

ANALISIS KANDUNGAN HORMON TIROKSIN DENGAN METODE *ELISA* PADA INDUK BETINA KEPITING BAKAU (*Scylla serrata*)

Heppi Iromo¹⁾, Nuril Farizah¹⁾

¹⁾ Staff Pengajar Program Studi Budidaya Perairan
FPIK Universitas Borneo Tarakan (UBT) Kampus Amal Lama Gedung E
Jl. Amal Lama No. 1 Tarakan Timur Kota Tarakan Kal-Tim
HP.085213396636 / E-mail : sholat_dhuha@yahoo.co.id

ABSTRACT

The mud crab was high commercial value. To develop hatchery techniques for female reproduction were investigated. Experiments were studi of thyroxine hormone for female reproduction in stages vitellogenesis. Thyroxine hormone is known to be controlled growth, and mature ovary. The occurrence of thyroxine hormone, female reproduction is yet to be determeined. The level of thyroxine hormon in ovary, hemolymph and the hepatopancreas of the mud crab female were reproduction analyzed in different vitellogenic in order to establish a correlation hormon profile and stages of vitellogenesis. It was observed that the level of thyroxine hormon increased steeply in the tissues of vitellogenesis. The highest concentration of thyroxine hormon was seen in ovary then hepatopancreas and hemolymph.

Keywords : Female reproduction, thyroxine hormone, vitellogenesis.

PENDAHULUAN

Latar belakang

Indonesia menargetkan menjadi penghasil kepiting terbesar di pasar internasional. Nilai ekspor kepiting mengalami peningkatan tajam dari tahun 2003 yaitu sekitar 12.041 ton ke tahun 2004 menjadi 20.903 ton. Total produksi Indonesia tahun 2008 mencapai jumlah 34.270 ton (KKP, 2011).

Budidaya kepiting bakau saat ini masih belum menunjukkan hasil yang sesuai dengan harapan. Masih kurangnya ketersediaan benih kepiting dimasyarakat merupakan salah satu barometer kurang berhasilnya budidaya kepiting bakau. Masalah yang dihadapi dalam pembenihan kepiting bakau adalah masih tingginya mortalitas benih pada saat fase larva terutama pada fase zoea dan megalopa (Suprayudi, *et.al.*, 2004).

Telah banyak penelitian mengenai nutrisi dan lingkungan untuk benih kepiting

bakau namun sampai saat ini masih belum menunjukkan hasil yang optimal seperti budidaya udang. Penelitian pakan yang telah dilakukan, mulai dari menentukan jenis pakan alami yang baik, kuantitas dan kualitas pakan alami, kepadatan dan frekuensi pemberian pakan hingga pengayaan pakan alami serta kombinasi pakan alami dengan pakan buatan (Hamasaki *et.al.*, 2002 ; Holme, 2007 ; Aslamyah dan Fujaya, 2009). Demikian pula dengan penelitian lingkungan seperti kondisi salinitas yang baik, substrat dasar, suhu dan lainnya. Hasilnya secara keseluruhan masih belum menjawab permasalahan yang ada. Hal ini diduga karena masih banyak kondisi fisiologis dari kepiting tersebut mulai dari induk hingga benih yang belum terungkap.

Penelitian tentang fisiologi kepiting bakau masih sangat kurang terutama tentang hormon endokrin yang merupakan salah satu faktor penting dalam proses kimiawi di dalam tubuh. Salah satunya adalah tentang

keberadaan hormon tiroksin di dalam tubuh induk betina.

Hormon tiroksin telah lama dikenal memiliki peranan penting dalam perkembangan awal. Peranan penting dari tiroksin adalah sebagai media absorpsi penyerapan kuning telur, pembentukan sirip dan rangka, metamorphosis, transformasi dari larva ke juvenile dan pertumbuhan. Hormon tiroksin ternyata juga mampu meningkatkan konversi dan efisiensi pakan. Suplementasi hormon tiroksin telah diujikan pada beberapa jenis ikan untuk meningkatkan kualitas induk agar dapat meningkatkan kualitas dan kuantitas benih. Hal ini belum pernah diujikan pada kepiting karena karakteristik fisiologis tentang keberadaan dan konsentrasi hormon ini pada crustacea terutama pada kepiting bakau masih belum diketahui. Itulah yang menjadi dasar peneliti untuk melakukan penelitian dasar tentang fisiologis hormon tiroksin pada kepiting bakau.

Perumusan masalah

Saat ini teknologi pembenihan belum menghasilkan benih untuk budidaya sehingga masih bergantung pada hasil penangkapan di alam. Upaya untuk mengembangkan teknologi budidaya kepiting bakau sudah mulai dirintis namun hasilnya belum optimal seperti budidaya udang. Penelitian-penelitian dasar tentang kepiting dari berbagai spesies sudah dilakukan. Namun jumlahnya belum banyak sehingga masih banyak hal yang belum terungkap.

Kepiting bakau memiliki kemampuan fekunditas yang tinggi namun kelangsungan hidup larvanya rendah. Berbagai penelitian sudah dilakukan untuk meningkatkan kelangsungan hidup larva, mulai dari penelitian tentang lingkungan yang cocok untuk hidup larva seperti kondisi salinitas dan suhu (Baylon *et al.*, 2001 ; Karim, 2007). Penelitian tentang pakan alami untuk larva juga telah dilakukan baik itu mengenai jenis pakan seperti rotifer, artemia (Hamasaki, 2003 ; Linddy *et al.*,

2004) pengkayaan pakan alami (Han *et al.*, 2001 ; Suprayudi, *et al.*, 2004). Pengujian pakan buatan untuk crustacea (Genodepa *et al.*, 2004 ; Holme *et al.*, 2006). Penelitian pada induk kepiting juga sudah dilakukan diantaranya perbaikan pakan dan substrat (Millamena *et al.*, 2001 ; Djunaidah, 2004), dan mengenai penggunaan hormon dan ablasi (Riani, 2001 ; Alfaro *et al.*, 2004 ; Fujaya, 2004 ; Pattiasina, 2010), namun hingga saat ini benih hasil budidaya kepiting bakau masih sulit ditemukan.

Penggunaan hormon tiroksin sudah diujikan pada ikan untuk meningkatkan kelangsungan hidup dan pertumbuhan larva namun belum pernah diujikan pada kepiting. Penelitian tentang fisiologis hormon tiroksin pada kepiting bakau merupakan salah satu penelitian dasar yang bertujuan untuk meningkatkan kelangsungan hidup dan kualitas benih. Penelitian ini ingin menunjukkan keberadaan dan efektifitas hormon tiroksin pada induk kepiting bakau yang matang ovari dalam proses penyerapan nutrisi dan proses vitelogenesis.

Untuk mendeteksi keberadaan hormon tiroksin pada induk kepiting bakau, akan digunakan metode analisis yang cepat, sensitif, dan spesifik yaitu *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA).

Keuntungan dari teknik analisis ini adalah sangat sensitif dan spesifik dengan menggunakan antibodi. Selain itu, waktu analisisnya cepat, baik pada contoh tunggal maupun banyak.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kesediaan dan konsentrasi hormon tiroksin secara ELISA pada induk betina kepiting yang matang ovari.

Hasil dari penelitian diharapkan dapat memberikan informasi tentang keberadaan dan konsentrasi hormon tiroksin pada induk betina kepiting bakau sehingga dapat dijadikan dasar untuk pengembangan penelitian lanjut seperti suplementasi hormon tiroksin pada induk kepiting bakau untuk meningkatkan kualitas dan kuantitas benih.

MATERI DAN METODE

Lokasi penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Borneo Tarakan dan analisis hormon dan proksimat dilakukan di laboratorium Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.

Bahan dan alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kepiting bakau (*Scylla serrata*). Bobot hewan uji berupa induk betina kepiting bakau (*Scylla serrata*) yang digunakan sekitar 325-350 g/individu. Hewan uji tersebut berasal dari penangkapan nelayan di wilayah perairan sekitar Pulau Tarakan. Hewan uji yang digunakan telah mengalami kopulasi dan telah matang ovarium. Kit antibodi hormon tiroksin yang digunakan adalah *kit total thyroxine* DRG Internasional Inc., USA.

Metode

Induk betina kepiting bakau yang digunakan telah matang ovari pada tingkat kematangan ovari (TKO) I, II, dan III. Sampel organ yang diambil berasal dari hemolimfa, ovarium, dan hepatopankreas. Pengambilan hemolimfa dilakukan dengan menggunakan spuit 1 ml pada pangkal kaki renangnya, sedangkan pengambilan ovarium dan hepatopankreas dilakukan dengan membedah kepiting.

Percobaan dilakukan dengan menggunakan perangkat ELISA komersial hormon tiroksin dari DRG International Inc., USA. Komposisi dari kit hormon tiroksin yang digunakan adalah sebagai berikut:

1. Antibody-Coated Wells (1 plate, 96 wells), Microtiter wells coated with sheep anti-T4.
2. Enzyme Conjugate Concentrate 11X (1.3 mL), Contains T4-HRP Conjugate.
3. Enzyme Conjugate Diluent (1 bottle, 13 mL), Contains ANS, TRIS buffer, pH=7.60 and ProClin-300.

4. Reference Standard Set (1 mL/vial), Contains 0, 2.0, 5.0, 10.0, 15.0 and 25.0 µg/dL in T3/T4-free stripped human serum, 1 set, liquid, ready-to-use.
5. TMB Reagent (1 bottle, 11 mL), Contains 3, 3', 5, 5' tetramethylbenzidine (TMB) stabilized in buffer solution.
6. Stop Solution (1N HCl) (1 bottle, 11 mL), Contains diluted hydrochloric acid.

Pengujian keberadaan dan konsentrasi hormon tiroksin dari sampel di atas, ditentukan dengan menggunakan metode ELISA dan masing-masing sampel dilakukan ulangan 3 (tiga) kali. Urutan kerja pengujian sampel dengan menggunakan metode ELISA adalah sebagai berikut :

1. *Well* dilapisi atau ditemplei antigen, dengan diisi 25 µl larutan standars
2. Sampel (antibodi) yang ingin diuji ditambahkan. Menambahkan 100 µl *Conjugate reagent* ke dalam setiap *well*
3. Biarkan tercampur selama 30 detik
4. Diinkubasikan pada suhu ruang (18 °C - 25 °C) selama 60 menit
5. *Mikroplate* dicuci dalam *waste container*
6. Keringkan Plate dengan kertas *towel*
7. Ditambahkan 100 µl TBM reagent ke dalam setiap *well* dan dibiarkan bercampur selama 5 detik
8. Inkubasi ditemperatur ruang dan dalam ruang gelap selama 20 menit
9. Untuk menghentikan reaksi ditambahkan 100 µl Stop Solution pada setiap *well*
10. Dilakukan pengamatan secara visual terhadap perubahan warna yang terjadi pada larutan. Bila terjadi perubahan warna, ada indikasi bahwa sampel yang diuji positif
11. Pembacaan hasil juga dilakukan dengan menggunakan ELISA reader dengan panjang gelombang 450 nm.

Konsentrasi hormon tiroksin dari sampel tentukan dengan menggunakan kit antibodi T-4 (total thyroxine, DRG

Internasional Inc., USA). Kisaran standar yang digunakan untuk membuat kurva standar adalah mulai dari 1 sampai dengan 25 µg/dl. Untuk akurasi konsentrasi hormon T4, setiap sampel dianalisis secara *duplo*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Induk betina kepiting bakau

Induk kepiting bakau yang digunakan dalam penelitian ini adalah induk kepiting matang ovari yang berasal dari penangkapan di pulau-pulau kecil disekitar pulau Tarakan. Lahan di pulau-pulau tersebut sebagian besar dimanfaatkan sebagai lahan tambak tradisional. Disekitar tambak tersebut masih ditumbuhi oleh hutan mangrove yang berfungsi sebagai pelindung tambak tradisional dari derasnya gelombang arus laut karena umumnya lahan tambak berbatasan langsung dengan laut.

Kepiting bakau menjalani sebagian besar hidupnya di ekosistem mangrove dan memanfaatkan ekosistem mangrove sebagai habitat alami utamanya, yakni sebagai tempat berlindung, mencari makan, dan pembesaran. Kepiting bakau melangsungkan perkawinan di perairan hutan mangrove, dan secara berangsur-angsur sesuai dengan perkembangan telurnya, kepiting bakau betina akan beruaya dari perairan hutan mangrove ke perairan laut untuk memijah, sedangkan kepiting bakau jantan akan tetap berada di hutan mangrove untuk melanjutkan aktifitas hidupnya. Setelah memijah, kepiting bakau betina akan kembali ke hutan mangrove. Demikian pula dengan juvenil kepiting bakau yang akan bermigrasi ke hulu estuari, untuk kemudian berangsur-angsur memasuki hutan mangrove.

Ekosistem mangrove, merupakan tempat ideal bagi kepiting bakau untuk berlindung. Kepiting bakau muda pascalarva yang berasal dari laut, banyak dijumpai di sekitar estuari dan hutan mangrove, karena terbawa arus dan air pasang dan akan menempel pada akar-akar mangrove untuk berlindung (Hutching & Saenger 1987). Sedangkan kepiting bakau dewasa

merupakan penghuni tetap hutan mangrove, dan sering dijumpai membenamkan diri dalam substrat lumpur, atau menggali lubang pada substrat lunak sebagai tempat persembunyian.

Induk kepiting betina yang ditangkap dari alam biasanya telah kawin (Robertson dan Kruger, 1994) dan membawa *spermatophor* dalam thekanya yang dapat disimpan untuk waktu yang lama, sehingga dapat memproduksi telur sampai dengan 6 bulan setelah tertangkap tanpa perlu kawin lagi (Nghia *et al.*, 2001).

Induk kepiting bakau yang akan digunakan dalam uji ini adalah induk-induk yang sudah matang ovarinya. Penentuan tingkat kematangan ovari induk kepiting bakau dilakukan melalui pengamatan ciri morfologi. Dimana bentuk abdomen dijadikan sebagai salah satu penentu tingkat kematangan ovari/gonad (TKO) induk kepiting bakau. Selanjutnya dilakukan pula pengamatan dengan mengamati warna gonad melalui sambungan antara abdomen dan karapak.

Induk kepiting betina yang akan digunakan dikelompokkan sesuai dengan sesuai dengan tingkat kematangan ovarinya. Kemudian untuk mendapatkan karakteristik ovari pada setiap tingkatan kematangan ovari dilakukan pula pembedahan agar diperoleh gambaran yang jelas. Berdasarkan pada pengamatan (Gambar 4), warna ovari pada masing-masing tingkatan kematangan sangat berbeda. Tingkat kematangan ovari tingkat I (TKO I) ovari berwarna kuning namun masih sedikit. TKO II, ovari juga berwarna kuning namun lebih besar gonadnya. TKO III, ovari berwarna orange dan tampak padat. Selanjutnya diambil sampel telur dan hepatopankreas dari masing-masing induk yang Tingkat kematangan ovarinya berbeda.

Sebelum kepiting uji dibedah, masing-masing sampel diambil terlebih dahulu hemolimfanya dengan menggunakan spuit 1 ml. Hemolimfa tersebut diletakan dimasukan ke dalam ependove dan disimpan dalam freezer dengan suhu -20 °C.

Pengambilan sampel juga dilakukan pada induk kepiting yang sedang membawa telur (*sponge*). Pada saat ini sedang terjadi proses perkembangan embrio di luar tubuh induk. Warna dari *sponge* tersebut berlainan sesuai dengan tingkat perkembangan embrio. Perkembangan awal hingga menetas telur pada *sponge* berwarna kuning, orange, coklat dan hitam.

Hormon tiroksin

Kelenjar tiroid terdapat pada seluruh vertebrata, namun saat ini belum ada informasi tentang keberadaan kelenjar ini pada crustacea termasuk pada kepiting bakau. Pada vertebrata rendah, *folikel tiroid* ada, namun folikel ini tidak terorganisasi menjadi suatu kelenjar yang mampat dan berkapsul. Folikel pada tiroid teleostei cenderung bertebaran sepanjang sebelah ventral aorta dan sering ditemukan sepanjang arteri brankialis.

Hormon tiroid telah lama dikenal memiliki peranan penting dalam perkembangan awal. Hormon ini terdapat pada telur dan larva yang baru menetas. Hormon tiroid ini juga dapat ditransfer dari induk ke gonad dan akumulasi pada oosit selama proses pematangan oosit selanjutnya ke larva. Peranan penting tiroid lainnya adalah sebagai media absorpsi penyerapan kuning telur, pembentukan sirip dan rangka, metamorphosis, transformasi dari larva ke *juvenile* dan pertumbuhan. Hormon tiroid juga mampu meningkatkan konversi dan efisiensi pakan, absorpsi nutrient, mempengaruhi gelembung renang serta sistem pencernaan sehingga meningkatkan kemampuan dalam menangkap pakan dan meningkatkan pertumbuhan.

Penelitian ini menganalisis keberadaan hormon tiroksin pada induk matang ovarium untuk mengungkap beberapa faal dari kepiting terutama yang berhubungan dengan hormon tersebut. Pendeteksi keberadaan hormon tiroksin pada induk kepiting menggunakan metode yang sudah lazim dalam pengujian hormon yaitu metode ELISA.

Uji kekebalan enzimatik sering kali disebut *enzyme-linked immuno-sorbent assay* (ELISA) yang menghubungkan spesifitas antibodi dengan kepekaan uji enzimatik dengan spektrofotometer biasa atau antigen dilekatkan pada enzim yang mudah ditera (Sudarmadji, 1996). Ciri utama dari teknik ini adalah dipakai indikator enzim untuk reaksi imunologi.

ELISA adalah suatu teknik deteksi dengan metode serologis yang berdasarkan atas reaksi spesifik antara antigen dan antibodi, mempunyai sensitivitas dan spesifitas yang tinggi dengan menggunakan enzim sebagai indikator. Prinsip dasar ELISA (Burgess 1995) adalah analisis interaksi antara permukaan fase padat dengan menggunakan konjugat antibodi atau antigen yang dilabel enzim. Enzim ini akan bereaksi dengan substrat dan menghasilkan warna. Warna yang timbul dapat ditentukan secara kualitatif dengan pandangan mata atau kuantitatif dengan pembacaan nilai absorbansi (OD) pada ELISA *plate reader*.

Prinsip dasar ELISA yang dipergunakan adalah prinsip dasar secara kompetitif langsung. Analisis berlangsung dalam wadah *microwell* (mikroplat) dengan konsentrasi antibodi yang dilapiskan pada mikroplat 0 mg/mL. Hormon tiroksin yang terdapat pada contoh yang diperiksa akan berkompetisi dengan antibodi yang berada dalam mikroplat. Bahan atau pereaksi yang tidak berikatan akan terbuang setelah mengalami proses pencucian. Dengan menambahkan substrat pada mikroplat akan terbentuk warna pada ikatan antara antibodi dan enzim konjugat. Hasil analisis ditentukan dengan membaca *optical density* (OD) pada ELISA *reader*.

Analisis hormon tiroksin

Sebelum pengujian sampel dengan menggunakan metode Elisa perlu dilakukan uji pengukur akurasi absorbansi kit DRG T-4 untuk konsentrasi yang akan digunakan. Hasil tes dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Absorbansi dan pemulihan standar kit DRG T-4.

| Standard | Expected Conc. (ug/dL) | Measured Absorbance | Measured Conc. (ug/dL) | Recovery (%) |
|----------|------------------------|---------------------|------------------------|--------------|
| 1 | 1 | 2,057 | 1,04 | 103,8 |
| 2 | 2 | 1,802 | 1,87 | 93,5 |
| 3 | 5 | 1,365 | 5,56 | 111,2 |
| 4 | 10 | 1,017 | 10,06 | 100,6 |
| 5 | 15 | 0,797 | 13,94 | 92,9 |
| 6 | 25 | 0,337 | 24,55 | 98,2 |

Berdasarkan tabel di atas terlihat bahwa *Concentration expected* adalah konsentrasi standart hormon tiroksin memiliki nilai yang hampir sama dengan konsentrasi kit yang akan digunakan. Ini berarti kit tersebut masih layak digunakan untuk menguji konsentrasi hormon tiroksin pada sampel yang akan digunakan.

Penelitian dilakukan pada setiap perkembangan vitelogenesis berdasarkan dari pendapat John dan Sivadas (1979), yang mengatakan bahwa ada empat tingkatan kematangan gonad pada kepiting bakau ; akan matang, belum matang, matang dan salin.

Penelitian ini menganalisa mengenai ketersediaan hormon tiroksin pada induk kepiting di tingkat vitellogenin, maka dilakukan pengujian ketersediaan hormon tersebut dari hemolimfa, hepatopankreas, dan ovarium pada setiap tingkatan kematangan ovarinya. Setelah diamati bahwa ketiga organ tersebut mengandung hormon tiroksin dengan jumlah yang

signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa hormon tiroksin terdapat pada setiap tingkatan vitellogenin. Berdasarkan hasil penelitian bahwa konsentrasi hormon tiroksin pada sampel ovarium, hepatopankreas dan hemolimfa disetiap tahapan perkembangan ovarium (I-III) menunjukkan nilai yang berbeda.

Konsentrasi hormon tiroksin induk kepiting meningkat tajam pada ovarium dan hemolimfa pada proses vitellogenesis tahap I sampai tahap III. Sebaliknya pada hepatopankreas konsentrasi hormon tiroksin menurun dari tahap I sampai tahap III (Tabel 2).

Jumlah konsentrasi hormon tiroksin dari hemolimfa induk kepiting selama pematangan meningkat dari vitelogenesis I sampai III ($8.50 \pm 2,17$ - $15,33 \pm 7.20$ ng / ml) demikian pula pada ovarium, konsentrasi hormon tiroksin juga meningkat dari vitelogenesis I sampai III ($18,47 \pm 2,06$ - $42,27 \pm 3,17$ ng/ml).

Tabel 2. Data (mean \pm SD, n = 27) konsentrasi hormon tiroksin pada induk betina kepiting bakau (ng / ml)

| Organs | Vitelogenesis I | Vitelogenesis II | Vitelogenesis III |
|----------------|-------------------|------------------|-------------------|
| Hemolimfa | 8.50 \pm 2.17 | 11.23 \pm 2.06 | 15.33 \pm 7.20 |
| Hepatopankreas | 108.43 \pm 1.91 | 78.90 \pm 3.30 | 39.73 \pm 5.31 |
| Ovary | 18.47 \pm 2.06 | 27.07 \pm 1.92 | 42.27 \pm 3.17 |

Pada hepatopankreas, perkembangan konsentrasi hormonnya berbeda. Selama proses pematangan konsentrasinya menurun dari vitelogenesis I sampai III ($108,43 \pm 1,91$ - $39,73 \pm 5,31$ ng/ml). Berdasarkan analisis varians tingkat konsentrasi hormon tiroksin pada hemolimfa, hepatopankreas dan ovarium menunjukkan hasil yang berbeda nyata (P <0,05).

Perkembangan ovarium mulai dengan proses vitelogenesis, adalah proses pembentukan kuning ditandai oleh deposisi vitelogenin ke sel telur. Vitelogenin disekresikan ke hemolimfa dan dibawa ke sel telur yang akan disintesis menjadi kuning telur. Yano (1992) mengatakan vitelogenin yang merupakan bahan baku atau kuning telur protein prekursor yang disintesis pada

sel-sel telur yang matang (oosit). Kuning telur akan menjadi sumber nutrisi untuk perkembangan embrio (Silversand *et al.*, 1993). Bahan baku dari vitelogenin adalah vitelin, yang disintesis oleh jaringan ekstraovarium dan dilepaskan ke hemolimp untuk respon vitellogenin ovarium stimulating hormone (VSOH).

Ketika induk betina akan bertelur, sel telur (oosit) dikeluarkan dari ovarium melalui wadah penampungan spermatozoa

(*sepermatheka*) sehingga terjadi pembuahan di daerah itu. Telur yang dibuahi, rata-rata berukuran sekitar $\pm 0,25$ mm, yang kemudian menjadi extruded besar, massa kohesif atau "*sponges*" yang tetap melekat pada bulu-bulu halus di bawah perutnya sampai menetas.

Pada penelitian ini juga dilakukan pengamatan ketersediaan hormon tiroksin pada perkembangan *sponges* kepiting bakau (Tabel 3).

Tabel 3. Konsentrasi hormon T4 pada tahapan perkembangan *sponge*

| No | Sampel | Warns sponge | Konsentrasi hormon (ng/ml) |
|----|--------|--------------|----------------------------|
| 1 | Sponge | Kuning | 99,5 |
| 2 | Sponge | Orange | 101,9 |
| 3 | Sponge | Coklat | 119,1 |
| 4 | Sponge | Hitam | 108,3 |

Konsentrasi hormon tiroksin meningkat selama awal perkembangan embrio dan kemudian menurun seiring selesainya penyerapan kuning telur.

Selama awal kehidupan kadar hormon tiroksin meningkat secara bertahap dan secara signifikan selama transformasi ke tahap remaja.

Berdasarkan hasil pengujian pada ketersediaan hormon tiroksin kepiting bakau itu telah mendeteksi adanya hormon ini dalam proses vitelogenesis dari induk. Hal ini sesuai dengan pendapat Ayson dan Lam (1993) yang menyatakan bahwa hormon tiroksin dalam sirkulasi induk dapat ditransfer ke dalam oosit, sel telur dan kemudian ke indung telur (*yolk sac*) sebelum ovulasi. Hormon tiroid secara tidak langsung membantu dalam penyerapan kuning telur. Hormon tiroksin dapat dengan mudah masuk ke dalam sel target melalui dinding sel (membran plasma) dengan cara transpor aktif.

Penelitian ini, telah diujikan pula mengenai keberadaan hormon tiroksin pada hepatopankreas, ovarium dan hemolimfa pada kepiting. Penggunaan analisa metode ELISA diperoleh informasi mengenai ketersediaan dan konsentrasi hormon tiroksin pada ke tiga jaringan tersebut. Berdasarkan pengamatan hormon tiroksin pada masing-

masing tahapan vitelogenesis I-III, menunjukkan bahwa konsentrasi hormon tiroksin pada hepatopankreas ditemukan lebih tertinggi dibandingkan ovarium dan *hemolymph*. Karakteristik hormon ini pada hepatopankreas menunjukkan nilai konsentrasi yang menurun dari tahap vitelogenik I-III.

Hal ini diduga karena hormon tiroksin yang ada pada hepatopankreas diangkut melalui hemolymfa ke ovarium. Konsentrasi hormon tiroksin yang tinggi pada hepatopankreas menunjukkan bahwa hormon tiroksin tersimpan pada organ tersebut. Hemolimp kemudian mentransfer hormon tersebut ke ovarium dan target lainnya sehingga peningkatan konsentrasi hormon tiroksin pada ovarium selama vitelogenesis.

Tingginya tingkat hormon tiroksin di hepatopankreas, seperti yang diamati dalam penelitian ini, menunjukkan bahwa hormon tiroksin memiliki peran penting dalam proses vitelogenik. Diduga hormon tersebut juga berperan meningkatkan dan mengatur sintesis pada proses vitelogenesis seperti pada vertebrata, atau dapat pula merangsang jalur metabolisme dimulai pada tahap vitelogenesis hingga lipogenesis dan dapat pula sebagai transportasi antar ion.

KESIMPULAN

1. Hormon tiroksin juga terdapat pada induk betina baik di hemolymph, hepatopankreas, ovarium dan sponge keping bakau (*Scylla serrata*).
2. Konsentrasi hormon tiroksin dalam hepatopankreas lebih tinggi dari lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Chen, H. Y., R. D. Watson., J. C. Chen., H. F. Liu., C. Y. Lee. 2007. *Molecular characterization and gene expression pattern of two putative molt-inhibiting hormones from *Litopenaeus vannamei**. *General and Comparative Endocrinology* 151: 72–81.
- Davis, S. L., N. B. Wehr, D. M. Laird and A. C. Hammond. 1994. *Serum growth hormone-binding protein (GHBP) in domestic animals as measured by ELISA*. *J Anim Sci* 72:1719-1727.
- Djunaidah I.S. 2004. *Kajian pola pemijahan keping bakau (*Scylla paramamosain* Estampador) dan peningkatan tampilan reproduksinya melalui perbaikan kualitas pakan alami dalam substrat pemeliharaan teruji*. Disertasi. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Entwistle, K. W., dan C. A. J. Ridd. 1995. *Teknologi ELISA dalam diagnosis dan penelitian : Asai hormon dengan ELISA*. Editor G. W. Burgess. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. (Diterjemahkan : W. T. Artama dan E. Moeliono).
- Hamasaki, K., Suprayudi, M.A., Takeuchi, T., 2002. *Mass mortality during metamorphosis to megalops in the seed production of mud crab, *Scylla serrata* (Crustacea, Decapoda, Portunidae)*. *Fish. Sci.* 68: 1226–1232.
- Hausmann, M. F., C. M. Vleck, and E. S. Farrar. 2007. *A laboratory exercise to illustrate increased salivary cortisol in response to three stressful conditions using competitive ELISA*. *Adv. Physiol. Educ.* 31: 110–115.
- John S, Sivadas P. 1978. *Morfological changes in development of the ovary in the eyestalk ablated estuarine crab, *Scylla serrata* (Forsk.)*. *Mahasagar* 11: 57-62.
- Oda, H, Y. Shiina, K. Seiki, N. Sato, N. Eguchi, and Y. Urade. 2002. *Development and Evaluation of a Practical ELISA for Human Urinary Lipocalin-Type Prostaglandin D Synthase*. *Clinical Chemistry* 48 (9): 1445–1453.
- Vaysse, J., M. Beaugrand, and M. Pontet. 1998. *Measurements of Total and Desialylated Sex Hormonebinding Globulin in Serum by ELISA*. *Clinical Chemistry* 44 (4): 882 – 884.
- Sugiono, S, Debby A, Aurelia L, Erna S., Ruth S. H, Budianto G. 2011. *ELISA*. <http://www.scribd.com/doc/39010855/ELISA.html>. Diakses tanggal 25 Mei 2011.
- Suprayudi, M.A., Takeuchi, T., Hamasaki, K., 2004. *Essential fatty acids for larval mud crab, *Scylla serrata*: implications of lack of the ability to bioconvert C18 unsaturated fatty acids to highly unsaturated fatty acids*. *Aquaculture* 231, 403–416.