alasan tersebut, ikan komet dipilih sebagai ikan model untuk rekayasa genetika ikan.

Penelitian mengenai transfer gen terhadap ikan hias belum banyak dilakukan (medaka, zebrafish, tetra) dan gen spesifik yang diinsersikan juga terbatas pada fluorescent (GFP dan RFP). Penelitian pendahuluan terhadap ikan hias di Indonesia telah dilakukan dengan menggunakan model ikan komet dan diinsersi dengan *green fluorescent protein* (GFP) sebagai target yang diinginkan. Transfer gen hasil rekombinan yang telah dimurnikan diinsersikan ke dalam masing-masing telur ikan komet, yang merupakan tahapan selanjutnya dapat dilakukan dengan beberapa metode. Teknologi yang pertama kali dikembangkan dalam bidang bioteknologi transfer gen adalah mikroinjeksi. Transfer gen melalui teknik mikroinjeksi mempunyai banyak kelemahan, karena teknik membutuhkan ketrampilan yang tinggi. Efek dari teknik ini telur yang sedang diperlakukan terganggu sehingga tingkat keberhasilan kecil. Selain itu, hasil yang didapatkan tidak bisa banyak, mengingat pekerjaan yang manual satu persatu telur pada pembelahan satu sel diinjeksi.

Percobaan transfer gen GFP terhadap ikan komet melalui metode mikroinjeksi belum pernah berhasil sampai mendapatkan individu *founder*. Hal tersebut disebabkan banyaknya kesulitan dan hambatan seperti yang dikemukakan oleh Khoo *et al.* (1992) dan Chen (1994):

1. Memasukkan jarum mikroinjeksi ke dalam mikropil
2. Jarum mikroinjeksi sulit menembus korion telur komet yang agak keras

3. Perlu memindahkan cairan korion telur
4. Peralatan yang sangat mahal
5. Lambat dan cenderung menjemukan

Adanya kesulitan-kesulitan transfer GFP ikan komet dengan metode mikroinjeksi tersebut, berdasarkan pengembangan penelitian dalam transfer gen difokuskan pada metode elektroporasi. Adopsi metode ini didasarkan terhadap keberhasilan transfer gen ke dalam bakteri, jamur, sel tanaman, dan hewan. Prinsip metode ini adalah penggunaan secara singkat dan cepat rangsangan listrik untuk menembus membrane sel, sehingga memungkinkan masuknya molekul DNA ke dalam embrio. Metode ini memberikan harapan keberhasilan transfer gen ikan komet yang digunakan. Selain praktis, memerlukan waktu yang tidak terlalu lama, dapat menggunakan telur maupun sperma sebagai vektornya.

Karakterisasi ikan komet hasil transgenik merupakan tahap selanjutnya yaitu dengan identifikasi individu yang diduga berhasil sebagai ikan transgenik, identifikasi apakah benar telah mengalami penggabungan dengan genom ikan, identifikasi apakah sifat genetiknya diturunkan pada anaknya, dan identifikasi ekspresi dari produk gen tersebut secara fenotip apakah sesuai dengan yang diharapkan. Pada tahap identifikasi ini sangat mudah dilakukan terhadap ikan komet.

Identifikasi-identifikasi keberhasilan elektroporasi ikan komet dikembangkan menggunakan metode PCR. Kelebihan ikan komet sebagai model, telur dan sperma yang dihasilkan banyak sehingga dapat diambil sebagaikontrol positif dan negative dengan banyak ulangan. Hasil elektroporasi terhadap telur maupun sperma juga dapat dilakukan beberapa voltage, konsentrasi DNA, dan ulangan-ulangan. Warna tubuh ikan yang cukup kontras dengan konstruksi gen yang digunakan (GFP) sehingga secara nyata fenotipnya dapat diamati langsung. Pertumbuhan ikan komet yang relatif cepat sehingga identifikasi keturunan dapat secepatnya diketahui dengan tahap awal pada sirip, apabila belum matang gonad.

Simpulan

1. Perkembangan bioteknologi khususnya teknologi transgenik dapat diaplikasikan dan dikembangkan terhadap ikan-ikan hias Indonesia yang potensial.
2. Ikan komet (*Carassius carassius auratus*) merupakan ikan hias yang paling efektif untuk model rekayasa genetika selain murah, mudah didapatkan dan dikembangbiakkan, produksi banyak, dan dilakukan pemijahan buatan.

Senarai pustaka

- Chen, T.T. 1994. *Gene Transfer and Transgenic Fish: Molecular and physiological approach the action of growth hormone*. Chou L.M., Munro A.D., Lam T.J., Chen T.W., Cheong L.K.K., Ding J.K., Hooi K.K., Koo H.W., Phang V.P.E., Shim K.F. and Tan C.H. (editors). The third Asian Fisheries Forum. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, 584-590.
- Dunham. 1987. Status Of Genetically Modified (Transgenic) Fish: Research And Application. Department of Fisheries and Allied Aquacultures, Auburn University, Alabama, USA 36849.
- Khoo, H.W., L.H. Ang, H.B. Limand, and K.Y. Wong. 1992. Sperm cells as vectors for introducing forign DNA into zebra fish. *Aquaculture*, 107: 1-19.
- Ozato, K., K. Inoue, and Y. Wakamatsu. 1986. Transgenic fish: biological and technical problems. *Zoological Science*, 6: 445-457.
- Tsai, H. J. 2008. Use of Transgenic Fish Possessing Special Genes as Model Organisms and Potential Applications. *Journal of Genetics and Molecular Biology*. 19(1), 22-38.

- Yan, S.Y. and Özgünen, T. 1993. Fish breeding and biotechnology. Journal of islamic academy of sciences 6:3, 220-242.
- Zhu, Z., G. Li, L. He and S. Chen (1985). Novel gene transfer into the fertilized eggs of gold fish (*Carassius auratus* L. 1758). Z. Angew. Ichthyol., 1: 31-34.