

Transplantasi sel testikular ikan neon tetra *Paracheirodon innesi* pada benih ikan mas

Testicular cell transplantation of neon tetra *Paracheirodon innesi* into common carp fry

Alimuddin*, Odang Carman, Sri Setyo Wulandari

Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor
Kampus IPB Dramaga Bogor, Jawa Barat 16680

*Surel: alimuddin_alsani@yahoo.com

ABSTRACT

Neon tetra *Paracheirodon innesi* is an ornamental fish that have high export value. However, production is still relatively low due to low fecundity (approximately 180 eggs/female). Technology of testicular cell transplantation of neon tetra as donor to common carp as recipient fish which have high fecundity provides a promising way to overcome problem of neon tetra production. This research was performed to determine the optimum age of common carp fry that is able to receive donor cells and allow high success of transplantation. In this research, the testes of neon tetra fish were dissociated by 0.5% trypsin solution. The testicular cells were labeled with PKH-26 fluorescent dye, and then transplanted into the peritoneal cavity of seven, ten, and 14 days post hatching common carp fry. The results showed that the survival of seven day-old transplanted fry (31.25%) was lower than that of ten day-old (37.75%) and 14 day-old transplanted fry (56.25%). Percentage of fish colonized testicular cells donor at 21 days post-transplantation on seven days old and ten days old fry were similar (80%), while on 14 day-old fry was 60%. Based on the cumulative transplantation success rate (survival and colonization rates), transplantation on 14 days old fry (33.75%) showed higher result compared to transplantation on seven days old fry (25.00%) and ten day-old fry (30.00%). It can be concluded that transplantation of neon tetra testicular cells to common carp fry have been successfully carried out, and the optimum age of common carp fry to transplantation was 14 days after hatching.

Keywords: transplantation, colonization, testicular cells, common carp, neon tetra

ABSTRAK

Ikan neon tetra *Paracheirodon innesi* merupakan ikan hias yang memiliki nilai ekspor yang tinggi. Namun demikian, tingkat produksinya masih relatif rendah karena fekunditas ikan neon tetra yang sedikit (sekitar 180 telur/induk). Teknologi transplantasi sel testikular ikan neon tetra (ikan donor) ke ikan mas yang memiliki fekunditas telur yang banyak dan diharapkan mampu mengatasi ketersediaan benih ikan neon tetra. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan umur optimum benih ikan mas (calon ikan semang) yang mampu menerima sel donor dengan baik dan memiliki keberhasilan kolonisasi yang tinggi. Testis ikan neon tetra didisosiasi menggunakan larutan tripsin 0,5%. Sel testikular diwarnai dengan PKH-26, kemudian ditransplantasikan ke rongga peritoneal benih ikan mas umur tujuh, sepuluh, dan 14 hari setelah menetas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tingkat kelangsungan hidup ikan mas perlakuan transplantasi umur tujuh hari (31,25%) lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan transplantasi umur sepuluh hari (37,50%) dan 14 hari (56,25%). Persentase ikan terkolonisasi sel donor pada hari ke-21 pascatransplantasi pada benih umur tujuh dan sepuluh hari adalah sama (80%), sedangkan transplantasi benih umur 14 hari sebesar 60%. Berdasarkan keberhasilan transplantasi secara kumulatif (tingkat kelangsungan hidup dan kolonisasi), transplantasi pada benih umur 14 hari (33,75%) menunjukkan hasil lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan transplantasi pada benih umur tujuh hari (25,00%) dan benih umur sepuluh hari (30,00%). Transplantasi sel testikular ikan neon tetra pada benih ikan mas telah berhasil dilakukan, dan umur optimum benih ikan mas adalah 14 hari setelah menetas.

Kata kunci: transplantasi, kolonisasi, sel testikular, ikan mas, ikan neon tetra

PENDAHULUAN

Salah satu komoditas ikan hias yang memiliki peluang pasar tinggi adalah ikan neon tetra *Paracheirodon innesi*. Pasar ekspor ikan neon tetra mencakup wilayah Eropa, Amerika Serikat, dan Timur Tengah. Permintaan ikan neon tetra untuk ekspor mencapai dua juta ekor/bulan. Namun demikian, pada kenyataannya produksi ikan neon tetra belum dapat mencukupi permintaan pasar ekspor. Hal ini terkait dengan sarana dan prasarana produksi yang dimiliki petani masih terbatas sehingga produksi yang dihasilkan rendah. Selain itu, fekunditas atau jumlah telur yang dihasilkan induk ikan neon tetra yang sedikit, sekitar 180 telur/induk dengan rerata telur yang dibuahi sebanyak 46,1% membuat petani membutuhkan induk yang cukup banyak untuk memproduksi benih ikan neon tetra secara massal. Oleh karena itu, diperlukan sistem dan teknologi budidaya yang memadai atau upaya lain yang mampu menunjang produksi ikan neon tetra yang efisien.

Salah satu teknologi yang berpotensi tinggi dapat menunjang produksi benih ikan neon tetra secara efisien adalah teknologi transplantasi sel testikular. Teknologi ini dilakukan untuk merekayasa teknik produksi ikan target dengan memanfaatkan induk pengganti (*surrogate broodstock*). Teknologi ini telah diaplikasikan oleh Okutsu *et al.* (2006) yang melakukan transplantasi menggunakan *testicular germ cell* yang mengandung sel spermatogonia, dan Yoshizaki *et al.* (2010) dengan memanfaatkan sel oogonia dari ovarium ikan target yang belum terdiferensiasi ke dalam rongga peritoneal calon ikan semang, kemudian sel dari ikan target tersebut dapat berdiferensiasi menjadi telur atau sperma ikan target di dalam tubuh calon ikan semang. Ikan semang dapat menghasilkan ikan target apabila ikan semang yang membawa sperma dan telur yang berkembang dari sel donor itu dipijahkan (Okutsu *et al.*, 2006). Keberhasilan teknologi ini telah ditunjukkan Takeuchi *et al.* (2003), dengan memproduksi ikan *rainbow trout* (*Oncorhynchus mykiss*) menggunakan induk semang ikan *salmon masu* (*Oncorhynchus masou*). Hasil transplantasi dapat dioptimasi menggunakan ikan resipien triploid, sehingga dapat dihasilkan 100% larva ikan target (Okutsu *et al.*, 2007).

Peningkatan ketersediaan benih ikan neon tetra melalui metode transplantasi sel testikular diduga dapat dicapai dengan cara memproduksi secara massal benih ikan neon

tetra menggunakan induk semang ikan mas yang memiliki fekunditas yang relatif banyak, yaitu mencapai 85.000–125.000 butir telur/kg untuk ikan mas (*Cyprinus carpio*) strain majalaya, melalui teknologi transplantasi sel testikular. Teknologi transplantasi sel germinal yang diterapkan kali ini merupakan xenotransplantasi karena menurut klasifikasi ikan neon tetra dan ikan mas berasal dari ordo yang berbeda, yakni ordo Cypriniformes untuk ikan mas (Nelson, 2006) sementara ikan neon tetra merupakan anggota dari ordo Characiformes. Teknologi ini diharapkan dapat menghasilkan ikan mas yang mampu memproduksi benih ikan neon tetra secara berlipat ganda dibandingkan menggunakan induk ikan neon tetra. Pengembangan teknologi ini pada ikan hias, masih terbatas pada ikan zebra (Li *et al.*, 2011) dan ikan medaka (Hong *et al.*, 2004; Liu *et al.*, 2011).

Kecocokan ikan donor sebagai sumber sel germinal yang akan ditransplantasikan ke ikan resipien terlihat dari keberhasilan transplantasi, yaitu kolonisasi, proliferasi, serta diferensiasi sel dari ikan donor di dalam gonad ikan resipien (Okutsu *et al.*, 2006). Tahapan kolonisasi sel merupakan tahapan pertama yang menentukan keberhasilan transplantasi sel ke dalam tubuh calon ikan semang, sehingga parameter tersebut perlu untuk dianalisis. Selain itu, aspek penting yang perlu diperhatikan dalam teknologi transplantasi adalah ketepatan waktu transplantasi yang terkait dengan umur induk semang. Hal ini terkait dengan adanya mekanisme *rejection immune system* ketika sel donor ditransplantasikan ke dalam calon induk semang yang imun sistemnya telah berkembang sempurna. Oleh karena itu dilakukan penelitian mengenai umur optimum calon induk semang yang mampu menerima sel donor. Seperti yang telah dilaporkan Takeuchi *et al.* (2003) bahwa sel donor tidak terkolonisasi ketika calon induk semang (ikan *rainbow trout*) yang digunakan telah berumur 45 hari setelah fertilisasi. Calon induk semang yang digunakan dalam penelitian ini adalah larva ikan mas yang berumur tujuh, sepuluh, dan 14 hari setelah penetasan. Hal ini dilakukan dengan pertimbangan bahwa ukuran larva ikan mas terlalu kecil apabila dilakukan penyuntikan di bawah umur tujuh hari sehingga dapat menyulitkan dalam proses penyuntikan. Penelitian ini dilakukan untuk menentukan umur optimum larva ikan mas yang mampu menerima sel testikular ikan neon tetra dengan baik dan sehingga memiliki tingkat keberhasilan kolonisasi tinggi.

BAHAN DAN METODE

Optimasi teknik pengambilan sel testikular ikan neon tetra

Optimasi teknik pengambilan sel testikular diawali dengan pemilihan ikan neon tetra Ikan neon tetra jantan yang digunakan berukuran M, diperoleh dari petani ikan di Desa Cibereum, Bogor, Jawa Barat. Sebelum diambil gonadnya untuk transplantasi, ikan neon tetra dipelihara di akuarium berdimensi 100×50×50 cm³. Pakan berupa cacing sutera (*Tubifex* sp.) diberikan setiap hari selama masa pemeliharaan berlangsung. Ikan neon tetra jantan dapat dibedakan dengan melihat ciri-ciri morfologinya, yaitu pada garis sepanjang tubuh neon tetra jantan terlihat lurus dan tubuh jantan terlihat ramping. Teknik pengambilan sel testikular ikan donor meliputi disosiasi sel testikular ikan donor, dan pewarnaan sel testikular.

Disosiasi sel testikular ikan donor

Ikan neon tetra sebanyak 20 ekor dibedah dan diambil testisnya dengan bantuan mikroskop stemi DV4 Zeiss. Sebelum dilakukan proses disosiasi, testis dibersihkan menggunakan larutan penyangga garam fosfat (*phosphate buffer saline*, PBS). Tahap pertama yang dilakukan adalah testis dicacah selama sekitar lima menit. Setelah itu, sebanyak 1–2 mL larutan tripsin 0,5% dalam PBS dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi cacahan testis. Testis tersebut dicacah kembali dan diaduk menggunakan mikropipet menggunakan mikropipet selama lima menit sampai keruh dan terlihat buih membentuk suspensi sel. Selanjutnya, suspensi sel disaring dengan saringan ukuran 60 µm. Hasil penyaringan dimasukkan ke dalam tabung mikro, dan disentrifugasi selama sepuluh menit dengan kecepatan 12.000 rpm agar sel mengendap. Supernatan hasil sentrifugasi dibuang, dan sel dicuci sebanyak dua kali dengan PBS sebanyak 1 mL untuk menjaga sel agar tidak rusak dan membuang tripsin. Setelah itu, sel diresuspensi menggunakan PBS sebanyak 400 µL, dan dihomogenasi menggunakan vorteks. Suspensi sel diambil beberapa mikroliter untuk dihitung kepadatannya menggunakan hemositometer. Kepadatan sel diatur menjadi 40.000 sel/µL PBS.

Pewarnaan sel testikular ikan target

Pewarna sel pada penelitian ini menggunakan PKH-26 (SIGMA). PKH-26 merupakan penanda sel yang mewarnai membran sel sehingga sel tersebut akan berpendar warna merah ketika

diamati di bawah mikroskop berpendar filter merah (Gambar 1). Metode pewarnaan dilakukan dengan cara memasukkan sel testikular yang telah didisosiasi ke dalam tabung mikro. Kemudian 50 µL diluent C dimasukkan ke dalam tabung mikro yang berisi 50 µL suspensi sel (pada tabung A), lalu 100 µL diluent C yang telah dicampurkan pewarna PKH-26 sebanyak 3 µL ditaruh pada tabung B. Kemudian larutan pada tabung A dimasukkan pada larutan tabung B lalu disatukan. Setelah pengadukan tersebut, suspensi sel didiamkan selama sepuluh menit. Selanjutnya ditambahkan PBS sampai suspensi sel mencapai volume 1 mL. Suspensi sel disentrifugasi sebanyak dua kali dengan kecepatan 10.000 rpm pada suhu 20 °C selama sepuluh menit. Setelah itu, pelet sel diresuspensi dengan larutan PBS sebanyak 50 µL.

Persiapan benih ikan mas untuk transplantasi

Benih ikan mas yang digunakan berumur tujuh, sepuluh, dan 14 hari setelah menetas yang diperoleh dari pembudidaya ikan di Desa Situ Gede, Bogor. Benih tersebut dipelihara terlebih dahulu di akurium berukuran 100×50×50 cm³, diberi pakan berupa *Daphnia* sp. dan cacing sutera hingga larva siap ditransplantasi. Pemberian pakan dilakukan secara *at satiation*.

Teknik transplantasi dan perlakuan penelitian

Transplantasi sel dilakukan menggunakan alat mikroinjektor dengan bantuan mikroskop stemi DV4 Zeiss (Gambar 2a) untuk memudahkan penentuan posisi transplantasi. Sel testikular ikan neon tetra sebanyak 20.000 sel ditransplantasikan ke dalam rongga peritoneum benih ikan mas yang berumur tujuh, sepuluh, dan 14 hari setelah menetas (Gambar 2b). Jumlah ikan yang diperlakukan setiap kelompok umur adalah 80 ekor.

Evaluasi keberhasilan transplantasi

Keberhasilan transplantasi didasarkan pada persentase benih ikan mas yang terkolonisasi atau mengandung sel testikular ikan neon tetra dalam tubuhnya yang dideteksi di bawah mikroskop berpendar filter merah pada hari ketujuh, ke-14, dan ke-21 pascatransplantasi. Deteksi sel testikular dilakukan dengan mengambil sampel sebanyak lima ekor setiap perlakuannya. Kelangsungan hidup (KH) benih 30 hari pascatransplantasi serta keberhasilan transplantasi secara kumulatif diketahui dengan cara membandingkan antara kelangsungan hidup akhir dengan jumlah kolonisasi pada pengamatan hari ke-21 juga

dianalisis untuk mengetahui ketahanan benih ikan mas terhadap proses transplantasi. Data disajikan dalam bentuk tabel, gambar, dan dianalisis secara deskriptif.

Firdaus *et al.* (2013), ukuran sel spermatogonia paling besar (sekitar 5–10 µm), diikuti oleh spermatisit (sekitar 3–5 µm), spermatid, dan sel somatik (1,5–3 µm) (Gambar 3).

HASIL DAN PEMBAHASAN

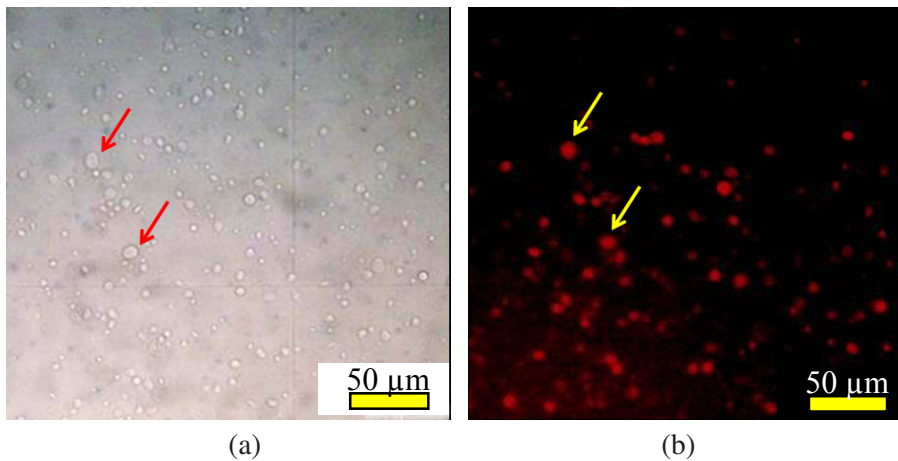
Hasil

Disosiasi sel testikular ikan neon tetra

Hasil disosiasi dari gabungan 20 testis ikan neon tetra menunjukkan jumlah sel testikular yang bervariasi (Tabel 1). Berdasarkan hasil penelitian

Kelangsungan hidup benih dan keberhasilan kolonisasi sel testikular

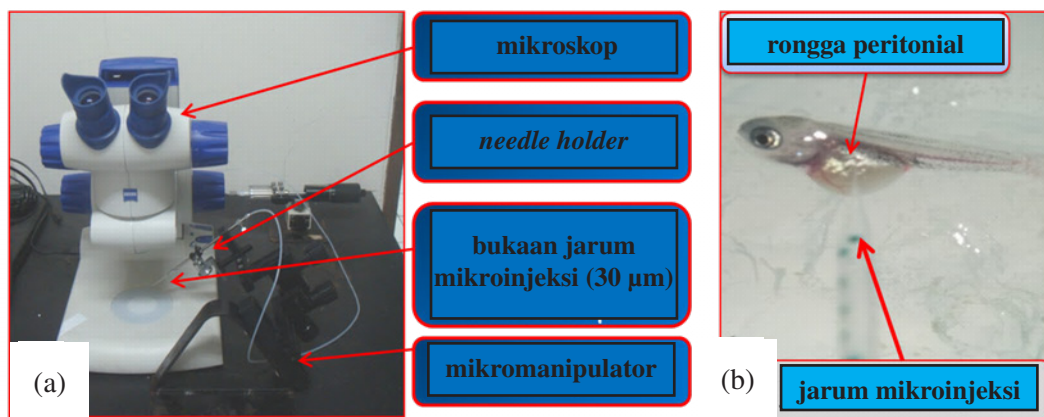
Tingkat kelangsungan hidup (KH) larva ikan mas yang diamati 30 hari pascatransplantasi disajikan pada Tabel 2. KH larva ikan mas yang ditransplantasi pada umur tujuh hari (31,25%) menunjukkan nilai yang paling kecil dibandingkan



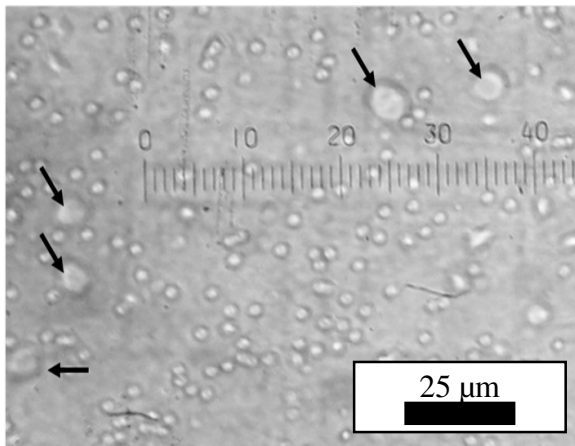
Gambar 1. Sel testikular ikan neon tetra *Paracheirodon innesi* setelah pewarnaan dengan PKH-26. a) Pengamatan sel testikular tanpa fluoresen; b) Pengamatan sel testikular dengan fluoresen. Garis skala setara dengan 50 µm.

Tabel 1. Jumlah sel testikular ikan neon tetra *Paracheirodon innesi* hasil disosiasi pada masing-masing perlakuan transplantasi

| Jumlah ikan (ekor) | Rerata panjang ikan (cm) | Jumlah sel testikular (sel) | Keterangan |
|--------------------|--------------------------|-----------------------------|---|
| 20 | 2,24±0,20 | 5.200.000 | Digunakan untuk transplantasi umur tujuh hari |
| 20 | 2,00±0,23 | 8.880.000 | Digunakan untuk transplantasi umur sepuluh hari |
| 20 | 2,20±0,22 | 7.660.000 | Digunakan untuk transplantasi umur 14 hari |



Gambar 2. (a) Satu set alat mikroinjektor dan (b) posisi transplantasi sel testikular ikan neon tetra *Paracheirodon innesi* ke rongga peritoneal benih ikan mas *Cyprinus carpio*.



Gambar 3. Sel testikular ikan neon tetra (*Paracheirodon innesi*) hasil disosiasi menggunakan tripsin 0,5%. Tanda panah menunjukkan sel spermatogonia.

dengan perlakuan lain. Dari data tersebut juga dapat diketahui adanya kecenderungan peningkatan KH seiring dengan meningkatnya umur larva ikan mas yang ditransplantasi; KH tertinggi diperoleh pada kelompok umur 14 hari.

Berdasarkan deteksi kolonisasi (Tabel 2) terlihat bahwa rerata kolonisasi setiap pengamatan menunjukkan nilai 80% untuk perlakuan transplantasi umur tujuh hari, 86,67% pada perlakuan transplantasi umur sepuluh hari, dan 73,33% pada perlakuan transplantasi umur 14 hari. Pada tabel juga terdapat dua perlakuan (transplantasi umur sepuluh hari dan 14 hari) yang mengalami kecenderungan penurunan persentase kolonisasi sel testikular pada setiap kali pengamatan. Apabila dilihat pada keberhasilan transplantasi secara kumulatif (Tabel 2), transplantasi yang dilakukan pada umur 14 hari memperlihatkan hasil yang tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lain, sehingga diduga perlakuan penyuntikan umur 14 hari merupakan perlakuan terbaik.

Sel berpendar yang ditunjukkan dengan tanda panah (Tabel 3) merupakan sel testikular ikan neon tetra yang telah diwarnai dengan PKH-26. Pengamatan pascatransplantasi hari ketujuh

disetiap perlakuan terlihat sel-sel testikular masih menyebar dan ada pula yang terlihat di sekitar daerah penyuntikan (sekitar rongga peritoneum). Pada pengamatan hari ke-14 dan ke-21 sel testikular ikan neon tetra sudah mulai terlihat berjajar ke arah *genital ridge* ikan mas.

Pembahasan

Salah satu teknologi yang berpotensi tinggi dapat menunjang produksi benih ikan neon tetra secara efisien adalah teknologi transplantasi sel testikular dengan memanfaatkan induk semang. Transplantasi sel testikular yang mengandung sel stem spermatogonia telah dilakukan, berhasil terkolonisasi pada gonad ikan calon induk semang, serta dapat berkembang menjadi telur dan sperma yang fungsional (Okutsu *et al.*, 2006). Sel testikular yang mengandung sel spermatogonia dari ikan target yang digunakan untuk proses transplantasi dapat diperoleh dengan cara disosiasi sel (pemisahan sel dari jaringan). Pada penelitian ini ikan neon tetra yang digunakan adalah ikan neon yang rata-rata berukuran M dengan kisaran ukuran panjang tubuh $2,00 \pm 0,23$ hingga $2,24 \pm 0,20$ cm untuk mengoptimasi pengambilan sel testikular yang banyak mengandung sel spermatogonia.

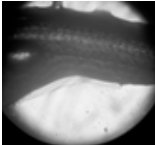
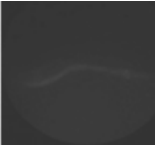
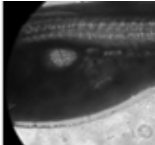
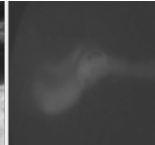
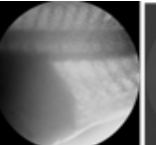
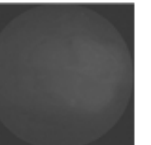
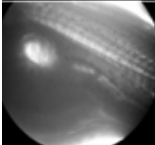

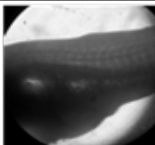

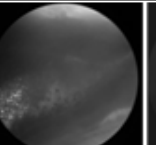
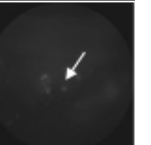
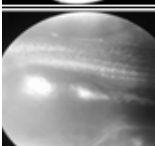
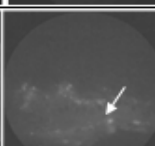
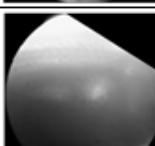

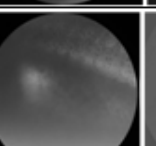
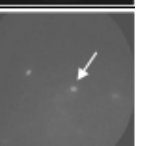
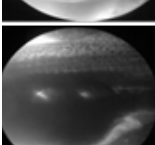
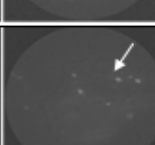
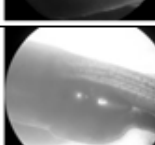
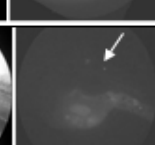
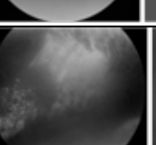
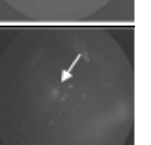
Pada penelitian ini telah berhasil diperoleh sel testikular hasil disosiasi gonad ikan neon tetra menggunakan tripsin 0,5% di dalam larutan PBS. Hasil disosiasi (Tabel 1) menunjukkan bahwa terdapat variasi jumlah sel testikular pada ikan target yang digunakan. Variasi jumlah sel testikular pada hasil disosiasi diduga terkait adanya variasi umur ikan dan status perkembangan gonad ikan neon tetra yang digunakan pada masing-masing proses disosiasi. Selanjutnya, perbedaan umur dan kematangan gonad ikan dapat menyebabkan perbedaan jumlah sel spermatogonia. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Takeuchi *et al.* (2009) yang menyatakan ikan *nibe croaker* (*Nibea mitsukurii*) muda umur tiga bulan memiliki

Tabel 2. Persentase kelangsungan hidup dan keberhasilan masuk serta terkolonisasinya sel testikular ikan neon tetra *Paracheirodon innesi* pada larva ikan mas *Cyprinus carpio* pascatransplantasi

| Perlakuan | Kelangsungan hidup (%) | Persentase keberhasilan sel testikular ikan neon tetra masuk dan terkolonisasi diamati pada | | | Keberhasilan transplantasi (%) |
|-------------------|------------------------|---|------------|------------|--------------------------------|
| | | Hari ketujuh | Hari ke-14 | Hari ke-21 | |
| Umur tujuh hari | 31,25 | 80 | 80 | 80 | 25,00 |
| Umur sepuluh hari | 37,50 | 100 | 80 | 80 | 30,00 |
| Umur 14 hari | 56,25 | 80 | 80 | 60 | 33,75 |

Keterangan: kolonisasi sel testikular ikan neon tetra pada benih ikan mas dideteksi dengan mengamati pendaran merah dari PKH-26 menggunakan mikroskop *fluoresens*.

Tabel 3. Hasil pengamatan kolonisasi sel testikular ikan neon tetra *Paracheirodon innesi* menggunakan mikroskop fluoresen

| Perlakuan | Pengamatan hari ketujuh | | Pengamatan hari ke-14 | | Pengamatan hari ke-21 | |
|----------------------------|---|---|---|--|---|---|
| Kontrol |  |  |  |  |  |  |
| Transplantasi hari ketujuh |  |  |  |  |  |  |
| Transplantasi hari ke-10 |  |  |  |  |  |  |
| Transplantasi hari ke-14 |  |  |  |  |  |  |

Keterangan: tanda panah menunjukkan spermatogonia ikan neon tetra yang berhasil terkolonisasi pada perbesaran 40 kali.

persentase jumlah spermatogonia yang lebih banyak dalam testisnya dibandingkan dengan ikan *nibe* berumur enam bulan dan 16 bulan.

Tingkat KH benih ikan mas diamati 30 hari pascatransplantasi untuk mengetahui tingkat ketahanan benih terhadap proses transplantasi. Pada Tabel 2 dapat dilihat bahwa KH transplantasi umur tujuh hari (31,25%) menunjukkan nilai yang paling kecil dibandingkan dengan perlakuan lainnya, yakni 37,50% pada transplantasi umur sepuluh hari, dan 56,25% pada transplantasi umur 14 hari. Pada Tabel 2 juga dapat diketahui adanya kecenderungan peningkatan KH seiring dengan meningkatnya umur benih ikan yang ditransplantasi. Dengan kata lain bahwa efek transplantasi terhadap kematian lebih besar pada benih yang lebih muda. Diduga umur benih yang lebih muda memiliki daya tahan tubuh lemah dan masih rentan terhadap gangguan fisik dari luar, sehingga proses transplantasi lebih berisiko mengenai organ lain yang dapat menyebabkan kerusakan organ tersebut sehingga benih dapat mudah mati se usai proses transplantasi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Takeuchi *et al.* (2009) bahwa resipien yang lebih kecil memiliki tingkat kelangsungan hidup yang lebih kecil juga, yang diperlihatkan dengan menurunnya KH larva dari 63,3% (pada resipien ikan *nibe* larva ukuran 6 mm) menjadi 2,9% (pada resipien 3 mm).

Kemampuan teknis dalam metode mikroinjeksi (transplantasi) sendiri memiliki peran penting terhadap keberhasilan masuknya sel target ke dalam rongga perut benih yang ditransplantasi.

Keberhasilan proses transplantasi ditunjukkan dengan adanya sel testikular dari ikan donor yang masuk, terkolonisasi, mengalami proliferasi dan diferensiasi sel di dalam gonad resipien. Pada penelitian ini masuknya sel testikular serta kolonisasi dalam gonad ikan mas dideteksi menggunakan pewarna sel (PKH-26). PKH-26 merupakan pewarna sel yang tidak beracun sehingga dapat dijadikan sebagai marka dalam proses transplantasi. Selain itu, metode identifikasi menggunakan pewarna PKH-26 lebih sensitif dibandingkan dengan metode PCR (Firdaus *et al.*, 2013).

Hasil penelitian menunjukkan persentase keberhasilan kolonisasi (Tabel 2) pada setiap pengamatan memiliki rerata 80% untuk perlakuan transplantasi umur tujuh hari, 86,67% pada perlakuan transplantasi umur sepuluh hari, dan 73,33% pada perlakuan transplantasi umur 14 hari. Terdapat empat ekor yang positif berpondar dari lima ekor ikan mas hasil transplantasi yang diperiksa. Selain itu, pada Tabel 2 terdapat dua perlakuan yang mengalami kecenderungan penurunan persentase kolonisasi sel testikular pada setiap kali pengamatan. Penurunan

persentase kolonisasi diduga oleh adanya kemampuan ikan dalam menolak sel dari luar. Nankivell dan Alexander (2010) 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, untuk ikan mas sendiri sekitar umur 16 hari setelah menetas pada suhu 20–22 °C.

Keberhasilan kolonisasi sel testikular ikan neon tetra di dalam tubuh ikan mas diduga disebabkan *rejection by immune system* resipien belum berkembang dengan sempurna sehingga resipien masih mampu menerima sel donor dari luar yang dimasukkan ke dalam rongga peritonealnya. Selain itu, keberhasilan kolonisasi dapat dipengaruhi oleh molekul atraktan yang dapat mendukung migrasi sel donor, dan atraktan ini biasa ditemukan dalam *genital ridge* pada larva yang baru menetas. Atraktan akan berkurang seiring dengan perkembangan gonad (Takeuchi *et al.*, 2003). Apabila dilihat dari keberhasilan transplantasi secara kumulatif (Tabel 2) menunjukkan bahwa transplantasi yang dilakukan pada umur 14 hari memperlihatkan hasil yang tinggi dibandingkan perlakuan lain. Dengan demikian perlakuan transplantasi pada umur 14 hari merupakan perlakuan yang lebih baik dari perlakuan lain karena jumlah ikan mas yang terkolonisasi lebih banyak dari perlakuan lain dan secara teknis penyuntikan benih ikan mas umur 14 hari lebih mudah dibandingkan benih benih umur tujuh hari. Benih umur tujuh hari masih kecil sehingga menyulitkan transplantasi.

Berdasarkan hasil deteksi sel menggunakan mikroskop berpendar diketahui sel yang berpendar yang ditandai oleh tanda panah (Tabel 3) merupakan sel testikular ikan neon tetra yang telah diwarnai dengan PKH-26. Pada pengamatan pascatransplantasi hari ketujuh pada setiap perlakuan terlihat sel-sel testikular yang berpendar masih menyebar dan ada pula yang terlihat pada sekitar daerah penyuntikan, yaitu sekitar rongga peritoneal. Pada pengamatan hari ke-14 dan ke-21 sel tersebut sudah mulai terlihat berjajar ke arah *genital ridge*. Hal ini sesuai dengan pernyataan Takeuchi *et al.* (2003) yaitu sebelum terinkorporasi di daerah genital (*genital ridges*) ikan resipien, sel donor tersebar pada rongga peritoneum dan kemudian menempel pada dinding peritoneum ikan resipien. Sel ikan donor menggunakan pseudopodia untuk bergerak ke arah *genital ridge*. Setelah terinkorporasi/terkolonisasi dalam *genital ridge*, sel sel

ikan donor akan berproliferasi dan berdiferensiasi hingga menjadi telur atau spermatozoa (Takeuchi *et al.*, 2003; Okutsu *et al.*, 2006; Yoshizaki *et al.*, 2010).

KESIMPULAN

Transplantasi sel testikular ikan neon tetra pada benih ikan mas telah berhasil dilakukan. Umur optimum benih ikan mas yang terbaik untuk ditransplantasi adalah 14 hari setelah menetas.

DAFTAR PUSTAKA

- Firdaus M, Alimuddin, Sumantadinata K. 2013. Transplantasi sel testikular ikan neon tetra *Paracheirodon innesi* pada larva ikan mas *Cyprinus carpio*. Jurnal Akuakultur Indonesia 12: 1–12.
- Hong Y, Liu T, Zhao H, Xu H, Wang W, Liu R, Chen T, Deng J, Gui J. 2004. Establishment of a normal medaka fish spermatogonial cell line capable of sperm production *in vitro*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 101: 8.011–8.016.
- Li P, White RM, Zon LI. 2011. Transplantation in zebrafish. Methods in Cell Biology 105: 403–417.
- Liu T, Liu L, Wei Q, Hong Y. 2011. Sperm nuclear transfer and transgenic production in the fish medaka. International Journal of Biological Science. 7: 469–475.
- Nankivell BJ, Alexander SI. 2010. Rejection of the kidney allograft. The New England Journal of Medicine 363: 1.451–1.462.
- Nelson JS. 2006. Fishes of the World, 4th Edition. New Jersey, USA: John Wiley & Sons, Inc. Hoboken.
- Okutsu T, Shikina S, Kanno M, Takeuchi Y, Yoshizaki G. 2007. Production of trout offspring from triploid salmon parents. Science 317: 15–17.
- Okutsu T, Suzuki K, Takeuchi Y, Takeuchi T, Yoshizaki G. 2006. Testicular germ cells can colonize sexually undifferentiated embryonic gonad and produce functional egg in fish. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 103: 2.725–2.729.
- 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: 1.055–1.063.

- Takeuchi Y, Yoshizaki G, Takeuchi T. 2003. Generation of live fry from intraperitoneally transplanted primordial germ cells in rainbow trout. *Biology of Reproduction* 6: 1.142–1.149.
- Yoshizaki G, Okutsu T, Ichikawa M, Hayashi M, Takeuchi Y. 2010. Sexual plasticity of rainbow trout germ cells. *Animal Reproduction* 7: 187–196.