

## Pertumbuhan gonad sidat *Anguilla bicolor bicolor* yang diinduksi kombinasi hormon HCG, MT, E<sub>2</sub>, dan antidopamin

### The gonad growth of *Anguilla bicolor bicolor* induced by hormone combination of HCG, MT, E<sub>2</sub>, and antidopamine

Abdul Zahri<sup>1</sup>, Agus Oman Sudrajat<sup>2\*</sup>, Muhammad Zairin Junior<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Teknologi Budidaya Perikanan, Politeknik Perikanan Negeri Tual  
Jalan Langgur-Sathean Km. 6, Kabupaten Maluku Tenggara 97612

<sup>2</sup>Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor  
Kampus IPB Dramaga Bogor, Jawa Barat 16680

\*Surel: omanipb@gmail.com

#### ABSTRACT

The aim of the study was to stimulate eel gonad growth by intramuscularly injection with a hormonal combination of human chorionic gonadotropin (hCG), methyltestosterone (T), estradiol (E<sub>2</sub>) and antidopamine (A) meanwhile 0.9% NaCl solution was used as control. Estradiol concentration in the blood serum were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Stimulation with hCG 20 IU/kg in combination with MT 3 mg/kg and 10 µg/kg antidopamine (hTA treatment) very effective for increased the growth of gonads with indicators gonadosomatic index (GSI) of 4.80%, hepatosomatic index 1.01% and concentration of E<sub>2</sub> 2.49±0.67 ng/mL were significantly different (P<0.05) than others treatment after ten weeks of application.

Key words: hormone, gonad growth, maturation, Indonesian short finned eel

#### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pertumbuhan gonad yang distimulasi oleh kombinasi *human chorionic gonadotropin* (hCG), metiltestosteron (MT), estradiol (E<sub>2</sub>) dan antidopamin (A). Ikan sidat disuntik dengan hormon dan 0,9% NaCl sebagai kontrol secara intramuskular. Pengukuran konsentrasi hormon E<sub>2</sub> dalam serum darah dengan *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA). Stimulasi dengan hCG 20 IU/kg dikombinasi dengan MT 3 mg/kg dan antidopamin 10 µg/kg (perlakuan hTA) sangat efektif untuk feminisasi dan meningkatkan pertumbuhan gonad dengan indikator indeks gonadosomatik (GSI) 4,80%, indeks hepatosomatik 1,01% dan konsentrasi E<sub>2</sub> 2,49±0,67 ng/mL, secara signifikan berbeda pada taraf P<0,05 dibandingkan perlakuan lain setelah sepuluh minggu aplikasi.

Kata kunci: hormon, pertumbuhan gonad, maturasi, sidat

#### PENDAHULUAN

Ikan sidat *Anguilla bicolor bicolor* merupakan ikan yang memijah sekali dalam siklus hidupnya dan secara alamiah dalam lingkungan budidaya sulit dipijahkan. Selain itu, secara morfologis jenis kelamin sulit dibedakan antara jantan dan betina, sehingga menjadi kendala untuk penentuan calon induk. Oleh karena itu untuk menunjang usaha budidaya, terutama pengadaan induk matang gonad diperlukan rangsangan dari luar dengan menyuntikkan hormon reproduksi. Rangsangan hormon eksogen pada prinsipnya untuk merangsang sidat memproduksi hormon endogen. Tingginya konsentrasi hormon eksogen dalam plasma darah oleh organ target tertentu

direspons dengan mengaktifkan fungsi-fungsi biologis tubuh, terutama pengaturan terhadap poros hipotalamus-pituitari-gonad.

Mekanisme pengaturan proses reproduksi merupakan kerja *follicle stimulating hormone* (FSH) dan *luteinizing hormone* (LH) (Cerdas-Reverter & Canosa, 2009) kemudian hormon-hormon steroid. Salah satu hormon eksternal yang memiliki kandungan FSH dan LH adalah *human chorionic gonadotropin* (hCG). Aplikasi hCG untuk membantu proses reproduksi dengan merangsang steroidogenesis (Miura & Miura, 2011), di antaranya sekresi testosteron dan estradiol (Singh *et al.*, 2009; Higuchi *et al.*, 2012).

Penyuntikan hormon metiltestosteron 3 mg/kg secara intramuskuler dikombinasikan dengan

20 mg/kg ekstrak pituitari salmon merangsang perkembangan gonad *A. japonica* (Wang & Lou, 2007). Penelitian lain menggunakan 10 ng/mL 11-ketotestosteron (11-KT) yang dikombinasikan dengan 5 mg/mL *very-low density lipoprotein* pada pertumbuhan previtelogenik oosit *A. japonica* dan membuktikan bahwa keadaan negatif bila dengan pemberian estradiol. Kondisi ini diduga diakibatkan tipe seksualitas sidat, juvenil tidak memiliki jaringan gonad yang jelas statusnya antara jantan atau betina (Lokman *et al.*, 2007; Endo *et al.*, 2011). Hormon 11-KT juga berperan selama adaptasi memasuki perairan laut (Lokman *et al.*, 2007). Fungsi gonadotropik tidak aktif selama sidat di air tawar, meskipun terpapar estrogen tinggi dan aktif saat mendekati lokasi pemijahan (Versonnen *et al.*, 2004). Laut memberikan kondisi yang baik untuk produksi sperma dan vitelogenin (Melia *et al.*, 2006; Ijiri *et al.*, 2011).

Dopamin pada banyak vertebrata berfungsi sebagai neurotransmitter yang berkontribusi pada fungsi hipotalamus dan pituitari (O'Connell *et al.*, 2013), dan dapat menghambat perkembangan gonad (Weltzien *et al.*, 2009). Dopamin juga berkontribusi menghambat fungsi  $E_2$ , yaitu memberikan efek terjadinya defeminisasi dan menjurus pada maskulinisasi serta mereduksi tingkah laku reproduksi (Wilson & Davies, 2007). Dopamin berperan penting dan merupakan faktor penentu tingkat kedewasaan seksual pada sidat (Taranger *et al.*, 2010). Menghambat aktivitas dopamin dapat merangsang sintesis dan sekresi LH di hipotalamus (Rousseau *et al.*, 2009). Oleh karena itu, dopamin perlu dihambat dengan bantuan antidopamin.

Penelitian ini bertujuan memanfaatkan kinerja hormon reproduksi untuk merangsang pertumbuhan dan pematangan gonad sidat, menjelaskan profil estradiol selama fase pertumbuhan dan pematangan gonad. Percepatan pertumbuhan gonad sidat dengan bantuan hormon

dapat membantu penyediaan induk matang gonad dalam kegiatan pembenihan.

## BAHAN DAN METODE

### Ikan uji

Penelitian ini menggunakan ikan sidat spesies *A. bicolor bicolor* yang diperoleh dari Balai Layanan Usaha Pengembangan Perikanan Budidaya (BLUPPB) Karawang. Sidat ditangkap di alam liar di daerah Segara Anakan pada fase *glass eel*. Di BLUPPB sidat dibesarkan dalam kolam air tawar selama tujuh bulan hingga mencapai berat  $100 \pm 15$  g dan panjang  $33,8 \pm 1,4$  cm. Sidat dibawa ke Kolam Percobaan Babakan IPB dan diaklimasi dalam dua bak beton ukuran  $3 \times 2 \times 1,5$  m<sup>3</sup>, diisi dengan air tawar setinggi 90 cm (volume 3.400 L). Bak pemeliharaan dilengkapi dengan potongan pipa paralon sebagai tempat berlindung sidat. Sidat dipelihara dengan kepadatan 250 ekor atau satu ekor per 15 L air dan diberi pakan pelet ukuran 3 mm dengan kandungan protein 46%. Pemberian pakan dilakukan satu kali sehari, yaitu pukul 18.30 secara *at satiation* dan secara rutin dilakukan penyiponan. Pemeliharaan dilakukan hingga sidat mencapai berat  $175 \pm 15$  g dan panjang  $38 \pm 3,60$  yaitu selama lima sampai enam bulan.

### Rancangan penelitian

Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap, dengan satu faktor. Perlakuan hormon yaitu  $E_2$ , MT, hCG, dan AD serta kombinasinya (Tabel 1). Bobot ikan sidat yang digunakan adalah  $200 \pm 15$  g dan panjang  $40,67 \pm 2,74$  cm, tiap perlakuan dikorbankan tiga ekor sidat untuk diambil darah, gonad dan hati. Sebanyak 1 mL darah diambil dari setiap sidat yang dikorbankan kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama tiga menit. Plasma darah dipipet dan dipindahkan pada ependorf baru untuk disimpan pada suhu  $-20$  °C. Gonad dan hati diawetkan

Tabel 1. Kombinasi, dosis, dan kode perlakuan

No.	Perlakuan	Dosis	Kode
1.	K	NaCl 0,9%	F
2.	AD	10 µg/kg	A
3.	$E_2$ +AD	3 mg/kg + 10 µg/kg	EA
4.	MT+AD	3 mg/kg + 10 µg/kg	TA
5.	hCG+ $E_2$ +AD	20 IU+ 3 mg/kg + 10 µg/kg	hEA
6.	hCG+MT+AD	20 IU+ 3 mg/kg + 10 µg/kg	hTA

Keterangan: K: kontrol, AD: antidopamin,  $E_2$ : estradiol, MT: metiltestosteron, hCG: *human chorionic gonadotropin*.

dengan larutan FAA (formalin, alkohol, dan asam asetat dengan perbandingan 1:1:0,5) dan ditambah dengan buffer fosfor 10%. Setiap perlakuan dan kontrol diulang tiga kali, maka unit percobaan yang melibatkan sebanyak:  $6 \times 3 = 18$  unit percobaan. Setiap unit percobaan terdiri atas masing-masing 27 ekor sidat uji.

### Penyuntikan hormon

Sebelum penyuntikan dilakukan, sidat ditenangkan dengan metode elektro-anestesi. Transformator *step down* 500 VA digunakan untuk menstabilkan arus listrik dan menurunkan tegangan 220 volt menjadi 110 volt AC. Sidat dibius secara berpasangan dengan ukuran yang relatif seragam, agar arus listrik yang melalui penampang tubuh sidat relatif sama dan terbius dalam waktu yang bersamaan. Waktu kontak pembiusan selama 20 sampai 25 detik. Sidat yang telah tenang didiamkan sejenak untuk relaksasi jaringan otot, kemudian diukur berat dengan timbangan digital dan panjang total dengan batang ukur. Kombinasi hormon dan kontrol disuntikkan secara intramuskular (IM) dipangkal sirip punggung. Penentuan dosis yang disuntikkan berdasarkan bobot ikan sidat, yaitu 1 mL/kg. Frekuensi penyuntikkan sebanyak enam kali dengan periode dua minggu sekali, sehingga jumlah penyuntikkan dan *sampling* adalah minggu awal, kedua, keempat, keenam, kedelapan dan kesepuluh.

### Pengukuran indeks gonadosomatik (GSI) dan indeks hepatosomatik (HSI).

Indeks gonadosomatik dan hepatosomatik indeks diamati dengan melakukan pembedahan dan penimbangan berat gonad serta berat hati. Sebelum ditimbang, organ dibersihkan dengan tisu yang sekaligus menyerap sebagian air dari permukaan gonad. Gonad dan hati ditimbang dengan timbangan digital ketelitian 0,01 g. Berat gonad dan berat hati selanjutnya dibandingkan dengan berat tubuh dan perbandingan berat gonad maupun berat hati dengan berat tubuh merupakan nilai GSI maupun nilai HSI. Perhitungan GSI dan HSI menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\text{GSI} = (\text{bobot gonad} / \text{berat tubuh}) \times 100$$

$$\text{HSI} = (\text{bobot hati} / \text{berat tubuh}) \times 100$$

### Pengukuran konsentrasi estradiol

Pengukuran konsentrasi hormon serum darah dilakukan di Laboratorium Unit Pemuliaan

Reproduksi FKH IPB, berdasarkan prosedur kit ELISA hormon  $E_2$ , DRG® EIA 2693 Instrument GmbH, Germany. Kit standar ditetapkan dengan konsentrasi bertingkat, yaitu: 25, 50, 100, 250, 500, 1000, dan 2000 pg/mL. Pengukuran menggunakan standar produk, yaitu sebanyak 20  $\mu\text{L}$  standar, kontrol dan sampel dipipet ke dalam sumur microplate ELISA secara duplo. Setiap sumur ditambahkan 200  $\mu\text{L}$  konjugat *horse radish peroxidase* (HRP). Sampel diinkubasi selama 60 menit pada suhu ruang (20–25 °C), kemudian dicuci sebanyak tiga kali dengan larutan pencuci (*wash solution*) 400  $\mu\text{L}$  tiap sumur. Sebanyak 100  $\mu\text{L}$  larutan substrat (*substrate solution*) ditambahkan ke dalam setiap sumur dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Larutan *stop solution* yang mengandung 0,5 mol  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ditambahkan ke dalam setiap sumur sebanyak 100  $\mu\text{L}$  untuk menghentikan reaksi enzimatik. Setelah sepuluh menit, kerapatan optik (*optical density*, OD) ditentukan pada panjang gelombang 450 nm dan dibaca menggunakan ELISA *reader* Bio-Rad 550. Limit deteksi uji ELISA yang digunakan untuk mendeteksi estradiol adalah 25 pg/mL.

### Analisis data

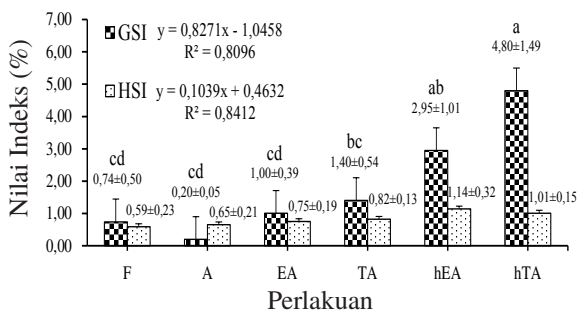
Data indeks gonadosomatik (GSI), indeks hepatosomatik (HSI), konsentrasi  $E_2$  dianalisis dengan sidik ragam (ANOVA). Perbedaan antarperlakuan diuji koefisien keragaman (KK) kemudian uji beda nilai tengah perlakuan. Bila  $\text{KK} > 10\%$  diuji dengan uji *Duncan*,  $\text{KK} 5\text{--}10\%$  dengan uji beda nyata jujur (BNJ), dan  $< 5\%$  menggunakan uji beda nyata terkecil (BNT). Data histologi gonad dianalisis secara deskriptif.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Perkembangan GSI dan HSI ikan sidat

Berdasarkan hasil penelitian, terlihat bahwa nilai GSI perlakuan hTA menunjukkan indikasi peningkatan pertumbuhan yang lebih tinggi di antara perlakuan lainnya. Secara statistik, terdapat perbedaan yang sangat nyata pada taraf  $P < 0,05$  terhadap kontrol dan perlakuan A, EA, TA, hEA. Pertumbuhan gonad sejalan dengan meningkatnya persentase GSI dan mencapai maksimal saat pemijahan. Persentase GSI sidat perlakuan hTA  $4,80 \pm 1,49\%$  lebih tinggi di antara perlakuan lainnya, mengindikasikan bahwa rangsangan yang dihasilkan perlakuan hTA yang diinjeksikan secara IM dua minggu sekali mampu meningkatkan GSI 4,06% dari kontrol.

Meningkatnya nilai GSI seiring dengan pertumbuhan oosit dan pada sidat betina berpengaruh pula pada pertumbuhan panjang dan berat tubuh. Penelitian ini menemukan bahwa sidat perlakuan hTA tumbuh hingga mencapai panjang  $61 \pm 7$  cm dan bobot  $490 \pm 77$  g tergolong besar bila dibandingkan dengan yang ditemukan oleh Van Ginneken *et al.* (2007) pada *A. anguilla* dengan panjang  $79,2 \pm 6,4$  cm dan bobot  $1.132 \pm 262$  g nilai GSI  $1,40 \pm 0,28\%$ . Hasil penelitian ini juga sesuai dengan Wang dan Lou (2007) yang menginjeksikan 3 mg/kg MT dicampur dengan 20 mg/kg *salmon pituitary homogenate* (SPH)



Gambar 1. Rata-rata GSI dan HSI tiap perlakuan minggu awal sampai minggu kesepuluh. Huruf yang sama berarti tidak berbeda nyata pada  $P < 0,05$ . Keterangan: F: kontrol, A: antidopamin, EA:  $E_2$  + antidopamin, TA: metiltestosteron + antidopamin, hEA: *human chorionic gonadotropin* +  $E_2$  + antidopamin, hTA = *human chorionic gonadotropin* + metiltestosteron + antidopamin.

pada *A. japonica* dengan bobot 450–550 g dengan nilai GSI 3,55%. Nilai GSI ini kontras dengan perlakuan  $E_2$  dengan nilai GSI 1,64% (Wang & Lou, 2007). Sementara penelitian yang pernah dilakukan pada *A. bicolor bicolor* yang ditangkap dari alam kemudian mendapat perlakuan dengan ekstrak pituitari *carp* dosis 0,5% bobot tubuh menghasilkan GSI 3,37% (Rovara *et al.*, 2008), sedangkan ikan sidat liar fase *silver eel* nilai GSI mencapai 2,88% (Rachmawati & Susilo, 2012).

Nilai HSI secara statistik tidak menunjukkan adanya perbedaan di antara perlakuan, tetapi secara histogram nilai HSI perlakuan hEA dan hTA lebih tinggi dari perlakuan lainnya. Karena hanya kedua perlakuan tersebut yang terdapat sidat betina, yaitu perlakuan hTA 66% dan perlakuan hEA 72%. Terjadinya perubahan kelamin dari jantan menjadi betina diakibatkan rangsangan dari estradiol. Estradiol merupakan hormon yang berperan terhadap feminisasi pada sidat. Sintesis dan sekresi  $E_2$  dikontrol oleh hCG. Tingginya konsentrasi  $E_2$  dalam darah

merangsang hati untuk mensintesis vitellogenin (Vtg). Rangsangan ini mengakibatkan sel-sel hepatosit membesar dan meningkatkan bobot hati. Vtg yang dihasilkan kemudian dimanfaatkan gonad untuk produksi kuning telur. Meningkatnya produksi kuning telur diikuti dengan peningkatan diameter oosit dan menambah berat gonad.

### Konsentrasi serum estradiol

Antidopamin yang diaplikasikan secara tunggal tidak memberikan rangsangan lebih baik dibandingkan kontrol. Konsentrasi serum hormon  $E_2$   $0,61 \pm 0,07$  ng/mL lebih rendah dari kontrol  $0,75 \pm 0,10$  ng/mL. Antidopamin diharapkan dapat menghambat dopamin pada poros hipotalamus-pituitari-gonad, tetapi tidak adanya sinyal untuk melangsungkan reproduksi dari poros hipotalamus, gonad tidak akan mensekresikan estradiol. Rousseau *et al.* 2009 menerangkan bahwa dengan menghambat aktivitas dopamin akan menstimulasi sintesis dan sekresi FSH dan LH di poros pituitari sehingga merangsang gonad untuk menyintesis dan menyekresikan estradiol.

Gambar 2 membuktikan bahwa kombinasi hormon dapat meningkatkan konsentrasi serum hormon  $E_2$ . Minggu ke-0 sampai minggu kedua pada perlakuan hEA dan hTA belum terjadi pergerakan konsentrasi. Peningkatan konsentrasi terjadi mulai minggu kedua hingga akhir penelitian, dengan koefisien determinasi 76,83%. Bila dihubungkan dengan gambar histologi gonad betina pada minggu keenam dan kedelapan, maka dapat mempertegas peran hormon  $E_2$  melalui fase vitelogenesis pada *A. bicolor bicolor*. Kemudian pada minggu kesepuluh oosit telah mencapai vitelogenesis akhir.

Perlakuan TA sangat efektif mempercepat perkembangan gonad jantan hingga maturasi dan berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ). Kondisi ini dimungkinkan karena MT merupakan hormon yang berfungsi untuk mempertegas status kelamin sidat menjadi jantan. Keberadaan MT juga berkontribusi pada aklimasi sidat di lingkungan air asin, sesuai dengan penelitian yang dilakukan Setiawan *et al.* (2012) bahwa hormon testosteron berperan dalam proses penyesuaian lingkungan saat sidat tiba di laut.

### Gambaran histologi gonad sidat jantan

Hasil histologi terhadap jaringan gonad didapatkan bahwa pertumbuhan gonad jantan telah mencapai tahap pematangan akhir pada perlakuan TA. Perlakuan A, EA, dan kontrol pertumbuhan gonad masih pada fase

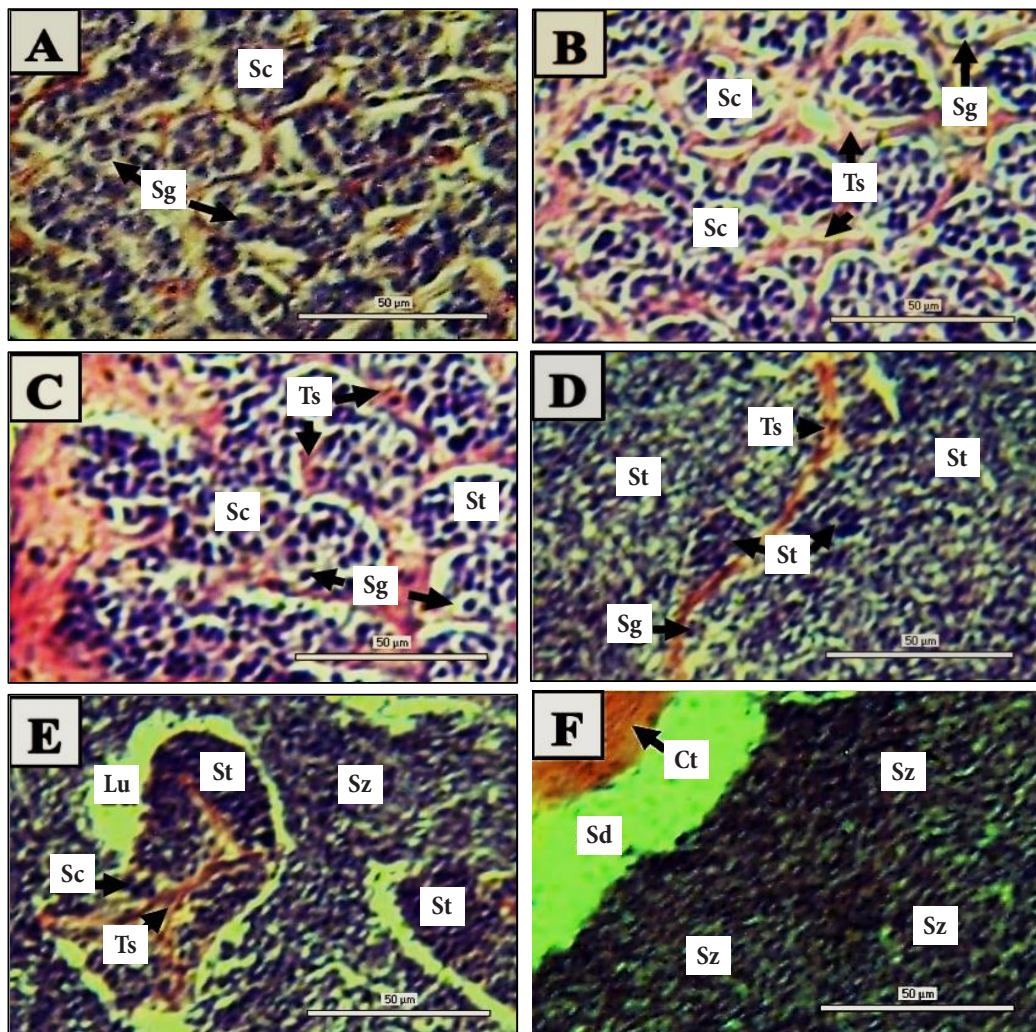
spermatogonia, sehingga dapat diwakili oleh Gambar 3 A, B, dan C. Gambar 3 menampilkan perkembangan testis perlakuan TA dari minggu ke-0 sampai minggu kesepuluh.

Saat spermatogenesis, sel dalam testis mengalami transformasi bentuk sel spermatogonia menjadi spermatozoa. Peningkatan volume testis terjadi terutama saat pematangan sel, yaitu saat sel spermatozoa meningkat kepadatannya sehingga tubulus seminiferus mengembang. Kondisi ini terjadi pada perlakuan TA yang memberikan hasil terbaik terhadap pertumbuhan testis.

Perkembangan organ testis hingga minggu keempat Gambar 3A, 3B, dan 3C masih pada fase spermatositogenesis, yaitu pertumbuhan spermatogonia dalam kista berwarna merah yang terdiri atas jaringan otot halus dan pembuluh darah. Spermatogonia dan spermatid merupakan

sperma yang belum memiliki ekor atau alat untuk pergerakan. Spermatositogenesis terjadi di lobular dalam kista yang berisi sel primer spermatogonia. Spermatogonia primer mengalami pembelahan mitosis menjadi spermatogonia sekunder. Spermatogonia sekunder kemudian menjadi spermatosit primer dan melakukan pembelahan miosis I menjadi spermatosit sekunder.

Pertumbuhan di minggu keenam dan kedelapan (Gambar 3D dan 3E) jaringan testis telah sampai pada fase spermatosit sekunder, ditandai dengan inti mengecil dengan sedikit sitoplasma dan sebagian masih terbungkus sel kista. Spermatosit sekunder selanjutnya bermetamorfosis menjadi spermatid melalui pembelahan miosis II, kemudian menjadi spermatozoa melalui proses spermiogenesis. Proses perkembangan spermatid menjadi spermatozoa tidak terjadi pembelahan



Gambar 3. Pertumbuhan gonad sidat *Anguilla bicolor bicolor* perlakuan TA. Gambar A–C: fase spermatogonia; D–E: fase spermiogenesis; F: fase maturasi. Ct: jaringan ikat; Lu: lumen; Sc: spermatosit; Sd: *spermiduct*; Sg: tipe A dan B spermatogonia; St: spermatid; Sz: spermatozoa; Ts: jaringan testikuler. Skala bar: 50 µm. Tahapan spermatogenesis diidentifikasi menurut Kagawa *et al.* (2009); Kazeto *et al.* (2008); Miura *et al.* (2003); Tomkiewicz *et al.* (2011).

sel, tetapi penyempurnaan bentuk sperma yaitu pembentukan kepala, leher dan ekor. Akhir proses spermiogenesis sel kista pecah dan melepaskan spermatozoa.

Minggu kesepuluh (Gambar 3F) testislobe penuh dengan massa spermatozoa dan dinding kista telah pecah sehingga spermatozoa menyebar di lumen testis. Massa spermatozoa ini telah mampu melakukan pergerakan karena memiliki ekor. Spermatozoa dengan warna biru mendominasi testislobe dalam cairan lumen berwarna putih. Saluran berwarna putih yang berada di antara massa spermatozoa dan epitelium yang berwarna oranye adalah spermiduk. Spermiduk merupakan saluran tempat keluarnya sperma menuju saluran urogenital.

Sesuai dengan gambaran histologi ditemukan gonad jantan yang telah berkembang mencapai tingkat maturasi. Perkembangan gonad jantan sebagaimana Gambar 3, yaitu minggu kedua dan keempat tingkat III: spermatogonia, minggu keenam dan minggu kedelapan telah mencapai tingkat IV: spermiogenesis dan minggu kesepuluh telah memasuki tingkat V: spermatozoa atau VI: maturasi (Miura *et al.*, 2003; Kazeto *et al.*, 2008; Kagawa *et al.*, 2009; Tomkiewicz *et al.*, 2011).

Pada perlakuan EA, A, dan F tidak ditemukan gonad jantan yang telah matang. Sebagian besar gonad berada dalam fase spermatogonia sekunder yang masih terbungkus kapsul seminiferus. Kondisi ini menegaskan bahwa peran testosteron sangat dominan dalam mempercepat pertumbuhan gonad jantan pada sidat. Testosteron merupakan hormon steroid yang mendorong maskulinisasi pada sidat tetapi tidak merangsang efek pertumbuhan tubuh, melainkan hanya berpengaruh terhadap spermatogenesis. Kondisi ini sejalan dengan penelitian terdahulu yang melakukan penyuntikan intramuskular 3 mg/kg MT dan dikombinasikan dengan 20 mg/kg ekstrak pituitari salmon merangsang perkembangan gonad *A. japonica* (Wang & Lou, 2007).

### Gambaran histologi gonad sidat betina

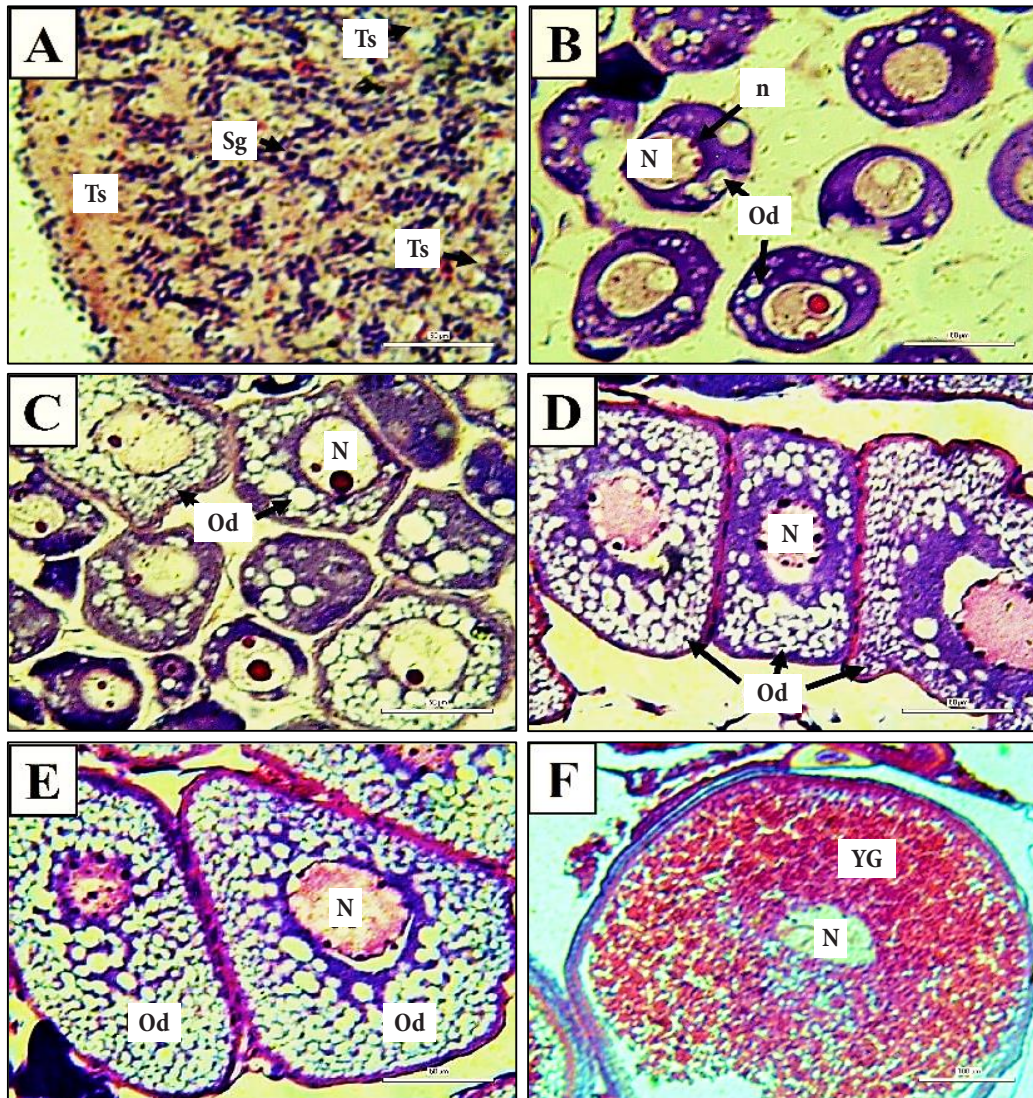
Berdasarkan pada tingkat pertumbuhan gonad yang digunakan oleh Lokman *et al.* (2001), Le Menn *et al.* (2007), dan Tomkiewicz *et al.* (2007), perkembangan oosit pada minggu kedua dan keempat telah mencapai fase IIIa dan IIIb yaitu fase pre-vitelogenesis yang ditandai dengan mulai terbentuknya butir kuning telur. Fase IIIa merupakan tahap perkembangan perinukleolus seperti terlihat pada Gambar 4B, yang ditandai dengan terbentuknya nukleolus di

sekitar selubung inti. Fase ini disebut juga tahap perkembangan *cortical alveoli* yang ditandai dengan pembentukan protein kuning telur dalam sitoplasma. *Cortical alveoli* akan berkembang bentuk, ukurannya dan terbentuk gelembung minyak (*primary lipid globule*) atau butir minyak (*oil droplet*). Diameter oosit sekitar 45–55  $\mu\text{m}$ . Pada Gambar 4C atau minggu keempat terdapat dua fase perkembangan oosit, yaitu fase IIIa dan fase IIIb. Perkembangan oosit fase IIIb merupakan tahap perkembangan perinukleolus yang disertai dengan semakin banyaknya butir minyak. Intensitas perkembangan butir minyak mengisi sebagian besar ootoplasma, akibatnya oosit tumbuh besar sampai 100  $\mu\text{m}$ .

Minggu keenam Gambar 4D dan kedelapan Gambar 4E telah mencapai fase vitelogenesis lanjut atau midvitelogenesis (fase IV). Gambaran histologis menunjukkan adanya formasi protein kuning telur (lipovitellin dan phosvitin) yang dihasilkan dari vitelogenin (Vtg). Karakteristik fase midvitelogenesis adalah bertambahnya jumlah dan ukuran kuning telur dan lemak disebagian besar ooplasma, pembentukan lapisan korion atau selubung vitelin di bawah lapisan *epithelium follicular*. Pada fase ini pertumbuhan oosit berlangsung cepat akibat semakin padatnya akumulasi kuning telur dalam ooplasma. Diameter oosit pada fase midvitelogenesis ini sekitar 400–450  $\mu\text{m}$ .

Pada minggu kesepuluh oosit telah mencapai fase V atau vitelogenesis akhir (*late-vitellogenesis*) yang diindikasikan dengan semakin meningkatnya jumlah butir kuning telur (*yolk granule*), selubung inti mengalami penyusutan, dan nukleolus melebur ke dalam nukleus. Tampilan topografi oosit memperlihatkan adanya penumpukkan *yolk granule* pada salah satu kutub oosit. Sebagian *yolk granule* bertumpuk dan melebur menjadi satu membentuk butir kuning telur yang lebih besar (*yolk globule*). Pada fase vitelogenesis akhir ukuran oosit telah tumbuh mencapai ukuran 550–650  $\mu\text{m}$ .

Apabila dibandingkan dengan diameter telur *A. japonica* pada fase VII nukleus migrasi dengan diameter oosit 650–700  $\mu\text{m}$  (Wang & Lou, 2007) dan *A. anguilla* (Tomkiewicz *et al.*, 2007) diameter oosit 550–650  $\mu\text{m}$  pada fase yang sama, ukuran oosit yang dihasilkan relatif seragam. Tetapi bila ditinjau dari ukuran sidat yang menghasilkan oosit, maka sidat *A. bicolor bicolor* yang digunakan dalam penelitian ini lebih kecil dari kedua jenis sidat tersebut. Sidat yang menghasilkan oosit terbaik dalam penelitian



Gambar 4. Pertumbuhan gonad sidat *Anguilla bicolor bicolor* perlakuan hTA. Gambar A: testis; B: oosit fase IIIa; C: oosit fase IIIb; D: oosit fase IV; E: oosit fase V; F: oosit fase VI. N: nukleus; n: nukleolus; Od: oil droplet; Sg: spermatogonia; Ts: jaringan testikular; YG: yolk globule. Skala bar: A–E = 50 µm; F = 100 µm. Tahapan oogenesis diidentifikasi menurut Adachi *et al.* (2003); Le Mann *et al.* (2007); Lokman *et al.* (2007); Palstra *et al.* (2007); Tomkiewicz *et al.* (2007); Chai *et al.* (2010).

ini memiliki berat  $364,33 \pm 76,59$  g dan panjang  $55,67 \pm 6,99$  cm sedangkan *A. japonica* bobotnya berkisar antara 450–550 g dan *A. anguilla* dengan bobot  $1.132 \pm 262$  g dan panjang  $79,2 \pm 6,36$  cm sehingga ukuran diameter oosit dari penelitian ini relatif besar. Ukuran oosit yang besar mengindikasikan terdapat banyak kuning telur. Kuning telur sangat dibutuhkan untuk menunjang hidup zigot selama fase embriogenesis. Setelah menetas kuning telur merupakan cadangan makanan sampai larva dapat mencari makan sendiri. Efek dari oosit yang besar mengakibatkan jumlah oosit dalam ovarium lebih sedikit, akibatnya fekunditas kecil.

Secara alamiah, ukuran dan jumlah telur ikan berbeda tergantung spesies, ukuran dan asupan nutrisi. Sidat yang digunakan dalam penelitian

ini dengan bobot  $200 \pm 15$  g, yaitu fase *yellow eel*. Pakan yang diberikan sebelum dan selama penelitian mengandung 46% protein. Protein yang tinggi menyediakan nutrisi yang dibutuhkan ikan sidat untuk menimbun energi dalam bentuk lemak. Lemak yang ditimbun ini merupakan cadangan energi yang dimanfaatkan untuk pertumbuhan gonad selama induksi perlakuan hormon.

Tingginya kinerja pertumbuhan gonad betina pada perlakuan hTA tidak terlepas dari peran hormon  $E_2$  yang tinggi dalam darah sidat. Tingginya  $E_2$  direspons oleh hati dengan memproduksi Vtg untuk menyusun kuning telur dalam oosit. Vtg merupakan protein yang dapat berikatan dengan materi lipid, komponen karbohidrat, kelompok fosfat dan garam-garam

mineral. Di dalam oosit, Vtg dipecah menjadi bahan baku kuning telur sebagai energi anabolik (lipovitelenin, lipovitelin, dan fosvitin).

Zat lipovitelenin merupakan *low-density lipoprotein* (LDL) dan kandungannya dalam oosit mencapai angka 65%. Komposisi lipovitellenin terdiri atas 11–17% protein dan 83–89% lipid, selanjutnya lipid tersusun dari 74% lipid netral dan 26% fosfolipid (Anton, 2007a). Pada bagian lain dijelaskan bahwa lipovitellin atau *high-density lipoprotein* (HDL) mencapai 16% kandungan dalam oosit. HDL tersusun dari 75–80% protein dan 20–25% lipid. Komponen lipid tersusun dari 65% fosfolipid, 30% trigliserida dan 5% kolesterol (Anton, 2007b). Fosvitin merupakan fosfoglikoprotein kandungannya dalam oosit 4% (Anton *et al.*, 2007). Dilihat dari komposisi Vtg tersebut dapatlah dimengerti bahwa ketersediaan cadangan energi dalam bentuk lemak berperan pada percepatan pertumbuhan oosit yang dirangsang oleh perlakuan hormon. Tanpa tersedianya bahan baku berupa cadangan energi, maka pembentukan Vtg di hati terhambat dan rangsangan hormon untuk memacu pertumbuhan dan maturasi tidak akan efektif.

### KESIMPULAN

Antidopamin secara tunggal atau kombinasi dengan E<sub>2</sub> tidak lebih baik daripada kontrol, tapi terdapat peningkatan bila dikombinasikan dengan metiltestosteron terhadap pertumbuhan gonad sidat *Anguilla bicolor bicolor*. Perlakuan A, EA, TA dan kontrol mempertahankan jenis kelamin jantan, dan TA efektif merangsang spermatogenesis sampai tahap maturasi. Perlakuan hEA dan hTA berpengaruh pada feminisasi dan di antara semua perlakuan, hTA memiliki kinerja tinggi terhadap pematangan oosit sampai fase vitelogenesis akhir dengan nilai GSI tertinggi.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami sampaikan kepada Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan yang telah membantu pendanaan penelitian ini melalui Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran (DIPA) Politeknik Perikanan Negeri Tual.

### DAFTAR PUSTAKA

Adachi S, Ijiri S, Kazeto Y, Yamauchi K. 2003. Oogenesis in The Japanese Eel *Anguilla*

*japonica*. In: Aida K, Tsukamoto K, Yamauchi K (eds). Tokyo: Springer-Verlag.

Anton M. 2007a. Low-density lipoprotein (LDL) or Lipovitellenin Fraction. In: Huopalahti R, López-Fandiño R, Anton M, Schade R (eds). Bioactive Egg Compounds. Berlin: Springer-Verlag.

Anton M. 2007b. High-density Lipoprotein (HDL) or Lipovitellin Fraction. In: Huopalahti R, López-Fandiño R, Anton M, Schade R (eds). Bioactive Egg Compounds. Berlin: Springer-Verlag.

Anton M, Castellani O, Guérin-Dubiard C. 2007. Phosvitin. In: Huopalahti R, López-Fandiño R, Anton M, Schade R (eds). Bioactive Egg Compounds. Berlin: Springer-Verlag.

Cerda-Reverter JM, Canosa LF. 2009. Neuroendocrine System of the Fish Brain. In: Farrell AP, Brauner CJ (eds). Fish Physiology 28: Fish Neuroendocrinology. USA: Academic Press.

Chai Y, Tosaka R, Abe T, Sago K, Sago Y, Hatanaka E, Ijiri S, Adachi S. 2010. The relationship between the developmental stage of oocytes in various seasons and the quality of the egg obtained by artificial maturation in the feminized Japanese eel *Anguilla japonica*. Aquaculture Science 58: 269–278.

Endo T, Todo T, Lokman PM, Kudo H, Ijiri S, Adachi S, Yamauchi K. 2011. Androgens and very low density lipoprotein are essential for the growth of previtellogenic oocytes from Japanese eel *Anguilla japonica in vitro*. Biology of Reproduction 84: 816–825.

Higuchi M, Celino FT, Miura C, Miura T. 2012. The Synthesis and Role of Taurine in the Eel Spermatogenesis. In: Kawaguchi M, Misaki K, Sato H, Yokokawa T, Itai T, Nguyen TM, Ono J, Tanabe S (eds). Interdisciplinary Studies on Environmental Chemistry. Environmental Pollution and Ecotoxicology 2012: 35–40.

Ijiri S, Tsukamoto K, Chow S, Kurogi H, Adachi S, Tanaka H. 2011. Controlled reproduction in the Japanese eel *Anguilla japonica* past and present. Aquaculture Europe 36: 13–17.

Kagawa H, Kasuga Y, Adachi J, Nishi A, Hashimoto H, Imaizumi H, Kaji S. 2009. Effects of continuous administration of human chorionic gonadotropin, salmon pituitary extract, and gonadotropin-releasing hormone using osmotic pumps on induction of sexual maturation in male Japanese eel *Anguilla japonica*. Aquaculture 296: 117–122.

Kazeto Y, Kohara M, Miura T, Miura C,



- Yamaguchi S, Trant JM, Adachi S, Yamauchi K. 2008. Japanese eel follicle-stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH): production of biologically active recombinant FSH and LH by *Drosophila* S2 cell and their differential actions on the reproductive biology. *Biology of Reproduction* 79: 938–946.
- Le Menn F, Cerda J, Babin PJ. 2007. Ultrastructural Aspects of The Ontogeny and Differentiation of Ray-Finned Fish Ovarian Follicles. *In: Babin PJ, Cerda J, Lubzens E (eds). The Fish Oocyte: from Basic Studies to Biotechnological Applications.* Berlin: Springer.
- Lokman PM, Wass RT, Sutter HC, Scott SG, Judge KF, Young G. 2001. Changes steroid hormone profiles and ovarian histology during salmon pituitary-induced vitellogenesis and ovulation in female New Zealand Longfinned Eels *Anguilla dieffenbachii* Gray. *Journal of Experimental Zoology* 289: 119–129.
- Lokman PM, George KAN, Divers SL, Algie M, Young G. 2007. 11-Ketotestosterone and IGF-I increase the size of previtellogenic oocytes from shortfinned eel *Anguilla australis* *in vitro*. *Reproduction* 133: 955–967.
- Melia P, Bavacqua D, Crivelli AJ, Panvilli J, De Leo GA, Gatto M. 2006. Sex differentiation of the European eel in brackish and freshwater environment: comparative analysis. *Journal of Fish Biology* 69: 1.228–1.235.
- Miura C, Miura T. 2011. Analysis of spermatogenesis using an eel model. *Aqua-BioScience Monographs (ABSM)* 4: 105–129.
- Miura T, Miura C, Yamauchi K. 2003. Spermatogenesis in the Japanese eel *Anguilla japonica*. *In: Aida K, Tsukamoto K, Yamauchi K (eds). Eel Biology.* Tokyo: Springer-Verlag.
- O'Connell LA, Fontenot MR, Hofmann HA. 2013. Neurochemical profiling of dopaminergic neurons in the forebrain of a cichlid fish *Astatotilapia burtoni*. *Journal of Chemical Neuroanatomy* 47:106–115.
- Palstra A, Curiel D, Fekkes M, De Bakker M, Székely C, Van Ginneken V, Van den Thillart G. 2007. Swimming stimulates oocyte development in European eel. *Aquaculture* 270: 321–332.
- Rachmawati FN, Susilo U. 2012. Kajian histologi ovarium ikan sidat *Anguilla bicolor* McClelland yang tertangkap di Segara Anakan Cilacap. *Hayati* 18: 47–49.
- Rousseau K, Aroua S, Schmitz M, Elie P, Dufour S. 2009. Silvering: Metamorphosis or Puberty? *In: Van den Thillart, Dufour S, Rankin JC (eds). Spawning Migration of The European Eel.* Berlin: Springer Science.
- Rovara O, Affandi R, Zairin MJr, Agungpriyono S, Toelihere MR. 2008. Pematangan gonad ikan sidat betina *Anguilla bicolor bicolor* melalui induksi ekstrak hipofisis. *Jurnal Ilmu-ilmu Perairan dan Perikanan Indonesia* 1: 69–76.
- Setiawan AN, Wylie MJ, Forbes EL, Lokman PM. 2012. The effects 11-ketotestosterone on occupation of downstream location and seawater in the New Zealand shortfinned eel *Anguilla australis*. *Zoological Science* 29: 1–5.
- Singh V, Singh PB, Srivastava S. 2009. Testosterone and estradiol-17 $\beta$  dependent phospholipid biosynthesis in ovariectomized catfish *Heteropneustes fossilis*. *Journal of Environmental Biology* 30: 633–640.
- Taranger GL, Carrillo M, Schulz RW, Pascal Fontaine P, Zanuy S, Felip A, Weltzien F-A, Dufour S, Karlsten O, Norberg B, Andersson E, Hansen T. 2010. Control of puberty in farmed fish. *General and Comparative Endocrinology* 165: 483–515.
- Tomkiewicz J, Lauesen P, Graver C, Jarlbaek H. 2007. Oogenesis and Maturation of European Eel Induced by Hormonal Treatment. Denmark: DTU Aqua Reports.
- Tomkiewicz J, Kofoed TMN, Pedersen JS. 2011. Assessment of testis development during induced spermatogenesis in the European eel *Anguilla anguilla*. *Marine and Coastal Fisheries: Dynamics, Management, and Ecosystem Science* 3: 106–118.
- Van Ginneken V, Durif C, Dufour S, Sbaihi M, Boot R, Noorlander K, Doornbos J, Murk AJ, Van den Thillart G. 2007. Endocrine profiles during silvering of the European eel *Anguilla anguilla* L. living in saltwater. *Animal Biology* 57: 453–465.
- Versonnen BJ, Goemans G, Belpaire C, Janssen CR. 2004. Vitellogenin content in European eel *Anguilla anguilla* in Flanders Belgium. *Environmental Pollution* 128: 363–371.
- Wang YS, Lou SW. 2007. Influence of exogenous gonadotropin sexual steroids on ovary development in *Anguilla japonica*. *Journal of Fish Science* 34: 261–273.
- Weltzien FA, Sebert ME, Vidal B, Pasqualini C, Dufour S. 2009. Dopamin inhibition of eel reproduction. *In: Van den Thillart G, Dufour*

S, Rankin JC (eds). Spawning Migration of the European Eel. Berlin: Springer Science.  
Wilson CA, Davies DC. 2007. The control of

sexual differentiation of the reproductive system and brain: review. *Reproduction* 133: 331–359.