

Feminisasi sidat, *Anguilla bicolor bicolor* Mc Clelland, 1844 melalui penyuntikan hormon estradiol dan metil testosteron yang dikombinasi dengan hCG dan anti dopamin

[Feminization of Indonesian short-finned eel (*Anguilla bicolor bicolor* Mc Clelland, 1844) through injection of estradiol and methyl testosterone at the combination with hCG and anti dopamin]

Abdul Zahri¹, Agus Oman Sudrajat², Muhammad Zairin Junior²

¹Politeknik Perikanan Negeri Tual, Maluku Tenggara

²Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor

Diterima: 16 Januari 2015; Disetujui: 05 April 2016

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk menjelaskan pengaruh estradiol (E₂) dan metil testosteron (MT) yang dikombinasikan dengan hCG dan anti dopamin (AD) terhadap persentase jenis kelamin betina dan kualitas perkembangan ovarium sidat (*Anguilla bicolor bicolor*). Sidat dengan bobot 200±15g pada fase *yellow* diinjeksi dengan larutan estradiol 3 mg mL⁻¹ + hCG, 2 mg mL⁻¹ + AD 10 mg mL⁻¹ (hEA), MT 3 mg mL⁻¹ + hCG 2 mg mL⁻¹ + AD 10 mg mL⁻¹ (hTA), estradiol 3 mg mL⁻¹ + AD 10 mg mL⁻¹ (EA), MT 3 mg mL⁻¹ + AD 10 mg mL⁻¹ (TA), AD 10 mg mL⁻¹ (A), dan kontrol 9 mg mL⁻¹ NaCl (F). Frekuensi injeksi sebanyak enam kali dengan periode dua minggu sekali. Pemberian hormon kombinasi dengan perlakuan hEA dan hTA ternyata efektif meningkatkan persentase jenis kelamin betina berturut-turut sebesar 72% dan 66% setelah enam minggu. Perkembangan gonad betina terbaik ditemukan pada perlakuan hTA yaitu mencapai fase vitellogenesis akhir dengan nilai GSI 4,80%

Kata penting: hormon, feminisasi, perkembangan gonad, sidat

Abstract

The objective of the experiment was to describe the influence of estradiol (E₂) and methyltestosterone (MT) in combination with hCG and anti-dopamine (AD) on the percentage of female and quality of ovary development of Indonesian short-finned eel (*Anguilla bicolor bicolor*). Eel with 200±15 g of body weight in the *yellow* phase injected with a estradiol solution of 3mg mL⁻¹ + hCG 2mg mL⁻¹ + AD 10 mg mL⁻¹ (hEA), MT 3 mg mL⁻¹ + hCG 2 mg mL⁻¹ + AD 10 mg mL⁻¹ (hTA), estradiol 3 mg mL⁻¹ + AD 10 mg mL⁻¹ (EA), MT 3 mg mL⁻¹ + AD 10 mg mL⁻¹ (TA), AD 10 mg mL⁻¹ (A) and 9 mg mL⁻¹ NaCl control (F). Injection frequency was six times with a period of two weeks. After six weeks of experiment, EA and hTA combination hormone treatments were effective to increase the female percentage 72% and 66%, respectively. The best ovary development was found in the hTA treatment i.e. attain the late-vitellogenesis with GSI value of 4.80%.

Keywords: hormone, feminization, gonad growth, Indonesian short-finned eel

Pendahuluan

Penentuan jenis kelamin secara morfologis pada sidat masih sulit dilakukan, karena antara sidat jantan dan betina memiliki kemiripan bentuk fisik. Selama ini, penentuan jenis kelamin dilakukan melalui pembedahan, yaitu membandingkan perbedaan pada morfologi gonad. Sidat yang telah mencapai fase *silver* atau sedang melakukan ruaya pemijahan dapat dibedakan berdasarkan ukuran tubuh yakni sidat betina cende-

rung lebih besar daripada sidat jantan. Yokouchi *et al.* (2009) menemukan bahwa *Anguilla japonica* yang tertangkap pada fase *silver* dengan usia 8-9 tahun, ukuran panjang betina 659,3±65,6 mm dan bobot 474,2±164,3 g lebih besar daripada jantan 527,7±47,7 mm dan bobot 219,8±61,4 g. Demikian pula yang ditemukan Sugeha *et al.* (2009) pada *A. bicolor bicolor*. Namun dalam lingkungan budi daya, sidat yang matang secara seksual atau mencapai fase *silver* jarang ditemukan, sehingga penentuan calon induk jantan dan betina masih sulit dilakukan sejak fase *yellow*.

Penulis korespondensi
Surel: zalwie_25@yahoo.co.id

Banyak penelitian telah membuktikan bahwa sidat yang dibudidayakan membentuk populasi kelamin tunggal, yaitu seluruhnya jantan. Penelitian yang pernah dilakukan pada sidat Jepang *A. japonica* menemukan bahwa sidat liar yang ditangkap dan dipelihara 100% menjadi jantan, sedangkan yang tetap hidup liar sebagian besar adalah betina (Chu *et al.* 2006). Selanjutnya dijelaskan pula bahwa sidat yang dipelihara tersebut bila dilepaskan kembali ke alam liar, sebagian diantaranya dapat menjadi betina. Sidat Jepang yang dikoleksi dari alam pada fase *early-silver* diketahui memiliki rasio jenis kelamin jantan 77%, kemudian setelah fase *late-silver* 67% adalah ikan betina (Yokouchi *et al.* 2009). Kondisi yang sama ditemukan pula pada *A. australis* (Kearney *et al.* 2011) dan *A. anguilla* (Tomkiewicz *et al.* 2011). Oleh karena itu, dalam lingkungan budi daya perlu rekayasa melalui rangsangan hormon untuk mendapatkan sidat betina.

Pemanfaatan hormon untuk mendapatkan jenis kelamin tertentu dan kematangan gonad pada ikan sidat telah banyak dilakukan. Estradiol-17 β (E₂) diketahui memiliki kemampuan untuk mendorong proses oogenesis, sedangkan testosteron (T) merangsang spermatogenesis. Sejumlah penelitian membuktikan bahwa E₂ berperan merangsang proses vitellogenesis, seperti pada *Rhamdia quelen* dengan konsentrasi 10 mg kg⁻¹ bobot tubuh (Costa *et al.* 2010); *Heteropneustes fossilis* dengan konsentrasi 28 mg kg⁻¹ bobot tubuh (Singh *et al.* 2009); feminisasi pada *Lepomis macrochirus* dengan dosis 150 mg kg⁻¹ pakan (Wang *et al.* 2008). Estradiol juga merangsang aktifitas sel sertoli untuk menyalurkan energi pada gonad (Miura *et al.* 2003) dan melindungi sel germinal (Higuchi *et al.* 2012). Metil testosteron (MT) yang dikombinasikan dengan ekstrak pituitari salmon juga efektif merangsang oogenesis (Wang & Lou 2007).

Kebutuhan induk berkualitas untuk menunjang pembenihan sidat mutlak diperlukan. Sidat yang ditangkap dari alam umumnya berkelamin jantan sehingga perlu direkayasa untuk mendapatkan sidat betina. Sidat betina hasil rekayasa memiliki kualitas gonad yang beragam, sehingga feminisasi merupakan salah satu cara untuk mendapatkan induk betina yang mampu menghasilkan telur yang berkualitas baik sebagai bagian dari kegiatan reproduksi. Mekanisme pengaturan internal proses reproduksi merupakan kerja *follicle stimulating hormone* (FSH) dan *luteinizing hormone* (LH) (Cerdeira-Reverte & Canosa 2009). 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), seperti sekresi testosteron dan E₂. Tingginya konsentrasi *testosterone eksogenous* dapat dikonversi menjadi E₂ oleh enzim aromatase (Uno *et al.* 2012), kemudian dengan peningkatan E₂ diharapkan terjadi proses feminisasi (Singh *et al.* 2009, Higuchi *et al.* 2012).

Penyuntikan intramuscular 3 mg kg⁻¹ MT dikombinasikan dengan 20 mg kg⁻¹ ekstrak pituitari salmon merangsang perkembangan gonad *A. japonica* (Wang & Lou 2007). Selain itu, aplikasi 10 ng mL⁻¹ 11-ketotestosteron (11-KT) dicampur dengan 5 mg mL⁻¹ *very low density lipoprotein*, efektif pada perkembangan previtellogenik oosit *A. japonica* kontras dengan E₂. Fenomena ini terjadi akibat tipe seksualitas sidat yaitu tidak jelasnya status antara jantan atau betina terutama pada fase *elver* sampai fase *yellow* (Endo *et al.* 2011, Lokman *et al.* 2007). Hormon testosteron juga berperan selama adaptasi sidat 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 merupakan pemicu untuk perubahan kelamin dan vitellogenesis (Melia *et al.* 2006). Peran aromatisasi juga menentukan perubahan kelamin (Uno *et al.* 2012). Kondisi ini membuktikan peran E₂ dan T secara kombinasi dengan hormon lain merangsang perubahan kelamin dan perkembangan gonad (Ijiri *et al.* 2011).

Dopamine pada banyak vertebrata berfungsi sebagai neurotransmitter yang berkontribusi pada fungsi hipotalamus dan hipofisis (O'Connell *et al.* 2013), dan dapat menghambat perkembangan gonad (Weltzien *et al.* 2009). Dopamin juga berkontribusi menghambat fungsi E₂, efeknya terjadi defeminisasi dan menjurus pada maskulinisasi serta mereduksi tingkah laku reproduksi (Wilson & Davies 2007). Dopamin memegang peran penting dan merupakan faktor penentu pendewasaan seksual pada sidat (Taranger *et al.* 2010). Keberadaan dopamin akan menghambat rangsangan terhadap poros hipotalamus-pituitari-gonad (Rousseau *et al.* 2009), sehingga dopamin perlu diblokir dengan anti dopamin (AD).

Berdasarkan latar belakang yang dikemukakan, feminisasi sidat menjadi penting dilakukan untuk menunjang budi daya sidat, dan penelitian ini dapat menjadi awal yang baik untuk mendukung produksi sidat dan kelestariannya. Penelitian ini bertujuan untuk menjelaskan pengaruh E₂ dan MT yang dikombinasikan dengan hCG dan AD terhadap persentase jenis kelamin betina dan kualitas perkembangan ovarium sidat (*A. bicolor bicolor*). Upaya menyiapkan stok induk betina matang gonad diharapkan dapat mendukung upaya pembenihan sidat.

Bahan dan metode

Penelitian dilakukan mulai bulan Juli sampai September 2014. Spesies sidat *A. bicolor*

bicolor dari fase *yellow* dengan bobot 200±15 g sebanyak 162 ekor diperoleh dari Balai Layanan Usaha Pengembangan Perikanan Budidaya (BLUPPB) Karawang. Sidat dipelihara dan diuji di kolam percobaan Babakan, FPIK-IPB, pada bak beton kapasitas 3400 liter yang diisi dengan air laut salinitas 35 ppt. Selama pemeliharaan dan pengujian, sidat diberi pakan pellet dengan kandungan protein 46% yang diberikan secara *at satiation* sekali sehari pada pukul 18:30.

Sidat ditenangkan dengan metode elektroanaesthesia dengan tegangan 110V AC dan waktu kontak 25 detik. Penyuntikan hormon dilakukan secara intramuscular (IM) di pangkal sirip punggung dengan dosis 1 mL kg⁻¹. Frekuensi penyuntikan enam kali dengan periode dua minggu, sehingga diperoleh waktu penyuntikan dan sampling adalah minggu ke-0, ke-2, ke-4, ke-6, ke-8 dan ke-10. Mikroskop cahaya Olympus yang terhubung dengan komputer digunakan untuk mendapatkan gambar preparat histologis gonad dengan pembesaran 4× dan 10×. Gambar histologis gonad diolah dengan piranti lunak Image Raster.

Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Perlakuan berupa kombinasi hormon dengan enam perlakuan dan tiga ulangan sebagaimana diuraikan pada Tabel 1. Pada tabel tersebut ditampilkan hormon yang digunakan, kombinasi, dan dosisnya. Pemberian kode dilakukan untuk mempermudah pelaporan hasil.

Parameter yang diamati meliputi perubahan kelamin sidat, perkembangan gonad dan indeks kematangan gonad (IKG). IKG dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$IKG = \frac{Bg}{Bt} \times 100$$

Keterangan: Bg= bobot gonad (g); Bt= bobot tubuh (g)

Data dianalisis dengan sidik ragam dan beda nilai tengah perlakuan diuji dengan *Duncan Multiple Range Test*.

Hasil

Komposisi perubahan jenis kelamin sidat

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada sampling minggu ke-0 ditemukan populasi sampel berkelamin jantan sebesar 100% pada semua perlakuan. Perubahan jenis kelamin mulai ditemukan pada pengamatan minggu ke-2 hingga akhir penelitian dengan komposisi sebagaimana tertera pada Tabel 2.

Perkembangan gonad sidat selama perlakuan hormon

Berdasarkan gambaran nilai IKG (Gambar 1), terlihat bahwa nilai IKG pada perlakuan hTA menunjukkan adanya indikasi peningkatan perkembangan yang lebih tinggi dibanding perlakuan lainnya. Secara statistik, pemberian kombinasi hormon hCG + MT + AD dengan frekuensi penyuntikan sebanyak enam kali selama 10

minggu memberikan pengaruh yang sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap nilai IKG perlakuan F, A, EA, TA dan berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap perlakuan hEA.

Gambaran histologis gonad sidat selama perlakuan hormon

Gambaran histologis gonad pada minggu ke-0 menunjukkan bahwa ternyata jenis kelamin sidat adalah jantan dengan indikator adanya testis. Tingkat perkembangan gonad betina atau ovarium telah mencapai fase III pada perlakuan hEA dan fase VI pada perlakuan hTA. Meskipun pada minggu ke-0 seluruh sampel berkelamin jantan, tetapi dari pola perkembangan gonad dari minggu ke-2, ke-4, ke-6, ke-8 dan ke-10 (Gambar 2) menunjukkan adanya kinerja yang tinggi dari perlakuan hTA terhadap perkembangan gonad dibandingkan dengan perlakuan hEA.

Tabel 1. Kombinasi dan dosis perlakuan

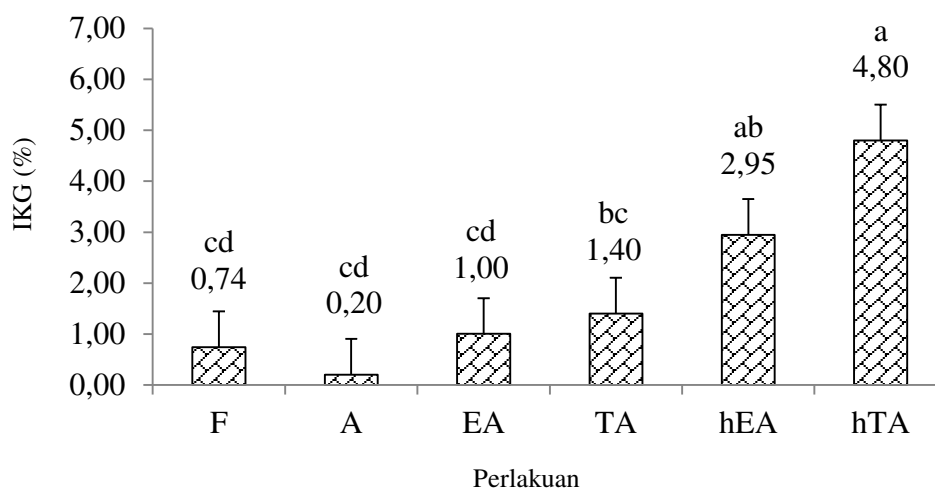
No.	Perlakuan	Dosis (mg mL ⁻¹)					Kode
		hCG	E ₂	MT	AD	NaCl	
1.	K	-	-	-	-	9	F
2.	AD	-	-	-	10	-	A
3.	E ₂ +AD	-	3	-	10	-	EA
4.	MT+AD	-	-	3	10	-	TA
5.	hCG+E ₂ +AD	2	3	-	10	-	hEA
6.	hCG+MT+AD	2	-	3	10	-	hTA

K: kontrol; AD: antidopamin; E₂+ AD: estradiol + antidopamin; MT + AD: metiltestosteron + antidopamin; hCG + E₂ + AD: *human chorionic gonadotropin* + metiltestosteron + antidopamin; hCG + MT + AD: *human chorionic gonadotropin* + metiltestosteron + antidopamin.

Tabel 2. Perubahan jenis kelamin sidat akibat rangsangan hormon selama penelitian

No.	Perlakuan	Minggu ke-					
		0	2	4	6	8	10
1.	F	3♂	3♂	3♂	3♂	3♂	3♂
2.	A	3♂	3♂	3♂	3♂	3♂	3♂
3.	EA	3♂	3♂	3♂	3♂	3♂	3♂
4.	TA	3♂	3♂	3♂	3♂	3♂	3♂
5.	hEA	3♂	3♀	3♀	1♂2♀	1♂2♀	3♀
6.	hTA	3♂	3♀	1♂2♀	1♂2♀	1♂2♀	3♀

F: kontrol; A: antidopamin; EA: estradiol + antidopamin; TA: metil testosterone + antidopamin; hEA: *human chorionic gonadotropin* + metiltestosteron + antidopamin; hTA: *human chorionic gonadotropin* + metiltestosteron + antidopamin. ♂: jantan; ♀: betina; n = 18.



Gambar 1. Rata-rata GSI tiap perlakuan selama perlakuan hormon

Huruf yang sama diatas tiap balok data berarti tidak berbeda nyata pada $P < 0,05$. F = kontrol, A = anti dopamin, EA = E_2 + anti dopamin, TA = metil testosteron + anti dopamin, hEA = *human chorionic gonadotropin* + E_2 + anti dopamin, hTA = *human chorionic gonadotropin* + metil testosteron + anti dopamin.

Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan adanya sinergi yang kuat antara kombinasi hormon pada perlakuan hEA dan hTA terhadap perubahan jenis kelamin dari jantan menjadi betina. Perlakuan hTA dan hEA berpengaruh terhadap feminisasi pada sidat sebesar 66% dan 72% dari populasi sampel. Pada semua perlakuan yang tidak dikombinasikan dengan hCG tidak didapatkan sidat betina. Kondisi ini sejalan dengan Ijiri *et al.* (2011) yang menyatakan bahwa hormon E_2 dan T secara kombinasi dengan hormon lain mampu merangsang perubahan kelamin dan perkembangan gonad sidat, namun pada minggu ke-0 dan perlakuan lainnya 100% adalah ikan jantan. Temuan serupa juga dilaporkan oleh Fernandino *et al.* (2013) dan Kearney *et al.* (2011) yang menyatakan bahwa sidat yang dibudidayakan lebih berpotensi menjadi jantan.

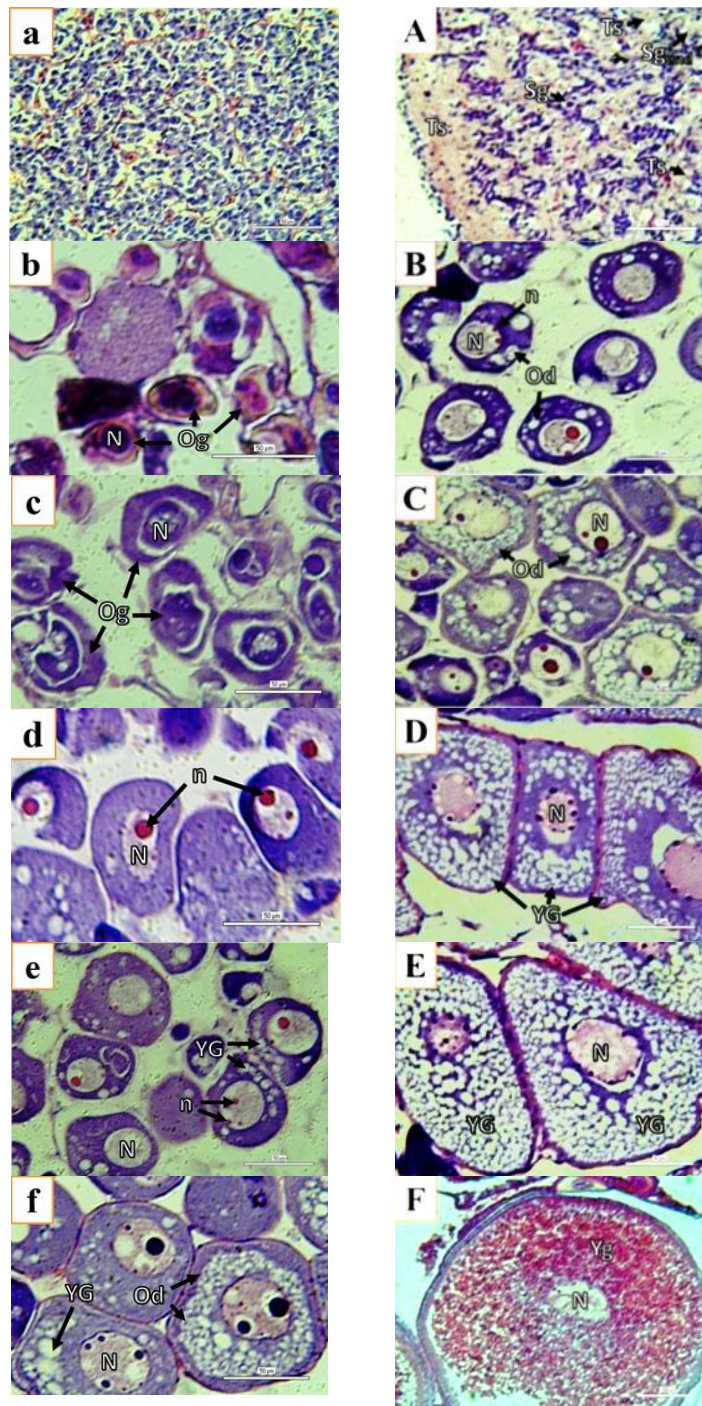
Secara fungsional, hormon E_2 merupakan hormon yang mengatur sifat-sifat feminisme dan fungsinya lebih terekspresi secara morfologis pada betina. Salah satu fungsi penting E_2 adalah mengatur proses vitelogenesis. Meskipun banyak penelitian membuktikan bahwa E_2 berperan da-

lam merangsang proses vitelogenesis (Costa *et al.* 2010; Singh *et al.* 2009) tetapi perlakuan EA tidak mampu merangsang perubahan kelamin sidat jantan menjadi betina. Pada proses spermatogenesis sidat Jepang *A. japonica*, E_2 merangsang aktifitas sel sertoli dan melindungi sel germinal (Higuchi *et al.* 2012), tetapi proses vitelogenesis tidak terinisiasi kontras dengan spermatogenesis (Palstra & van den Thillart 2010). Pemberian hCG secara tunggal tidak merangsang terjadinya proses feminisasi. Keadaan ini telah dilaporkan oleh Kagawa *et al.* (2009) dan Tomkiewicz *et al.* (2011) yang mengaplikasikan hCG secara tunggal dengan dosis 50 IU hari⁻¹ dan 200 IU minggu⁻¹ merangsang spermatogenesis. Jadi hCG yang diaplikasikan secara tunggal dapat bekerja pada dua kondisi kelamin, yaitu pada jantan dan atau pada betina.

Anti dopamin merupakan neurohormon yang berfungsi pada poros otak-hipotalamus-pituitari untuk menyintesis dan menyekresikan hormon FSH dan LH dengan organ target adalah gonad. Keberadaan anti dopamin, MT dan E_2 yang diberikan secara kombinasi dengan hCG berperan penting untuk dapat terjadinya femi-

nisasi pada *A. bicolor bicolor*. Sementara metil-testosteron dapat mengalami transformasi men-

jadi E₂ dengan bantuan enzim aromatase dan merangsang feminisasi (Uno *et al.* 2012).



Gambar 2. Perbandingan perkembangan gonad sidat *Anguilla bicolor bicolor* perlakuan hEA dengan perlakuan hTA. a: testis; b–c: oosit fase I; d: oosit fase II; e: oosit fase III awal; f: oosit fase III akhir. A: testis; B: oosit fase II; C: oosit fase III akhir; D: oosit fase IV; E: oosit fase IV; F: oosit fase V. N: nucleus; n: nucleolus; Od: butir minyak; Og: oogonium; Sg_{und}: undiferensiasi spermatogonium; Sg: spermatogonium; Ts: jaringan testikuler; YG: gelembung kuning telur; Yg: butir kuning telur. Skala bar: a–f, A–E = 50 µm; F = 100 µm. Penentuan fase perkembangan gonad diidentifikasi menurut Adachi *et al.* 2003; Chai *et al.* 2010; Le Mann *et al.* 2007; Lokman *et al.* 2007; Palstra *et al.* 2007

Kondisi serupa juga pernah ditemukan pada penelitian yang lain yang melakukan penyuntikan intramuskular 3 mg kg⁻¹ MT dan dikombinasikan dengan 20 mg kg⁻¹ ekstrak pituitari salmon untuk merangsang perkembangan oosit *A. japonica* (Wang & Lou 2007). Selanjutnya dengan dosis 10 ng mL⁻¹ 11-ketotestosteron (11-KT) yang dikombinasikan dengan 5 mg mL⁻¹ *very low density lipoprotein* pada perkembangan previtellogenik oosit *A. japonica* dan membuktikan bahwa keadaan negatif bila dengan E₂. Fenomena ini diduga diakibatkan tipe seksualitas sidat bahwa yuwana tidak memiliki jaringan gonad yang jelas statusnya antara jantan atau betina (Endo *et al.* 2011). Hormon testosteron juga berperan selama aklimasi memasuki perairan laut (Setiawan *et al.* 2012). Fakta ini menunjukkan bahwa testosteron memiliki dua peran penting pada sidat, yaitu pada kesiapan saat ruaya pemijahan dan perkembangan gonad.

Estradiol yang dikombinasikan dengan anti dopamin tidak mampu merangsang perubahan jenis kelamin sidat. Keadaan ini terjadi karena sidat belum siap melakukan pemijahan dan masih dalam fase menimbun cadangan energi dalam bentuk lemak. Energi saat fase ruaya akan digunakan untuk perkembangan gonad dan sebagian kecil digunakan untuk regenerasi sel dan perkembangan somatik tubuh. Bagaimanapun, Verzonnen *et al.* (2004) dan Durif *et al.* (2009) telah membuktikan bahwa fungsi gonadotropik tidak aktif selama fase *yellow*, meskipun terpapar estrogen tinggi, yaitu saat berada di air tawar, dan aktif pada fase *silver* saat mendekati lokasi pemijahan. Laut memberikan kondisi yang baik untuk perubahan kelamin (Melia *et al.* 2006), serta produksi sperma dan vitellogenin (Matsubara *et al.* 2008). Aromatase juga berfungsi menentukan perubahan kelamin (Uno *et al.* 2012), fungsi na-

vigasi, interaksi sosial dan lingkungan (Piferrer & Blázquez 2006).

Feminisasi sidat diikuti dengan adanya kinerja perkembangan gonad. Perkembangan gonad sejalan dengan meningkatnya persentase IKG yang akan mencapai maksimal pada saat pemijahan. Persentase IKG perlakuan hTA 4,80% tertinggi daripada perlakuan lainnya, mengindikasikan bahwa rangsangan perlakuan hTA yang diinjeksikan secara IM dua minggu sekali mampu meningkatkan IKG 1,85% dari hEA dan 4,06% dari kontrol. Nilai IKG pada sidat dengan panjang 61 cm dan bobot 490 g lebih tinggi daripada yang ditemukan van Ginneken *et al.* (2007) pada *A. anguilla* dengan panjang 74 cm dan bobot 1132 g nilai IKG 1,40%. Hasil penelitian ini juga sesuai dengan Wang & Lou (2007) yang menginjeksikan 3 mg kg⁻¹ MT dicampur dengan 20 mg kg⁻¹ *salmon pituitary homogenate* pada *A. japonica*, dengan bobot 450-550 g menghasilkan IKG 3,55%, kontras terhadap perlakuan kombinasi E₂ nilai IKG 1,64%.

Perkembangan oosit perlakuan hEA pada minggu ke-2 (Gambar 2b) dan ke-4 (Gambar 2c) terindikasi mencapai fase I, dengan bentuk sel kecil 25-40 µm, sitoplasma padat. Minggu ke-6 (Gambar 2d) oosit fase II, sel membesar dan merupakan tahap awal terbentuknya nucleolus. Minggu ke-8 (Gambar 2e) oosit fase III awal, menunjukkan adanya perkembangan dengan terbentuknya beberapa nukleolus dan beberapa butir lipid. Minggu ke-10 (Gambar 2f) oosit fase III akhir, diameter oosit semakin besar 55-65 µm dengan bertambahnya butir lipid dan beberapa gelembung kuning telur. Perkembangan oosit perlakuan hEA termasuk dalam kelompok vitellogenesis awal sesuai dengan Adachi *et al.* (2003), Lokman *et al.* (2007), dan Palstra & Thillart. (2007).

Perkembangan oosit perlakuan hTA sampling minggu ke-2 (Gambar 2B fase II) dan minggu ke-4 (Gambar 2C fase III awal), yaitu fase vitellogenesis awal (*early-vitellogenesis*) yang ditandai mulai terbentuknya butir kuning telur. Fase II merupakan tahap perkembangan perinukleolus seperti terlihat pada Gambar 2B, 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* kemudian berkembang bentuk, ukuran dan terbentuk gelembung lipid atau butir minyak (*oil droplet*), diameter oosit 45–55 µm. Pada Gambar 2C atau minggu ke-4 terdapat dua fase perkembangan oosit, yaitu fase III awal dan fase III akhir. Perkembangan oosit fase III akhir merupakan tahapan perkembangan perinukleolus yang disertai dengan semakin banyaknya butir minyak. Intensitas perkembangan butir minyak mengisi sebagian besar ooplasma, akibatnya diameter oosit semakin besar sampai 100 µm.

Pada minggu ke-6 (Gambar 2D) dan ke-8 (Gambar 2E) mencapai fase IV atau vitellogenesis lanjut (*mid-vitellogenesis*). Gambaran histologis menunjukkan adanya formasi protein kuning telur (*lipovitellin* dan *phosvitin*) yang dihasilkan dari vitellogenin (Vtg). Karakteristik fase *mid-vitellogenesis* adalah bertambahnya jumlah dan ukuran kuning telur dan lemak di sebagian besar ooplasma, inti membesar dengan banyak *nucleolus*. Pembentukan lapisan chorion atau selubung vitellin di bawah lapisan *epithelium follicular* semakin aktif. Perkembangan oosit berlangsung cepat akibat semakin padatnya akumulasi kuning telur dalam ooplasma. Diameter oosit pada fase *mid-vitellogenesis* ini sekitar 400–500 µm.

Pada minggu ke-10 oosit telah mencapai fase V atau vitellogenesis akhir (*late-vitellogene-*

sis) yang diindikasikan dengan semakin meningkatnya jumlah butir kuning telur (*yolk granule*), selubung inti menyusut dan nukleolus melebur ke dalam nukleus. Oosit memperlihatkan adanya penumpukan butir minyak pada salah satu kutub. Sebagian butir minyak melebur menjadi satu dan membentuk butir kuning telur yang lebih besar. Pada fase vitellogenesis akhir ukuran oosit telah mencapai kisaran 550–650 µm.

Bila dibandingkan dengan diameter telur *A. japonica* pada fase ruaya, inti dengan diameter oosit 650–700 µm (Wang & Lou 2007) dan *A. anguilla* (Tomkiewicz *et al.* 2007) diameter oosit 550–650 µm pada fase yang sama; ukuran oosit yang dihasilkan dalam penelitian ini relatif sama. Tetapi ditinjau dari ukuran sidat yang menghasilkan oosit, maka sidat *A. bicolor bicolor* yang digunakan dalam penelitian ini lebih kecil daripada kedua jenis sidat tersebut. Sidat dengan oosit terbaik pada penelitian ini memiliki bobot $364,33 \pm 76,59$ g sedangkan *A. japonica* berkisar antara 450–550 g dan *A. anguilla* 800–1200 g. Perbandingan hasil penelitian terdahulu menunjukkan bahwa ukuran diameter oosit pada penelitian ini relatif besar ditinjau dari ukuran bobot sidat.

Secara alamiah, ukuran dan jumlah telur ikan berbeda bergantung kepada spesies, ukuran, dan asupan nutrisi. Sidat yang digunakan pada penelitian ini dengan bobot 200 ± 15 g, yaitu fase *yellow*. Pakan yang diberikan selama prapenelitian mengandung 46% protein. Protein yang tinggi menyediakan nutrisi yang dibutuhkan sidat untuk menimbun energi dalam bentuk lemak. Lemak yang ditimbun ini merupakan cadangan energi yang dimanfaatkan untuk perkembangan gonad selama induksi perlakuan hormon.

Tingginya kinerja perkembangan gonad betina pada perlakuan hTA tidak terlepas dari peran hormon hCG. Hormon hCG mengandung

bahan aktif hormon gonadotropik, yaitu FSH dan LH. Dua hormon ini merangsang gonad untuk menyintesis E_2 , dan E_2 melalui peredaran darah akan sampai ke hati. Tingginya E_2 direspon oleh hati dengan memproduksi Vtg. Vitellogenin merupakan protein yang dapat berikatan dengan materi lipid, komponen karbohidrat, kelompok fosfat, dan garam-garam mineral. Di dalam gonad, Vtg dipecah menjadi bahan baku utama pembentukan energi anabolik, diantaranya *lipovitellenin*, *lipovitellin* dan *phosvitin*.

Lipovitellenin merupakan *low-density lipoprotein* (LDL) dan kandungan dalam oosit mencapai 65%. Komposisi *lipovitellenin* terdiri atas 11–17% protein dan 83–89% lipid, dan 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 atas 75–80% protein dan 20–25% lipid. Komponen lipid tersusun dari 65% fosfolipid, 30% trigliserida, dan 5% kolesterol (Anton 2007b). *Phosvitin* merupakan fosfolipoprotein kandungan dalam oosit 4% (Anton *et al.* 2007).

Dilihat dari komposisi Vtg tersebut dapat dipahami bahwa ketersediaan cadangan energi dalam bentuk lemak berperan pada percepatan perkembangan oosit yang dirangsang oleh perlakuan hormon. Tanpa tersedianya bahan baku berupa cadangan energi, maka pembentukan Vtg di hati akan terhambat dan rangsangan hormon untuk memacu perkembangan dan pematangan gonad tidak akan efektif. Efektifitas kombinasi antara hormon hCG + E_2 + AD dan hCG + MT + AD terhadap feminisasi sidat *A. bicolor bicolor* menunjukkan bahwa aplikasi hormon untuk pengkondisian jenis kelamin tertentu sangat penting, terutama membantu proses feminisasi sidat hasil budi daya. Selanjutnya, untuk kepentingan budi daya, perlakuan hTA merupakan per-

lakuan terbaik dan dapat diterapkan untuk mempercepat proses reproduksi ikan sidat dalam lingkungan terkontrol.

Simpulan

Perlakuan hEA dan hTA efektif digunakan pada feminisasi sidat untuk menyediakan kebutuhan stok induk betina dalam menunjang kegiatan budi daya. Perkembangan oosit pada perlakuan hTA telah sampai pada fase vitellogenesis akhir, dengan nilai IKG terbaik perlakuan hTA (hCG 2 mg mL⁻¹ + MT 3 mg mL⁻¹ + AD 10 mg mL⁻¹) setelah 10 minggu perlakuan, yang disuntikkan secara intramuskular setiap dua minggu selama 10 minggu.

Persantunan

Keberhasilan penelitian ini tidak terlepas dari peran Kementerian Pendidikan Nasional yang telah diubah menjadi Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia melalui Dirjen Pendidikan Tinggi yang telah mendukung dalam bentuk pembiayaan dari program BPPS tahun anggaran 2011.

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.). *Eel biology*. Springer-Verlag. Tokyo. pp. 301-318.
- Anton M. 2007a. Low-density lipoprotein (LDL) or lipovitellenin fraction. In: Huopalahti R, López-Fandiño R, Anton M, Schade R. (Eds.). *Bioactive Egg Compounds*. Springer-Verlag Berlin. pp. 7-12.
- Anton M. 2007b. High-density Lipoprotein (HDL) or Lipovitellin Fraction. In: Huopalahti R, López-Fandiño R, Anton M, Schade R. (Eds.). *Bioactive egg compounds*. Springer-Verlag Berlin. pp. 13-16.
- Anton M, Castellani O, Guérin-Dubiard C. 2007. Phosvitin. In: Huopalahti R, López-Fandiño R, Anton M, Schade R. (Eds.). *Bioactive Egg Compounds*. Springer-Verlag Berlin. pp. 17–24.

- Cerda-Reverter JM, Canosa LF. 2009. Neuroendocrine system of the fish brain. In: Farrell AP, Brauner CJ (Eds.). *Fish Physiology*, 28: *Fish Neuroendocrinology*. Academic Press. London. pp. 3-74.
- Chai Y, Tosaka R, Abe T, Sago K, Sago Y, Hatanaka E, Ijiri S, Adachi S. 2010. The relationship between the development 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(2): 269-278.
- Chu Yu-Wei, Han Yu-San, Wang Chia-Hui, You Chen-Feng, Tzeng Wann-Nian. 2006. The sex-ratio reversal of the Japanese eel *Anguilla japonica* in the Kaoping River of Taiwan: The effect of cultured eels and its implication. *Aquaculture* 261(4): 1230-1238
- Costa DDM, Neto FF, Costa MDM, Morais RN, Garcia JRE, Esquivel BM, Ribeiro CAO. 2010. Vitellogenesis and other physiological responses induced by 17- β -estradiol in males of freshwater fish *Rhamdia quelen*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* 151(2): 248-257.
- Durif CMF, van Ginneken V, Dufour S, Müller T, Elie P. 2009. Seasonal evolution and individual differences in silvering eels from different locations. In: van den Thillart G, Dufour S, Rankin JC (Eds.). *Spawning migration of the European eel*. Springer Science. pp. 13-38.
- 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(4): 816-825.
- Fernandino JI, Hattori RS, Acosta ODM, Strüßmann CA, Somoza GM. 2013. Environmental stress-induced testis differentiation: androgen as a by-product of cortisol inactivation. *General and Comparative Endocrinology* 192(1): 36-44.
- Higuchi M, Celino FT, Miura C, Miura T. 2012. The synthesis and role of taurine in the eel spermatogenesis. *Amino Acids* 43(2): 773-781.
- 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(2): 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(1): 117-122.
- Kearney M, Jeffs A, Lee P. 2011. Development and early differentiation of male gonads in farmed New Zealand shortfin eel, *Anguilla australis*. *New Zealand Natural Sciences* 36(1): 33-44.
- Le Mann 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*. Springer. Dordrecht. pp. 1-37.
- 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(5): 955-967.
- Matsubara H, Tanaka H, Nomura K, Kobayashi T, Murashita K, Kurokawa T, Unuma T, Kim SK, Lokman MP, Matsubara T, Kagawa H, Ohta H. 2008. Occurrence of spontaneously spermiating eels in captivity. *Cybiu* 32(2) suppl.: 174-175.
- 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: Comparatif analysis. *Journal of Fish Biology* 69(4): 1228-1235.
- Miura T, Miura C, Yamauchi K. 2003. Spermatogenesis in the Japanese eel, *Anguilla japonica*. In: Aida K, Tsukamoto K, Yamauchi K. (Eds.). *Eel biology*. Springer-Verlag Tokyo. pp. 319-330.
- Miura C, Miura T. 2011. Analysis of spermatogenesis using an eel model. *Aqua-BioScience Monographs (ABSM)* 4(4): 105-129.
- 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(1):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(3): 321-332.

- Palstra AP, Van den Thillart GEEJM. 2010. Swimming physiology of European silver eels (*Anguilla anguilla* L.): Energetic costs and effects on sexual maturation and reproduction. *Fish Physiology and Biochemistry* 36(3): 297-322.
- Piferrer F, Blázquez. 2006. Aromatase distribution and regulation in Fish. Review. *Fish Physiology and Biochemistry* 31(2):215-226.
- Rousseau K, Aroua S, Schmitz M, Elie P, Dufour S. 2009. Silvering: metamorphosis or puberty? In: van den Thillart G, Dufour S, Rankin JC (Eds.). *Spawning migration of the European eel*. Springer Science. pp. 39-63.
- 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): 1-5.
- Singh V, Singh PB, Srivastava S. 2009. Testosterone and estradiol-17 β dependent phospholipid biosynthesis in ovariectomized catfish, *Heteropneustes fossilis*. *Journal of Environmental Biology* 30(5): 63-640.
- Sugeha HY, Jatmiko I, Muhammad S. 2009. Sexual development of the tropical shortfinned eel *Anguilla bicolor bicolor* of the Segara Anakan Waters, Central Java, Indonesia. *Journal of Fisheries Sciences* 11(1): 87-99.
- 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(3): 483-515.
- 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(1): 106-118.
- Uno T, Ishizuka M, Itakura T. 2012. Cytochrome P450 (CYP) in fish. Review. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 34(1):1-13.
- 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(4): 453-465.
- Versonnen BJ, Goemans G, Belpaire C, Janssen CR. 2004. Vitellogenin content in European eel (*Anguilla anguilla*) in Flanders, Belgium. *Environmental Pollution* 128(3): 363-371.
- Wang HP, Gao Z, Beres B, Ottobre J, Wallat G, Tiu L, Rapp D, O'Bryant P, Yao H. 2008. Effects of estradiol-17 β on survival, growth performance, sex reversal and gonadal structure of bluegill sunfish *Lepomis macrochirus*. *Aquaculture* 285(2): 216-223.
- Wang YS, Lou SW. 2007. Influence of exogenous gonadotropin sexual steroids on ovary development in *Anguilla japonica*. *Journal of the Fisheries Society of Taiwan* 34(3): 261-273.
- Weltzien F-A, Seibert M-E, 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*. Springer Science. pp. 279-307.
- Wilson CA, Davies DC. 2007. The Control of sexual differentiation of the reproductive system and brain. Review. *Reproduction* 133(2): 331-359.
- Yokouchi K, Sudo R, Kaifu K, Aoyama J, Tsukamoto K. 2009. Biological characteristic of silver-phase Japanese eels, *Anguilla japonica*, collected from Hamana Lake, Japan. *Coastal Marine Science* 33(1): 1-10.