

OOGENESIS PADA SIDAT (*Anguilla bicolor bicolor* Mc Clelland) HASIL FEMINISASI KOMBINASI HCG, MT DAN ANTI DOPAMIN

OOGENESIS ON INDONESIAN SHORT-FINNED EEL, Anguilla bicolor bicolor Mc Clelland, FEMINIZATION RESULT BY KOMBINATED HCG, MT AND DOPAMINE ANTAGONIS

Abdul Zahri¹, Moses Tjoanda², Farida^{3*}

¹Program Studi Teknologi Budidaya Perikanan, POLIKANT, Maluku Tenggara

²Program Studi Rekayasa Budidaya Laut, POLIKANT, Maluku Tenggara

³Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, UM Pontianak

*Koresponden: farida11zf@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan menganalisis oogenesis sidat hasil feminisasi kombinasi human chorionig gonadotropin (HCG), 17 α - metil testosterone (MT) dan anti dopamin (AD). Ekperimen dilakukan selama 10 minggu dengan mererapkan empat perlakuan, yaitu: AD 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (A); MT 3 mg L^{-1} (M), kombinasi AD, MT dan HCG 20 IU kg^{-1} (AMH) dengan larutan fisiologis NaCl 9 mg L^{-1} sebagai kontrol (K). Sidat dipelihara dalam bak beton kapasitas 3.400 L di isi dengan air sebanyak 2000 L, setiap perlakuan diwakili 27 ekor sidat. Salinitas diatur dan dipertahankan pada kisaran 34–35 ppt. Perlakuan diinjeksikan secara intramuskular pada pangkal sirip punggung dengan dosis 1 mL kg^{-1} . Sidat dengan bobot 200 ± 15 g diberi pakan pelet dengan kadar protein 46% dan lemak 8%. Pakan diberikan secara at satiasi sekali sehari pukul 18:00. Hasil histoanatomii gonad sidat menunjukkan bahwa semua perlakuan pada minggu pertama berkelamin jantan. Pada minggu ke-2 semua sidat yang disampling dari perlakuan AMH telah menjadi betina sedangkan perlakuan M, A dan K tetap sebagai jantan. Histoanatomii gonad jantan setiap perlakuan menunjukkan fase spermatogonia. Perkembangan ovarium dari perlakuan AMH memberikan gambaran lengkap fase oogenesis berkembang hingga fase vitelogenesis akhir. Analisis terhadap oogenesis menunjukkan adanya fase folliculogenesis dan vitelogenesis. Sinergisitas kombinasi hormon HCG, MT dan anti dopamin berpotensi digunakan untuk feminisasi dan merangsang oogenesis hingga fase vitelogenesis akhir, sedangkan MT berpotensi mengalami aromatisasi menjadi estrogen. Kualitas perkembangan ovarium tergambar dari indikator GSI.

Kata kunci: *Anguila bicolor bicolor*, feminisasi, ovarium, oogenesis, folikulogenesis, vitelogenesis, hormon.

ABSTRACT

This study aims to analyze the oogenesis of eel as a result of feminization of the combination of human chorionic gonadotropin (HCG), 17 α -methyl testosterone (MT) and dopamine antagonists (AD). The experiment was carried out for 10 weeks by applying four treatments, namely: AD 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (A); MT 3 mg L^{-1} (M), a combination of AD, MT and HCG 20 IU kg^{-1} (AMH) with physiological solution NaCl 9 mg L^{-1} by control (F). Eel is maintained in a concrete tank with a capacity of 3,400 L filled with 2000 L of water, each treatment represented by 27 eels. Salinity is adjusted and maintained in the range 34–35 ppt. The treatment is injected intramuscularly at the base of the dorsal fin at a dose of 1 mL kg^{-1} . Eel weighing 200 ± 15 g is fed pellets with 46% protein and 8% fat content. Feed is given at one satiation once a day at 18:00. The histoanatomy results of the gonad eels showed that all treatments in the first week were male. At week 2, all of the eels sampled from AMH treatment became female, while M, A and K treatments remained as male. Male gonad histoanatomy for each treatment showed a spermatogonia phase. Ovarian development from AMH treatment provides a complete picture of the oogenesis phase progressing to the final vitellogenesis phase. The analysis of oogenesis showed a phase of folliculogenesis and vitellogenesis. The synergy of the combination of HCG, MT and anti-dopamine hormones has the potential to be used to feminize and stimulate oogenesis until the final vitellogenesis phase, while MT has the potential to aromatize to become estrogen. The quality of ovarian development is reflected in the GSI indicator.

Keywords: Indonesian short-finned eel, feminization, ovarium, oogenesis, folliculogenesis, vitellogenesis, hormone

1. PENDAHULUAN

Gonad adalah organ reproduksi utama yang berkembang menjadi gonad betina (ovarium) dan gonad jantan (testes). Perkembangan gonad sidat (*Anguilla bicolor bicolor*) sangat unik, saat di air tawar gonad tidak berkembang, meskipun sidat telah dewasa, gonad mulai berkembang saat terpapar air asin (Zahri *et al.* 2020). Sidat fase *yellow* yang tertangkap di sungai, belum matang gonad dengan indek gonadosomatik (IGS) 0,1%–2,88% (Rachmawati & Susilo, 2012). Perkembangan gonad mulai terjadi sesaat memasuki laut (Zahri *et al.* 2015), yaitu saat ruaya pemijahan atau transisi memasuki fase *silver* pada *A. australis* (Setiawan *et al.* 2012) dan *A. anguilla* (Reckordt *et al.* 2014). *A. bicolor bicolor* yang dikondisikan pada salinitas dari 10 ppt dan ditingkatkan secara alamiah menjadi 35 ppt merangsang perkembangan gonad tahap awal (Zahri *et al.* 2016), sedangkan proses alamiah fase *yellow* sangat lambat 3–6 tahun (Arai & Chino, 2013), 5–12 tahun pada *A. anguilla* (Adachi *et al.* 2003), 5–15 tahun pada *A. japonica* (Yokouchi *et al.* 2009). Umur pertama matang gonad masih menjadi permasalahan utama budidaya yang menjadi dampak negatif pada performa pertumbuhan (Taranger *et al.* 2013).

Lamanya perkembangan ovarium pada sidat fase *yellow* menyulitkan untuk mempelajari fase oogenesisisnya, sedangkan sidat fase *silver* telah bermigrasi ke laut sebagai bagian penting dari daur reproduksi. *A. japonica* yang ovariumnya belum matang, perkembangan oosit pada fase pre-vitelogenik dan GSI 0,46% sampai 3,98% membutuhkan waktu yang lama (Ijiri *et al.* 1998 dalam Wang & Lou, 2007). Kondisi seperti ini membutuhkan bantuan hormon untuk merangsang perkembangan ovarium, sehingga tahapan oogenesis lebih mudah dipelajari. Oogenesis pada sidat terdiri atas enam fase, yaitu: oogonial proliferation, nukleolus kromatin (*cromatin nucleolus*,

CN), pertumbuhan primer (*primary growth*, PG), pertumbuhan sekunder (*secondary growth*, SG), oosit matang (oocyte maturation, OM) dan ovulasi (*ovulation*, OV) (Nielsen, 2014).

Folikel merupakan jaringan penting yang menjalankan fungsi-fungsi vital ovarium menghasilkan oosit. Folikel diselubungi sel granulosa, sel theca dan sel-sel epithel (Wang & Lou, 2007). Sel granulosa dan sel theca pada folikel berperan mensintesis dan mensekresikan dua steroid hormon penting untuk menginduksi folikulogenesis dan oogenesis, yaitu testosterone (T) dan estradiol (E2). Aktivitas sel theca menghasilkan T akibat rangsangan *luteinizing hormone* (LH) yang disintesis kelenjar pituitari. Pada *A. Anguilla* fase *yellow* konsentrasi LH 0,8 ng mg⁻¹ pituitari dan meningkat drastis ketika fase *silver* menjadi 17,5 ng mg⁻¹ pituitari (Aroua *et al.* 2005), sedangkan pada *A. bicolor bicolor* fase *yellow* konsentrasi LH 0,63 ng mL⁻¹ plasma darah dan fase *silver* 1,01 ng mL⁻¹ plasma darah (Zahri *et al.* 2018). Peningkatan konsentrasi LH dapat digunakan sebagai salah satu indikator bahwa sidat telah mencapai fase *silver*.

Testosteron dapat masuk ke sel granulosa secara parakrin, dan dengan bantuan enzim aromatase yang disintesis sel granulosa atas rangsangan *follicle stimulating hormone* (FSH), T dikonfersi menjadi E2. Aromatase merupakan kelompok enzim hemoprotein (Uno *et al.* 2012) yang berfungsi mensintesis estrogen dari androgen (Pifferer & Blazquez, 2006; Yaron & Levavi-Sivan, 2011) dan residunya sangat tinggi pada ovarium (Tzchori *et al.* 2004a; Tsai *et al.* 2011). Steroidogenesis selama awal pertumbuhan sekunder oosit diatur oleh FSH (Luckenbach *et al.* 2011). Konsentrasi FSH meningkat selama awal fase *silver* dan diikuti dengan peningkatan level LH (Aroua *et al.* 2005). Meskipun demikian, level FSH telah meningkat sampai 0,57 ng mL⁻¹ akhir fase *yellow* dan turun secara bertahap hingga 0,24

ng mL⁻¹ fase *silver* pada *A. bicolor bicolor* yang dirangsang dengan hormon (Zahri *et al.* 2018) dan FSH memegang peranan penting pada fase reproduksi (Aizen *et al.* 2012).

Estradiol merangsang hati untuk menghasilkan vitelogenin (Vtg) yang bermanfaat untuk perkembangan oosit, terutama sebagai prekursor kuning telur. Vitelogenin merupakan protein yang dapat berikatan dengan materi lipid, komponen karbohidrat, kelompok fosfat dan garam-garam mineral (Zahri, 2015). Vitelogenin mengandung fosfolipoglikoprotein dalam porsi terbesar merupakan prekursor kuning telur pada vertebrata ovipar, termasuk ikan (Hiramatsu *et al.* 2002 *dalam* Costa *et al.* 2010). Di dalam ovarium, Vtg diserap secara endositosis (Lucey, 2014), dan dipecah menjadi bahan baku utama pembentukan energi anabolik, diantaranya lipovitelenin (*Lvt*), lipovitelin (*Lv*) dan fosvitin (*Fv*) (Zahri *et al.* 2015). Peningkatan konsentrasi E2 mengikuti level FSH secara logaritmik dan linier dengan level LH serta mencapai puncaknya menjelang pemijahan. Tingginya level E2 dalam darah merangsang terjadinya feminisasi (Tzchori *et al.* 2004b, Tsai *et al.* 2011; Zahri *et al.* 2016), dan merangsang pembelahan mitosis, meiosis CN, PG, SG dan vitelogenesis pada oosit (Yaron & Levavi-Sivan, 2011; Forsgren *et al.* 2011). Keberadaan Vtg dalam darah menjadi sinyal pada poros pituitari untuk menekan sintesis dan sekresi FSH, sehingga konsentrasi dalam darah secara bertahap turun sampai ketingkat minimum (Zahri *et al.* 2018).

Hormon memainkan peranan penting terhadap banyak fungsi-fungsi reproduksi, sehingga dengan merekayasa kemampuan sintesis dan sekresi hormon pada poros otak-pituitari-gonad dapat digunakan untuk pengkondisian jenis kelamin dan meningkatkan kemampuan reproduksi. Kemampuan pengkondisian jenis kelamin pada budidaya menjadi penting sebagai upaya penyediaan induk berkualitas, terutama pada ikan-ikan golongan hermaprodit dan gonokhoris. Pada *A. bicolor*

bicolor yang gonokhoris, feminisasi dapat dilakukan hingga 90% dari populasi contoh dengan kombinasi HCG, MT dan anti dopamin (Zahri *et al.* 2016). Sidat betina pertumbuhannya lebih lambat dari sidat jantan (Helfman *et al.* 1987 *dalam* Côté *et al.* 2009; Walsh *et al.* 2006; Yokouchi *et al.* 2009), tetapi mampu mencapai ukuran maksimal lebih besar dari sidat jantan (Holgren *et al.* 1997 *dalam* Kearney *et al.* 2011; Zahri, 2015). Ukuran yang lebih besar sebagai bagian dari strategi reproduksi untuk meningkatkan kuantitas telur.

Dopamin merupakan neurotransmitter yang mengatur reproduksi dan tingkah laku reproduksi (Weltzien *et al.* 2009), dan diduga bertanggungjawab pada respon fisiologi terhadap perubahan lingkungan dan naluri migrasi pemijahan (Wise, 2004; Sébert *et al.* 2008), serta aktif menghambat sintesis dan sekresi gonadotropin (Sébert *et al.* 2008). Dopamin memiliki reseptor yang terbatas pada inti hipotalamus dorsal dan medial serta habenula ventral (Callier *et al.* 2003), sehingga hanya berdampak pada semua hormon yang disintesis di hipotalamus. Penambahan kombinasi hormon dengan anti dopamin diharapkan dapat meningkatkan sintesis dan sekresi gonadotropin merangsang folikogenesis dan vitelogenesis pada *A. bicolor bicolor*.

2. METODE PENELITIAN

Analisis data hasil penelitian dilakukan sejak bulan Agustus 2019. Sidat yang menjadi hewan uji masih pada fase *yellow*, dengan bobot 100 ± 25 g dan panjang $33,8 \pm 1,4$ cm. Sidat berasal dari alam yang ditangkap oleh Balai Layanan Usaha Pengembangan Perikanan Budidaya (BLUPPB) Karawang, Jawa Barat. Sebanyak 250 hewan uji dipelihara pada dua bak beton ukuran $3 \times 2 \times 1,5$ m³, berisi air tawar setinggi 90 cm. Pemeliharaan dilakukan selama enam bulan hingga sidat mencapai bobot 175 ± 15 g per ekor, dan pakan yang diberikan berupa pellet (protein 46%) berbentuk butiran 3 mm. pakan

diberikan secara *at satiation* sekali sehari pada pukul 18:30 WIB. Pemeliharaan menggunakan sistem resirkulasi yang dilengkapi bak filter (filter fisik dan UV), dengan debit air 30 liter per menit.

Pengkondisian salinitas

Pengkondisian salinitas dilakukan pada empat unit bak beton yang berisi air tawar setinggi 15 cm. Pada masing-masing bak berisi 27 ekor sidat yang telah diseleksi secara proporsional berdasarkan berat dan panjang tubuh. Setelah satu minggu pemeliharaan, ditambahkan air asin dengan salinitas 30 ppt secara perlahan melalui sistem filter dengan debit 30 liter per menit. Penambahan air asin hingga diperoleh salinitas 25 ppt dengan ketinggian air 60 cm. Sidat dipelihara hingga mencapai berat 200 ± 15 g dan panjang $40,5 \pm 2,74$ cm. Selama pemeliharaan, ketinggian air berkurang sebanyak 20 cm karena proses penguapan secara alamiah dan salinitas meningkat hingga 35 ppt. Salinitas dipertahankan selama perlakuan dengan menambahkan air tawar.

Penyuntikan hormon

Sebelum penyuntikan, sidat ditenangkan dengan elektro-anestesi dengan tegangan 110 V AC selama 20–25 detik, kemudian direlaksasi jaringan otot 5–10 detik. Penyuntikan hormon dilakukan secara itramuskular pada dasar sirip punggung, dengan dosis 1 mL kg⁻¹. Sidat kemudian dikembalikan ke bak pemeliharaan. Penyuntikan, pengukuran panjang, berat tubuh dan berat gonad dilakukan sebanyak enam kali dengan periode tiap dua minggu, yaitu minggu ke-0, ke-2, ke-4, ke-6, ke-8, ke-10 (10 minggu).

Pengambilan contoh gonad

Contoh gonad diambil dari sembilan sidat yang dikorbankan. Gonad dibersihkan dari bercak darah, ditimbang dan diawetkan dalam larutan formalin-alkohol-asam asetat (FAA) dengan perbandingan 1:1:0,3. Preparat histogonad dibuat berdasarkan

metode Gunarso 1989, dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin. Spermatogenesis di identifikasi berdasarkan Kagawa *et al.* (2009); Kazeto *et al.* (2008); Miura *et al.* (2003); Tomkiewicz *et al.* (2011) dan Oogenesis di identifikasi menurut Adachi *et al.* (2003); Chai *et al.* (2010); Le Mann *et al.* (2007); Lokman *et al.* (2007); Palstra *et al.* (2007); Tomkiewicz *et al.* (2007).

Parameter uji

Indeks gonadosomatik merupakan persentase perbandingan antara berat gonad dengan berat tubuh sidat dihitung dengan Pers. (1).

$$IGS = \frac{bg}{bt} \times 100\% \quad (1)$$

Keterangan: IGS: indeks gonadosomatik, bg: berat gonad (g), bt: berat tubuh tanpa gonad (g),

Indeks hepatosomatik merupakan persentase perbandingan antara berat hati dengan bobot tubuh sidat dihitung dengan Pers. (2).

$$IHS = \left(\frac{bh}{bt} \right) \times 100\% \quad (2)$$

Keterangan: IHS = indeks hepatosomatik, bh = berat hati (g), bt = berat tubuh tanpa gonad (g)

Analisis data

Nilai IGS dan IHS dianalisis ragam dan beda nilai tengah perlakuan di uji dengan uji beda nyata terkecil dengan selang kepercayaan 95%. Hasil pengamatan struktur makroskopis dan mikroskopis gonad dianalisis secara deskriptif.

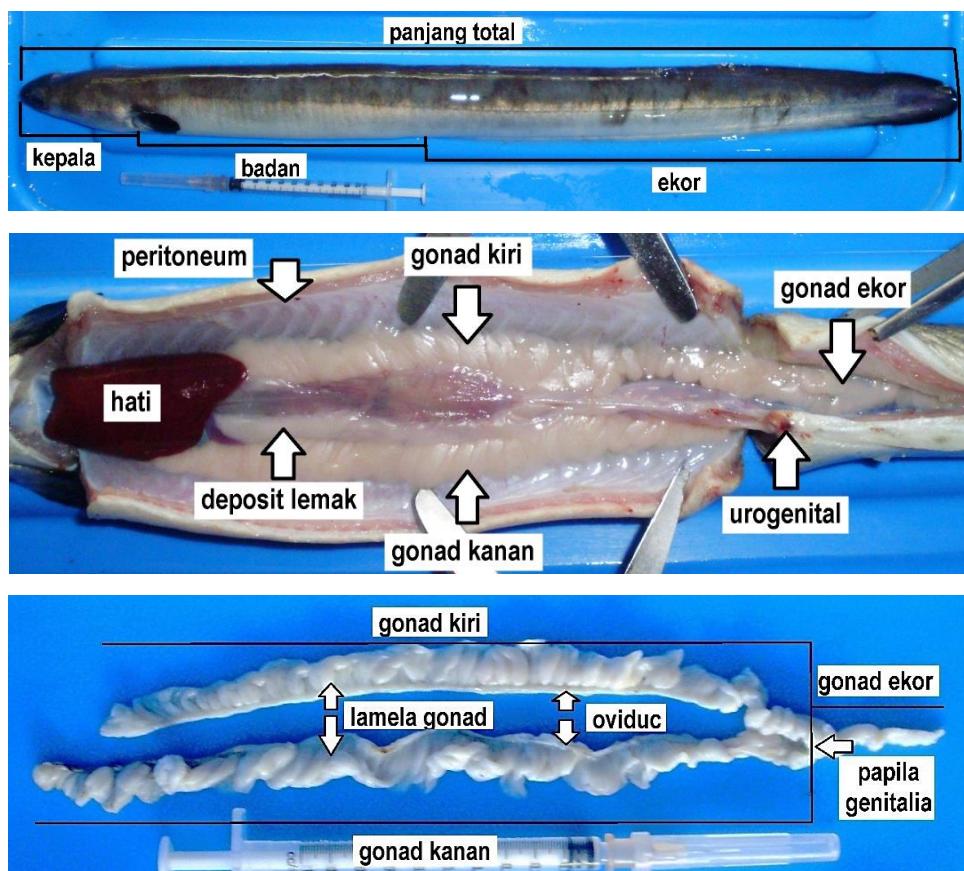
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ovarium sidat terletak memanjang secara longitudinal bilateral dalam rongga perut dari urogenital kearah anterior sampai organ hati dan sekitar 3 cm posterior. Ovarium terbagi menjadi tiga bagian, yaitu ovarium kiri, ovarium kanan dan ovarium ekor (Gambar 1). Sidat tergolong gonokhoris tak berdiferensiasi sehingga mampu melakukan perubahan jenis kelamin secara spontan saat

Tabel 1. Konsentrasi hormon, indeks gonadosomatik (IGS), indeks hepatosomatik (IHS) sidat (*Anguilla bicolor bicolor*) pada tiap perlakuan.

Perlakuan	Konsentrasi hormon dan kombinasinya	IGS (%) (rerata±sb)	IHS (%) (rerata±sb)
F	9 mg L ⁻¹	0,736±0,973 ^a	0,590±0,351 ^a
A	10 µg L ⁻¹	0,198±0,020 ^a	0,646±0,062 ^a
M	3 mg L ⁻¹	1,401±1,138 ^b	0,826±0,204 ^a
HMA	20 IU mL ⁻¹ ; 3 mg L ⁻¹ ; 10 µg L ⁻¹	4,801±0,481 ^c	1,009±0,210 ^b

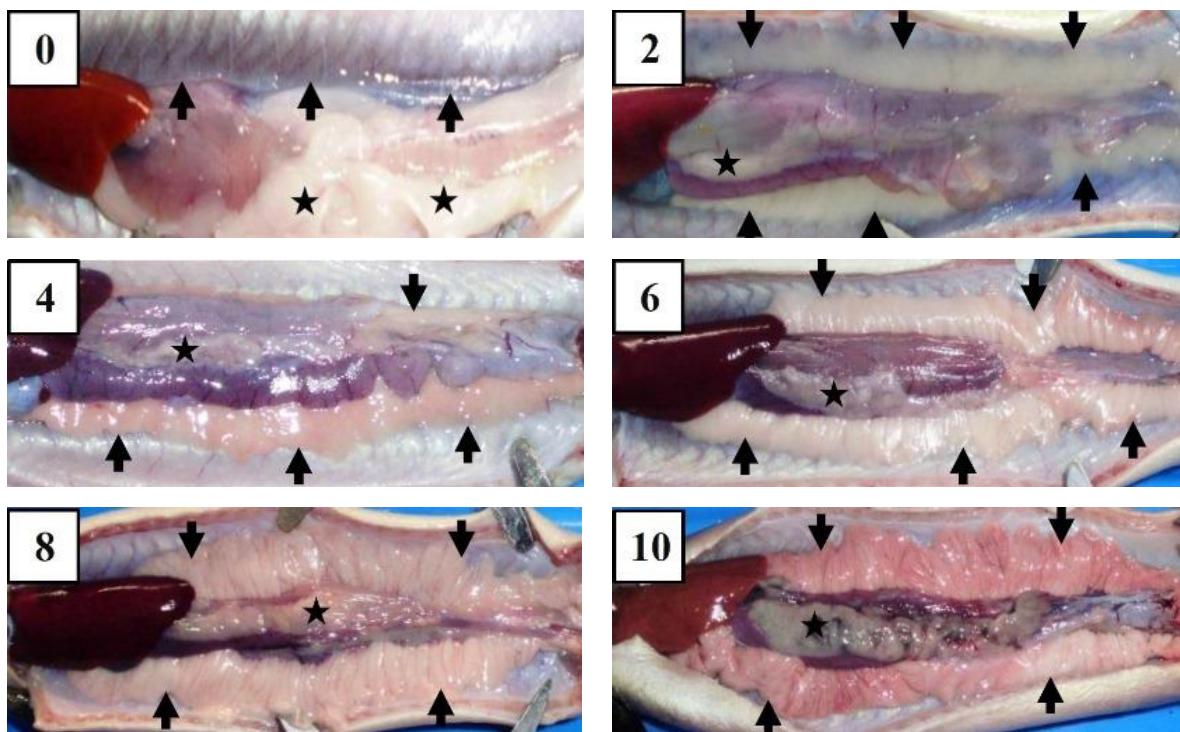
Huruf tika atas yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata ($P \leq 0,05$)



Gambar 1. Morfoanatomi ovarium sidat (*Anguilla bicolor bicolor*). Skala syringe: 135 mm.

terdapat rangsangan. Semua sampel sidat Minggu ke-0 berkelamin jantan, dengan testes fase spermatogonia. Secara makroskopis, testes sangat tipis dengan lebar lamela 2,5 mm dan ketebalan 0,4 mm. visualisasi testes transparan yang dilindungi selaput *tunica albuginea* yang banyak terdapat pembuluh darah kapiler dan jaringan saraf. Spermatogenesis diawali dengan

berkembangnya sel germinal melalui beberapa tahap sitologi. Sel-sel germinal yang berada di dalam stroma dinding tubulus menghasilkan spermatogonia primer dengan nukleus yang besar mengandung kromatin. Setiap spermatogonia primer mengalami serangkaian pembelahan mitosis menghasilkan spermatogonia sekunder yang dienkapsulasi. Setiap kapsul mengandung sel



Gambar 2. Perubahan makroskopik perkembangan ovarium hasil induksi hormon pada sidat *A. bicolor*). Tanda panah menunjukkan ovarium, bintang menunjukkan deposit lemak.

pada tahap diferensiasi yang seragam (Miura *et al.* 2003; Tomkiewicz *et al.* 2011). Semua testes teridentifikasi pada fase spermatogonia primer dan sekunder (Gambar 1; minggu ke-0) dengan nilai IGS pada perlakuan M $1,401 \pm 1,138$, A $0,198 \pm 0,020\%$ dan kontrol $0,736 \pm 0,973\%$ (Tabel 1).

Feminisasi hanya ditemukan pada perlakuan AMH, MT merupakan sintetik T merupakan salah satu steroid hormon yang dapat mengalami aromatisasi menjadi E2 (Piferrer & Blazquez 2006). Kemampuan folikel menghasilkan T dari berbagai substrat steroid secara konsisten lebih tinggi dari pada produksi E2. Estradiol endogenous dihasilkan di sel granulosa setelah menerima rangsangan FSH yang bersumber dari HCG. Penambahan anti dopamin bertujuan untuk menahan dopamin pada poros otak-pituitari, dengan dihambatnya aktivitas dopamin merangsang pituitari melepaskan FSH endogenous (Rousseau *et al.* 2009). Setelah FSH memasuki sistem sirkulasi dan sampai ke ovarium, direspon dengan produksi steroid

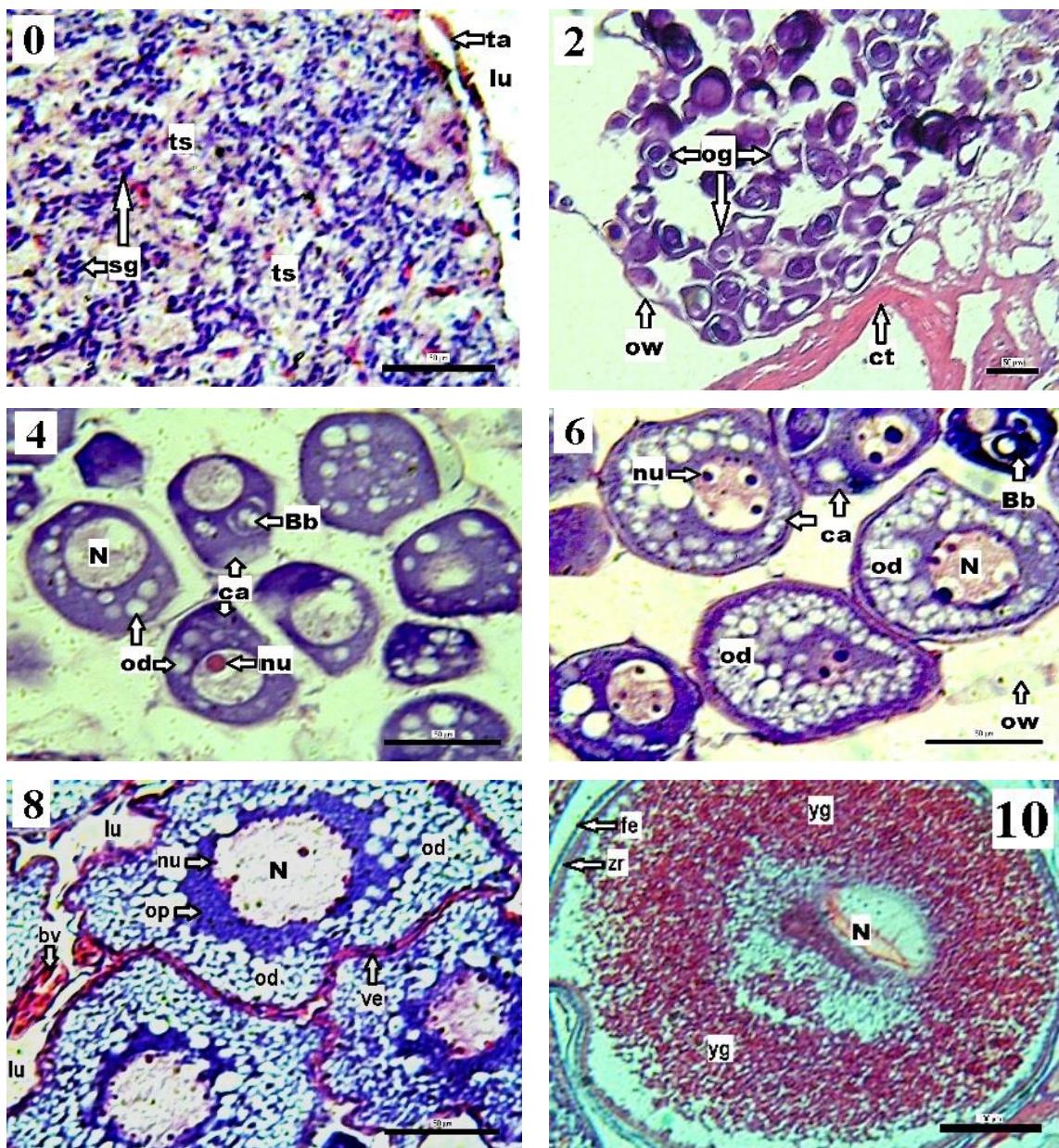
hormon. Bila yang disekresi E2 mendorong terjadinya feminisasi dan merangsang folikulogenesis.

Sidat melakukan sinkronisasi pemijahan, oosit matang pada waktu yang bersamaan dan seluruhnya dikeluarkan saat ovulasi. Perkembangan sel germinal, fase previtelogenesis (CN, perinukleolus, *cortical alveoli*), fase vitelogenesis relativ seragam sehingga dapat diamati. Pada penelitian ini fase previtelogenesis dan vitelogenesis menjadi tema penting untuk dibahas.

Minggu ke-2 setelah penyuntikan hormon, sidat yang mendapat perlakuan HMA mengalami transformasi jenis kelamin menjadi betina, yang dibuktikan dengan ditemukannya sidat dengan ovarium yang mengandung oogonia fase kromatin dengan inti yang besar dan mengandung ooplasma basofilik (Gambar 2; 2). Ovarium terus berkembang secara linier hingga Minggu ke-10, dengan oogonia fase V vitelogenesis akhir. Kontrol dan perlakuan A tidak

ditemukan sidat betina hingga akhir penelitian.

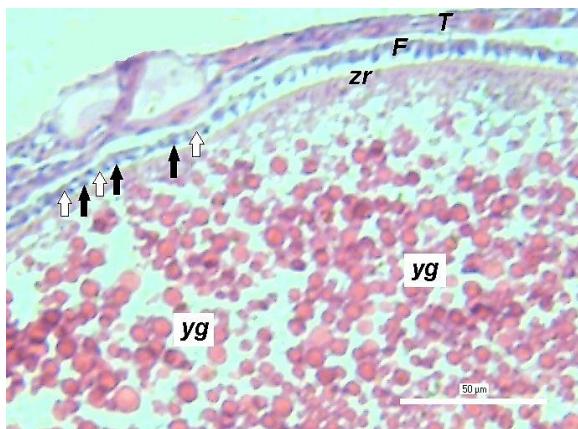
ovarium mengandung sel somatik, *primordial germ cell* (PGC) dan sekelompok



Gambar 3. Histoanatomi karakteristik perkembangan ovarium sidat (*Anguilla bicolor bicolor*) selama oogenesi. 0: spermatogonia primer. 2: fase I, oosit kecil dengan nukleus besar. 4: fase II, oosit fase kromatine nukleolus. 6: fase III perinukleolus dan *od* awal, oosit besar dan sudah terbentuk *od* pada sitoplasma; 8: fase IV *od* akhir atau vitelogenik awal, nukleolus tumbuh pada perifer nukleus dengan *od* bertambah banyak pada sitoplasma (awal vitelogenesis); 10: fase V, oosit besar dan penuh *yg* dan inti kecil (akhir vitelogenesis). Teknik pewarnaan H-E. Skala Bar: 0–8 = 50 µm, 10 = 100 µm. Bb, Balbiani body; ca: cortical alveoli; ct, jaringan ikat; fe, folikel epitelium; lu, lumen; N, nukleus; nu, nukleolus; od, oil droplet; og, oogonia; ow, dinding ovarium; sg, spermatogonia; ta, tunica albuginea; ts, jaringan testikular; ve, amplop vitelin; yg, yolk granule; zr, zona radiata.

Ovarium minggu ke-2 berwarna putih dengan lebar lamela 1 cm dan tebal 0,7 cm.

oogonia fase CN, yaitu fase penyusunan kromosom di dalam nukleus. Sel somatik

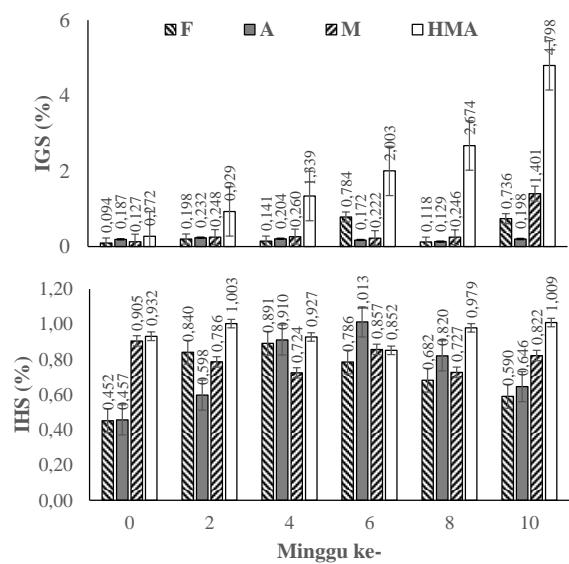


Gambar 4. Komposisi lapisan folikular oosit.

F, lapisan folikel; T, lapisan theca; yg, yolk granule; zr, zona radiata; panah hitam dan putih = sel granulosa. Skala bar = 50 μ m.

berwarna kemerahan yang berfungsi melindungi germ sel. Semua PGC berbentuk sel oval atau bulat yang besar dengan nukleus mengisi sebagian besar ruang sel Gambar 2; 2). Mekanisme perbanyak sel, PGC aktiv melakukan pembelahan mitosis dan dengan cepat berkembang seiring dengan perkembangan gonad (Mazzoni & Grassiotto, 2017). Pada sidat betina, PGC tersebar di tengah jaringan ovarium, dengan sel somatik yang terkonsentrasi pada pinggiran ovarium. Pada fase ini, masih memungkinkan terjadinya perubahan gonad batina dari gonad jantan, dan perbanyakkan oogonia mulai terjadi secara meiosis, menghasilkan oosit (Mazzoni & Grassiotto, 2017). Pada fase ini level estradiol sangat rendah dan diameter folikel vitelogenik sangat kecil dalam ovarium (Thome *et al.* 2012).

Kromatin merupakan kelompok DNA dan protein yang membentuk isi nukleus. Kromatin yang terkondensasi membentuk kromosom (Nirchio *et al.* 2014). Kromatin berfungsi mengemas DNA agar sesuai dengan ukuran nukleus. Fungsi kromatin lainnya adalah untuk menjaga DNA dari kerusakan, sehingga informasi dapat terekspresi dengan sempurna (Karimi *et al.* 2015). Ciri-ciri fase ini ukuran oogonia sangat kecil berukuran 30–50 μ m dengan



Gambar 5. Laju pertumbuhan spesifik (LPS) dan indeks mata (IM) sidat, *Anguilla bicolor bicolor* setiap perlakuan selama penelitian.

nukleus yang besar dan mengandung sedikit ooplasma.

Minggu ke-4 (Gambar 3; 4) ovarium telah berkembang dengan lebar lamela 1,2 cm dan lebar 0,8 cm. Ovarium berwarna putih dan kemerah-merahan dibeberapa tempat yang disebabkan adanya peningkatan aktivitas pembuluh darah. Meningkatnya suplai darah ke ovarium menunjukkan semakin banyak membutuhkan energi untuk pertumbuhan oogonia. Analisis histioanatomi, oogonia mengandung satu sampai dua nukleolus berwarna merah marun mulai terbentuk disekitar perifer nukleus. Seiring dengan perkembangan oogonia, terbentuk *cortical alveoli* (*ca*) dan butir-butir minyak (*oil droplet, od*) pada ooplasma. Badan balbiani yang terbentuk dari massa mitokondria terlihat (Gambar 3; 2, 4, 6), merupakan bakal kuning telur (*yolk nucleus*) (McMillan, 2007). Ovarium dengan ciri-ciri seperti ini identik dengan perkembangan fase II perinukleous dan fase III *ca*, ciri oosit seperti ini merupakan indikator fase previtelogenesis (Adachi *et al.* 2003; Chai *et al.* 2010; Le Mann *et al.* 2007; Lokman *et al.* 2007; McMillan 2007; Palstra *et al.* 2007; Tomkiewicz *et al.* 2007). Oosit

previtelogenesis mulai mengakumulasi lipid netral pada awal fase PG, dan disimpan sebagai *od* dalam ooplasma (Reading *et al.* 2018). Pada masa pertumbuhan oosit, lipid disuplai tidak hanya dari pakan, tetapi juga dari cadangan energi dalam bentuk deposit lemak yang tersebar disepanjang ovarium (Gambar 2).

Struktur *ca* ini tampak seperti rongga-rongga kosong pada oogonia (*yolk vesicles*) menyerupai *od* (Gambar 3; 4, 6) dan seiring perkembangan oogonia jumlah *od* semakin bertambah membentuk lapisan perifer oogonia dan terbentuk minyak didalamnya (Thome *et al.* 2012). Pada ikan air tawar, *ca* berfungsi untuk mencegah polispermiasi (Bazzoli & Godinho, 1994; Mazzoni & Grassiotto, 2017). Selama fase ini, terjadi intensitas pembentukan *od* mengakibatkan ukuran oogonia semakin besar, sekitar 50–75 μm .

Perkembangan ovarium minggu ke-6 (Gambar 3; 6) terlihat adanya perluasan jaringan pembuluh darah dengan indikasi meluasnya warna kemerahan pada ovarium. Lamela bertambah besar dengan lebar 2 cm dan tebal 1 cm. Gambaran histoanatomii, ovarium mengandung oogonia berbentuk bulat atau oval dengan ukuran 75–100 μm . Ooplasma penuh dengan *od* hingga ke bagian perifer oogonia. Tiga sampai enam nukleolus terlihat dibagian perifer nukleus. Perkembangan oogonia dengan ciri-ciri demikian mengindikasikan telah mencapai akhir fase III dan fase IV awal vitelogenesis. Pada fase ini, *ca* bermigrasi ke bagian perifer membentuk lapisan di antara zona pelucida dan massa *od*.

Minggu ke-8 (Gambar 3; 8), secara morfologi ovarium berwarna putih dan warna kemerahan di beberapa bagian. Lamela ovarium semakin meluas dengan lebar 3 cm dan tebal 1 cm. berdasarkan analisis histoanatomii menunjukkan ovarium fase IV medial vitelogenesis. Ovarium fase ini diindikasikan dengan bertambahnya ukuran dan jumlah *od* dalam ooplasma. Ukuran

oogonia bertambah besar mencapai 400–550 μm , dengan korion yang tipis.

Morfologi ovarium minggu ke-10 berwarna kemerah-merahan karena *od* telah terisi dengan kuning telur berukuran kecil (*yolk granule*, yg). Lamela ovarii telah berkembang mencapai lebar 3 cm dan tebal 1,2 cm. Analisis histoanatomii ovarium sidat memperlihatkan pembentukan *yolk granule* yang kaya protein dan vakuola minyak pada ooplasma. Oosit dengan indikator demikian telah mencapai fase V vitelogenesis akhir dan mencapai ukuran maksimalnya pada akhir fase ini, yaitu 600–750 μm . Besarnya ukuran oosit terkonfirmasi dari nilai IGS yang berbeda nyata terhadap perlakuan A dan kontrol, yaitu 4,80% (Tabel 1). Pada potongan oosit yang diperbesar terlihat jelas komposisi lapisan folikular, zona radiata, sel folikel dan lapisan theca (Viana *et al.* 2018).

Folikulogenesis mendorong intensifikasi sintesis dan sekresi E2, dan konsentrasi E2 dalam darah meningkat seiring oogenesis. Melalui sistem sirkulasi, E2 diedarkan keseluruh tubuh dan merangsang hati mensintesis Vtg. Diproduksinya Vtg oleh hati, maka dimulailah fase vitelogenesis. Pada fase vitelogenesis terjadi penimbunan energi dalam bentuk fosfolipoprotein, yang disimpan dalam bentuk kuning telur (Reading *et al.* 2018).

Komponen utama penyusun Vtg terdiri atas fosfolipoglikoprotein yang mengandung elemen mineral, seperti calcium, besi dan zinc (Hara *et al.* 2016), berfungsi sebagai prekursor kuning telur. Melalui sistem sirkulasi Vtg dikirim ke ovarium dan diserap secara endositosis oleh oosit dan terakumulasi selama vitelogenesis (Reading *et al.* 2018), kemudian fosfolipoglikoprotein dirombak menjadi bahan-bahan penyusun kuning telur (Adachi *et al.* 2003; Anton 2007). Bahan-bahan penting penyusun kuning telur terdiri atas *Lvt*, *Lv* dan *Fv*. Lipovitelenin merupakan *low-density lipoprotein* (LDL) penyusun kuning telur dengan porsi terbesar, kadarnya dalam oosit mencapai 65%. Lipovitelenin mengandung

11–17% protein dan 83–89% lipid, dan lipid tersusun atas 74% lipid netral dan 26% fosfolipid (Anton 2007a). Lipovitelin atau *high-density lipoprotein* (HDL) menyusun 16% kuning telur yang terdiri atas 75–80% protein dan 20–25% lipid. Komponen lipid tersusun atas 65% fosfolipid, 30% triglyserida dan 5% kolesterol (Anton 2007b). Fosvitin adalah fosfoglikoprotein menyusun 4% dari oosit (Anton 2007c).

Vitelogenesis merupakan proses periodik yang diatur melalui aktivitas neuroendokrin poros otak-pituitari-gonad. Produksi tropik hormon gonadotropin releasing hormon (GnRH) oleh otak karena terhambatnya dopamin, merangsang produksi endogenous FSH. Meningkatnya sekresi FSH endogenous ditambah dengan FSH dari HCG, mengakibatkan konsentrasi dalam darah maksimal dan direspon oleh folikel ovarium untuk memproduksi E2. Sirkulasi E2 dengan terikat pada globulin dalam darah sampai di hati dan bergabung dengan reseptor estrogen untuk memulai sintesis Vtg (Hara *et al.* 2016). Tetapi, E2 dan reseptor estrogen sepertinya bukan satu-satunya faktor yang merangsang produksi Vtg pada ikan (Reading *et al.* 2018). Karena penelitian yang menerapkan E2 dan dikombinasikan dengan HCG dan anti dopamin pada *A. bicolor bicolor* memberikan respon yang lemah terhadap feminisasi, hanya 30% dan vitelogenesis awal. Tidak seperti kombinasi MT, HCG dan anti dopamin yang bekerja lebih efektif pada feminisasi hingga 90% dan vitelogenesis akhir (Zahri *et al.* 2016), demikian pula pada *A. japonica* (Wang & Lou, 2007). Meskipun MT dapat mengalami aromatisasi menjadi E2, tetapi untuk melakukan proses tersebut diperlukan sejumlah energi yang sebagian besar diperoleh dari pakan.

Kualitas telur selain ditentukan kualitas kuning telur, juga ditentukan kuantitasnya, kuning telur yang besar memberikan cadangan makanan yang cukup untuk perkembangan awal larva, hingga perkembangan sistem digestivnya sempurna.

Setelah folikulogenesis dimulai, maka sel-sel prefolikular dan sel-sel folikular aktiv menyokong pertumbuhan oosit. Periode pertumbuhan antara previtelogenesis sampai vitelogenesis merupakan fase kritis pada manajemen induk, karena berkontribusi pada kualitas telur. Sehingga nutrisi induk harus diperhatikan dengan memberikan pakan yang berkualitas.

4. KESIMPULAN

Folikulogenesis, previtelogenesis dan vitelogenesis merupakan sebagian informasi penting mengenai oogenesis pada sidat yang berfungsi sangat penting pada mekanisme pengaturan dan secara langsung berkorelasi terhadap kualitas telur. Upaya untuk memahami secara komprehensif terhadap oogenesis pada sidat berkontribusi pada pengembangan teknologi terapan untuk pengkondisian jenis kelamin dan peningkatan kualitas telur terhadap sidat dan secara terintegrasi pada jenis ikan lain yang dibudidayakan serta konservasi pada fase reproduksi ikan liar.

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*. Tokyo: Springer-Verlag.
- Aizen, J., Kobayashi, M., Selicharova, I., Sohn, Y.C., Yoshizaki, G., Levavi-Sivan, B. 2012. Steroidogenic respons of carp ovaries to piscine FSH and LH depends reproductive phase. *General and Comparative Endocrinology*, 178: 20–36.
- 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.
- Arai, T., Chino, N. 2013. Timing of maturation of a tropical eel, *Anguilla bicolor bicolor* in Malaysia. *Journal of Applied Ichthyology*, 29: 271–273.
- Aroua, S., Schmitz, M., Baloche, S., Vidal, B., Rousseau, K., Dufour, S. 2005. Endocrine evidence that silverying, a secondary metamorphosis in the eel, is a pubertal rather than a metamorphic event. *Neuroendocrinology*, 82: 221–232.
- Bazzoli, N., Godinho, H.P. 1994. Cortical alveoli in oocytes of freshwater Neotropical teleost fish. *Italian Journal of Zoology*, 16(4): 301–308.
- Callier, S., Snappyan S., Le Crom. S., Prou D., Vincent J-D., Vernier, P. 2003. Evolution and cell biology of dopamine receptors in vertebrates. Review. *Biology of the Cell*, 95: 489–502.
- 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.
- Costa, D.D.M., Neto, F.F., Costa, M.D.M., Morais, R.N., Garcia, J.R.E., Esquivel, B.M., Ribeiro, C.A.O. 2010. Vitellogenesis and other physiological responses induced by 17-estradiol in males freshwater fish *Ramdia quelen*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, Part C 151: 248–257.
- Côté, C.L., Castonguay, M., Verreault, G., Bernatchez, L. 2009. Differential effects of origin and salinity rearing condition on growth of glass eels of the American eel *Anguilla rostrata*: implications for stocking programmes. *Journal of Fish Biology*, 74: 1954–1948. doi:10.1111/j.1095-8649.2009.02291.x
- Forsgren, K.L., Swanson, P., Young, G. 2011. Regulation of development of late primary and early secondary ovarian follicles of coho salmon by sex steroids. *Indian J. Sci. Technol.*, 4(S8): 212–213.
- Gunarso, W. 1989. Mikroteknik. Pusat Antar Universitas Ilmu Hayati. Institut Pertanian Bogor. 87 hlm.
- Hara, A., Hiramatsu, N., Fujita, T. 2016. Vitellogenesis and choriogenesis in fishes. *Fish Sci.*, 82: 167–202.
- 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.
- Karimi, A., Araghi, P.E., Syed, M.A., Wilson, S.P. 2015. Chromosome preparation in fish: effects of fish species and larval age. *International Aquatic Research*, vol. 7, issue, 3: 201–210.
- Kazeto, Y., Kohara, M., Miura, T., Miura, C., Yamaguchi, S., Trant, J.M., 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.
- 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: 33–44.
- Le Menn, F., Cerdá, J., Babin, P.J. 2007. Ultrastructural aspects of the ontogeny and differentiation of ray-finned fish ovarian follicles. In: Babin PJ, Cerdá J, Lubzens E (eds). *The fish oocyte: from basic studies to biotechnological applications*. Berlin: Springer.
- Lucey, S.M. 2014. Characteristik of fish yolk proteins and a method for inducing vitellogenin. Master Theses 1911. University of Massachusetts Amherst. US. 334p.
- Luckenbach, J.A., Yamamoto, Y., Guzman, J.M., Swanson, P. (2011). Understanding the function of follicle stimulating hormone prior to onset of vitellogenesis. *Indian J. Sci. Technol.*, 4(S8): 210–211.
- Lokman, P.M., George, K.A.N., Divers, S.L., Algie, M., Young, G. 2007. 11-Ketotestosterone and IGF-I increase the size of

- previtellogenetic oocytes from short-finned eel *Anguilla australis* in vitro. *Reproduction*, 133: 955–967.
- Mazzoni, T.S., Grassiotto, I.Q. 2017. Ovary differentiation and activity in teleostei fish. *Theriogenology*, Chapter 7: 129–156.
- McMillan, D.B. 2007. Fish histology: female reproduction systems. Springer: 67–208.
- 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.
- Nielsen, J.J. 2014. European eel reproduction: Oogenesis and ovarian development. [Bachelor Thesis]. Environmental Biology. Roskilde University, Denmark. 45pp.
- Nirchio, M., Rossi, A.R., Foresti, F., Oliveira, C. 2014. Chromosome evolution in fishes: a new challenging proposal from Neotropical species. *Neotropical Ichthyology*, 12(4): 761–770.
- 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.
- Piferrer, F., Blazquez. 2006. Aromatase distribution and regulation in fish. Review. *Fish Physiology and Biochemistry*, 31(2): 215–226.
- Rachmawati, F.N., Susilo, U. 2012. Kajian histologi ovarium ikan sidat, *Anguilla bicolor* Mc Clelland, yang tertangkap di Segara Anakan Cilacap. *Berk. Penel. Hayati*, 18: 47–49.
- Reading, B.J., Andersen, L.K., Ryu, Y-W., Mushirobira, Y., Takashi, T., Hiramatsu, N. 2018. Oogenesis and egg quality in finfish: yolk formation and other factors influencing female fertility. Review. *Fishes*, 3(45): 1–28.
- Reckordt, M., Ubi, C., Wagner, C., Frankowski, J., Dorow, M. 2014. Downstream migration dynamics of female and male silver eels (*Anguilla anguilla* L.) in the regulated German lowland Warnow river. *Ecology of Freshwater Fish*, 23: 7–20.
- 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.
- Sébert, M-E., Weltzien, F-A., Moisan, C., Pasualini, C., Dufour, S. 2008. Dopaminergic systems in the European eel: characterization, brain distribution, and potential role in migration and reproduction. *Hydrobiologia*, 602: 27–46.
- Sébert, M-E., Legros, A., Weltzien, F-A., Malpaux, B., Chemineau, P., Dufour, S. 2008. Melatonin activates brain dopaminergic system in the eel with an inhibitory impact on reproductive function. *Journal of Neuroendocrinology*, 20: 917–929.
- Taranger, G.L., Carrillo, M., Schulz, R.W., Fontaine, P., Zanuy, S., Felip, A., Weltzien, F-A., Dufour, S., Karslen, Ø., Norberg, B., Andersson, E., Hansen, T. 2013. Control of puberty in farmed fish. *General Comparative Endocrinology*, 165: 483–515.
- Thome, R.G., Domingos, F.F.T., Santos, H.B., Martinelli, P.M., Sato, Y., Rizzo, E., Bazzoli, N. 2012. Apoptosis, cell proliferation and vitellogenesis during the folliculogenesis and follicular growth in teleost fish. *Tissue and Cell*, 44: 54–62.
- Tomkiewicz, J., Lauesen, P., Graver, C., Jarlaebk, H. 2007. Oogenesis and Maturation of European Eel Induced by Hormonal Treatment. Denmark: DTU Aqua Reports.
- Tomkiewicz, J., Kofoed, T.M.N., Pedersen, J.S. 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.
- Tsai Ya-Ju, Lee Mong-Fong, Chen Chia-Yung, Chang Ching-Fong. 2011. Development of gonadal tissue and aromatase function in the protogynous orange-spotted grouper *Epinephelus coioides*. *Zoological Studies* 50(6): 693–704.
- Tzchori, I., Degani, G., Elisha, R., Eliyahu, R., Hurvitz, A., Muav, B. (2004b). Cloning and developmental expression of the cytochrome P450 aromatase gene (CYP19) in the European eel *Anguilla anguilla*. *General and Comparative Endocrinology*, 138: 271–280.
- Tzchori, I., Degani, G., Elisha, R., Hurvitz, A., Muav, B. (2004b). The influence of phytoestrogens and oestradiol-17 β on growth and sex determination in the European eel (*Anguilla anguilla*). *Aquaculture Research*: 1–7.

- Uno, T., Ishizuka, M., Itakura, T. 2012. Cytochrome P450 (CYP) in fish. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 34: 1–30.
- Viana, I.K.S., Goncalves, L.A.B., Ferreira, M.A.P., Mendes, Y.A., Rocha, R.M. 2018. Oocyte growth follicular complex formation and extracellular-matrix remodeling in ovarian maturation of the zebra pleci fish *Hypancistus zebra*. *Scientific Reports*, 8: 13760. DOI: 10.1038/s41598-018-32117-7.
- Walsh, C.T., Pease, B.C., Hoyle, S.D., Booth, D.J. 2006. Variability in growth of long finned eels among coastal catchments of south-eastern Australia. *J. Fish Biol.* 68: 1693–1706.
- Wang, Y-S., Lou, S-W. 2007. Influence of eogenous gonadotropin and sexual steroids on ovary development in Japanese eel *Anguilla japonica*. *J. Fish. Soc. Taiwan*, 34(3): 261–273.
- Weltzien, F-A., Sebert, M-F., 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.
- Wise, R.A. 2004. Dopamine, learning and motivation. *Nature Review Neuroscience*, 5: 1–13.
- Yaron, Z., Levavi-Sivan, B. 2011. Endocrine regulation of fish regulation. *Encyclopedia of Fish Physiology from genom to environment*. Vol. 2: 1500–1510.
- Yokouchi, K., Suo, R., Kaifu, K., Aoyama, J., Tsukamoto, K. 2009. Biological characteristics of silver-phase Japanese eels, *Anguilla japonica*, collected from Hamana Lake, Japan. *Coastal Marine Science*, 33(1): 1–10.
- Zahri, A. 2015. Rangsang hormonal untuk memacu pertumbuhan dan pematangan gonad sidat (*Anguilla bicolor bicolor*). [Tesis]. Bogor (ID): Institute Pertanian Bogor.
- Zahri, A., Sudrajat, A.O., Junior, M.Z. 2015. Pertumbuhan gonad sidat *Anguilla bicolor bicolor* yang diinduksi kombinasi hormon HCG, MT, E₂ dan antidopamin. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 14(1): 69–78.
- Zahri, A., Sudrajat, A.O., Junior, M.Z. 2016. Feminisasi sidat, *Anguilla bicolor bicolor* Mc Clelland, 1844 melalui penyuntikan hormon estradiol dan metil testosteron yang dikombinasikan dengan hCG dan anti dopamin. *Jurnal Iktiologi Indonesia*, 16(2): 159–169.
- Zahri, A., Sudrajat, A.O., Junior, M.Z. 2018. Profil hormon FSH, LH, dan estradiol serta kadar glukosa darah sidat, *Anguilla bicolor bicolor* (Mc Clelland, 1844) yang dirangsang hormon HCG, MT, E₂ dan anti dopamin. *Jurnal Iktiologi Indonesia*, 18(1): 57–67.
- Zahri, A., Tjoanda M., Farida. 2020. Spermatogenesis pada sidat (*Anguilla bicolor bicolor* Mc Clelland, 1844) hasil induksi kombinasi metiltestosteron dan anti dopamin. *Jurnal Ruaya*, 9(1): 30–38.