

## DETERMINASI JENIS KELAMIN PADA IKAN KERAPU SUNU (*Plectropomus leopardus*) DENGAN UJI SEROLOGI

Sari Budi Moria Sembiring, Agus Priyono, Jhon Harianto Hutapea, dan  
Tony Setiadharma

<sup>\*)</sup> Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Budidaya Laut  
Jl. Br. Gondol, Kec. Gerokgak, Kab. Buleleng Kotak Pos 140, Singaraja, Bali  
E-mail: [moriasembiring@yahoo.co.id](mailto:moriasembiring@yahoo.co.id)

(Naskah diterima: 17 Oktober 2012; Disetujui publikasi: 2 Agustus 2013)

### ABSTRAK

Dalam rangka mendukung kegiatan budidaya, maka penentuan jenis kelamin ikan menjadi sangat penting dalam program pemijahan khususnya pada jenis ikan yang hermafrodit. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan jenis kelamin ikan kerapu sunu menggunakan uji serologi dalam mendukung manajemen pemijahan dan pengembangan perbenihan ikan kerapu sunu. Penelitian ini dilakukan dengan metode ELISA dan western blot. Kit estradiol-17 $\alpha$  dan 11-KT testosterone digunakan dalam metode ELISA, sedangkan antibodi *Cyp19a1a* (CT), *Z-fish*<sup>TM</sup> digunakan dalam metode western blot. Gonad dari induk kerapu sunu yang mati juga dianalisis secara histologis. Sampel darah diambil dari semua ikan (47 ekor) dengan kisaran berat ikan uji 1,2-3,0 kg. Analisis kandungan testosterone dilakukan untuk semua sampel dan hanya 24 sampel dianalisis estradiol, keduanya dengan metode ELISA. Delapan sampel dianalisis estradiolnya dengan metode western blot. Berdasarkan kadar testosterone dan estradiol-17 $\alpha$  dalam darah, menunjukkan sebanyak 12 ekor (37,5%) positif berkelamin jantan dari 32 ekor yang dianalisis, sedangkan berdasarkan kadar estradiol sebanyak 7 ekor (29,16%) dari 24 ekor yang dianalisis merupakan ikan yang berjenis kelamin betina. Dengan metode western blot, dari 8 sampel yang dianalisis hanya 3 sampel (No Tagging 421048486E; 42135F1A5D; 42102G7A22) yang positif berjenis kelamin betina. Berdasarkan data histologis menunjukkan bahwa ukuran (panjang dan bobot) belum dapat menentukan jenis kelamin dari ikan kerapu sunu secara morfologi. Dari kedua metode yang digunakan untuk determinasi jenis kelamin induk ikan kerapu sunu, metode western blot memberikan hasil yang lebih sensitif dan spesifik daripada metode ELISA.

**KATA KUNCI:** determinasi jenis kelamin, ikan kerapu sunu, ELISA, Western blot, histologi

**ABSTRACT:** *Sex determination of coral trout grouper (*Plectropomus leopardus*) using serology test by Sari Budi Moria Sembiring, Agus Priyono,, Jhon Harianto Hutapea, and Tony Setiadharma*

*To support aquaculture activity, sex determination become very important in breeding program especially for hermaphrodite fishes. This experiment aim was to determine the sex of coral trout using serology test to support breeding management and to develop coral trout hatchery. The test was conducted using ELISA and western blot methods. Estradiol-17 $\alpha$  and 11-KT testosterone kits were applied for ELISA analysis and anti-Cyp19a1a (CT), Z-fish<sup>TM</sup> antibody was used in western blot method. Gonad of dead fish was also analysis histological. Blood was collected from all fish (47 fish)*

range from 1.2–3.0 kg of body weight. Testosterone test was performed for all samples while for estradiol test only performed for 24 samples using ELISA method and 8 samples for estradiol test using western blot method. Based on testosterone and estradiol-17 $\alpha$  concentration in blood, showed that 12 fish out of 32 samples were determined as male (37.5%) and based on estradiol concentration, 7 fish from 24 samples were determined as female (29.16%). Based on western blot method, from 8 samples analyzed only 3 samples determine as female (Tag no. 421048486E; 42135F1A5D; 42102G7A22) Histology analysis showed that fish size (length and body weight) is not always related to fish sex. From both methods applied in this experiment, western blot method gave more sensitive and specific result compared to ELISA method.

**KEYWORDS:** sex determination, coral trout grouper, ELISA, western blot, histology

## PENDAHULUAN

Dalam rangka menunjang budidaya laut dan juga pengelolaan perikanan tangkap, maka perlu diketahui aspek reproduksinya. Salah satu faktor yang sangat menentukan keberhasilan kegiatan pembenihan adalah kualitas induk yang digunakan baik jantan maupun betinanya. Ikan kerapu mempunyai sifat protogonous hermafrodit, yakni mengalami perubahan kelamin dari betina kemudian menjadi jantan. Perubahan kelamin ini terjadi setelah ikan mencapai ukuran (bobot) dan atau umur tertentu (Allsop & West, 2003).

Ikan kerapu sunu yang mempunyai sifat hermafrodit seringkali menyulitkan penentuan jenis kelamin secara visual. Secara umum untuk membedakan ikan jantan dan betina dapat dilakukan melalui pemijatan pada bagian perut ikan (*stripping*) atau kanulasi. Namun demikian kadang-kadang pada ikan dengan ukuran besar, metode penentuan jenis kelamin seperti tersebut di atas menyebabkan ikan stres dan bisa menyebabkan kematian, sehingga harus diterapkan metode analisis yang mendasar yaitu melalui uji serologis (Kime *et al.*, 1999).

Pada penelitian ini, uji serologis diterapkan untuk determinasi jenis kelamin menggunakan metode ELISA (*Enzyme-linked Immunosorbent Assay*) dan western blot. Pada ELISA, antigen atau antibodi melekat pada sumuran pelat mikrotiter (Dijkstra & de Jager, 1998). Pelat mikrotiter polistiren selain sebagai wadah sekaligus juga sebagai substrat pengikat antigen atau antibodi karena permukaannya mempunyai molekul-molekul yang bermuatan positif (Wahyuni, 2005). Teknik ELISA memerlukan sejumlah reagen yang berfungsi

untuk mendukung terjadinya reaksi antigen dan antibodi. Jenis antibodi yang digunakan untuk mendeteksi sampel dapat berupa antibodi monoklonal atau antibodi poliklonal (Kemeny, 1991). Reaksi positif antara antigen dan antibodi ditandai dengan perubahan warna cairan kompleks antigen dan antibodi yang terkonjugasi dengan enzim menjadi kuning atau biru toska, bergantung pada macam substrat yang digunakan.

Western blotting adalah teknik yang didasarkan pada elektroforesis dan serologi. Jumlah protein yang sangat kecil dapat dideteksi dengan cara ini. Pada teknik western blot, sampel protein dielektroforesis pada gel SDS-*polyacrilamide* (Dijkstra & de Jager, 1998). Pemisahan protein berdasarkan pada besar bobot molekulnya terjadi akibat gaya listrik yang mengalir dalam bufer transfer. Makin besar molekul, mobilitasnya makin lambat dan posisinya dalam gel terletak makin lebih dekat ke sumur (*well*) sampel. Hasil elektroforesis kemudian ditransblot ke membran nitroselulosa dan diperlakukan dengan antibodi yang spesifik. Bila reaksinya bersifat positif, maka fragmen yang berupa pita-pita dari sampel protein yang terdeteksi atau terikat oleh antibodi spesifik tersebut tampak berwarna merah-kecoklatan pada membran nitroselulosa (Wahyuni, 2005). Gel yang telah ditransblot masih dapat diwarnai, karena tidak semua protein dipindahkan ke membran. Gel berwarna kuning-kecoklatan dengan pita-pita protein berwarna coklat gelap bila gel diwarnai dengan AgNO<sub>3</sub>, atau gel berwarna kebiruan dengan pita-pita protein berwarna biru bila gel diwarnai dengan *Commasie blue* (Rantam, 2003).

Pada metode *western blotting*, antibodi yang digunakan adalah antibodi *Cyp19a1a*

(CT), *Z-fish*<sup>TM</sup> yang merupakan antibodi poliklonal, diproduksi pada kelinci dan merupakan turunan peptida sintetik pada ujung karboksil dari ikan zebra (GenBank #NP\_571229) serta mempunyai kesamaan dengan ikan kerapu sunu lebih dari 85% (Lynn *et al.*, 2008; Huang *et al.*, 2009). Melalui studi determinasi jenis kelamin dengan uji serologi akan diperoleh informasi mengenai sensitivitas dan spesifisitas antara kedua metode yang digunakan dalam menentukan jenis kelamin ikan kerapu sunu.

## BAHAN DAN METODE

### Hewan Uji

Total sampel induk ikan kerapu sunu turunan pertama (F-1) yang dianalisis kandungan testosteronnya sebanyak 47 ekor. Hanya 24 ekor sampel darah yang dianalisis dengan estradiol ELISA, sedangkan untuk western blot, sampel yang dianalisis sebanyak 8 ekor. Rata-rata panjang dan bobot total ikan sebesar  $47,04 \pm 5,02$  cm dan  $2,0 \pm 0,66$  kg.

Apabila terjadi kematian dari induk ikan kerapu sunu, maka gonad ikan tersebut selanjutnya dianalisis secara histologis. Gonad tersebut ditimbang dengan ketelitian 0,001 g, kemudian gonad dipotong melintang lalu direndam dalam alkohol 70%. Selanjutnya gonad dibuat preparat histologis dan diiris setebal 6 mikron, kemudian diberi pewarnaan hematoxylen dan eosin (Andamari *et al.*, 2004). Preparat gonad diamati di bawah mikroskop untuk ditentukan tingkat kematangannya. Penentuan tingkat kematangan gonad mengikuti kriteria Hunter & Goldberg (1980); Cyrus & Blaber (1984), dan Andamari *et al.* (1998).

### Koleksi Darah Ikan

Pengamatan kandungan steroid darah dilakukan dengan cara mengambil darah dari pangkal ekor menggunakan spuit 5 cc yang diberi heparin agar darah tidak menggumpal. Selanjutnya darah ditempatkan dalam tabung BD *Vacuntainer* lalu disimpan dalam kotak *styrofoam* berisi es. Sebelum disentrifugasi, terlebih dahulu tabung tersebut diletakkan dengan posisi miring pada suhu kamar selama 2 jam supaya terjadi proses pemisahan (*cloting*) antara serum, plasma, dan sel-sel darah. Setelah itu tabung disentrifugasi dengan kecepatan  $3000 \times g$  selama 15 menit. Serum yang dihasilkan diambil sebanyak 400  $\mu$ L

secara hati-hati dengan pipet dan dipindahkan ke dalam 2 *ependorf* masing-masing 200  $\mu$ L dan disimpan dalam *freezer*  $-20^{\circ}\text{C}$  sampai dilakukan analisis.

### Uji Serologi (ELISA dan Western Blot)

Analisis steroid darah dengan metode ELISA dilakukan menggunakan kit Testosterone dan Estradiol-17 $\alpha$ . Tahapan analisis dilakukan sesuai dengan protokol dari kit tersebut. Pengukuran kadar steroid darah dilakukan menggunakan *ELISA reader* pada panjang gelombang 405 nm untuk estradiol-17 $\alpha$  dan 450 nm untuk 11-KT testosterone.

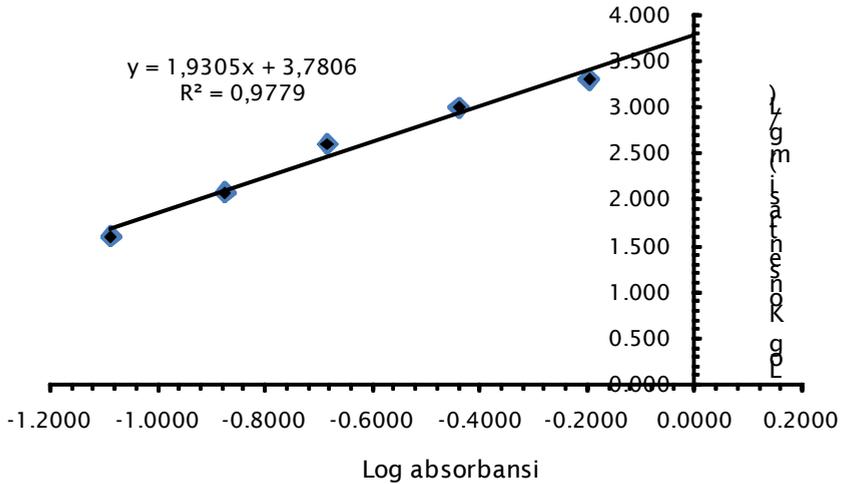
Prinsip dari metode *western blot* menggunakan metode dari Towbin *et al.* (1979) dengan menggunakan kit *Protein Detector*<sup>TM</sup> (KPL, USA). Selanjutnya lembaran gel hasil SDS-PAGE yang mengandung pita protein dipindahkan pada kertas nitroselulosa menggunakan alat semi *dry blotter*.

## HASIL DAN BAHASAN

Berdasarkan kurva standar dengan nilai  $R^2 = 0,9779$  (Gambar 1), diperoleh kadar testosteron berkisar antara 250 - lebih dari 1000 pg/mL untuk 32 sampel dari induk ikan kerapu sunu F-1. Sebanyak 12 ekor (37,5%) dari 32 sampel darah induk kerapu sunu positif berkelamin jantan dengan kadar testosteron di atas 700 pg/mL (Tabel 1). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian pada ikan *catfish* (*Clarias macrocephalus*) yang memperlihatkan bahwa induk jantan saat siklus reproduksi, mempunyai kandungan 11-KT testosterone antara 159-434 ng/mL (Fermin *et al.*, 1997). Demikian juga pada ikan *flounder* (*Pleuronectes americanus*) tingkat steroid (11-KT testosterone) kurang dari 350 ng/mL pada saat *pre spawning*.

Berdasarkan perhitungan dengan menggunakan kurva standar, kadar estradiol-17 $\alpha$  dalam darah ikan induk kerapu sunu berkisar antara 41,77-1.694,16 pg/mL dengan nilai  $R^2 = 0,991$  (Gambar 2). Sebanyak 7 ekor (29,16%) dari 24 ekor yang dianalisis merupakan ikan yang berjenis kelamin betina yang mempunyai kadar estradiol-17 $\alpha$  lebih dari 500 pg/mL dan 70,83% (17 ekor) mempunyai kadar estradiol kurang dari 500 pg/mL.

Berdasarkan pengamatan kandungan steroid darah pada bulan Agustus, beberapa induk mempunyai rasio 11-keto testosterone dan estradiol-17 $\alpha$  yang tinggi. Bersamaan dengan itu, diketahui bahwa induk ikan kerapu sunu

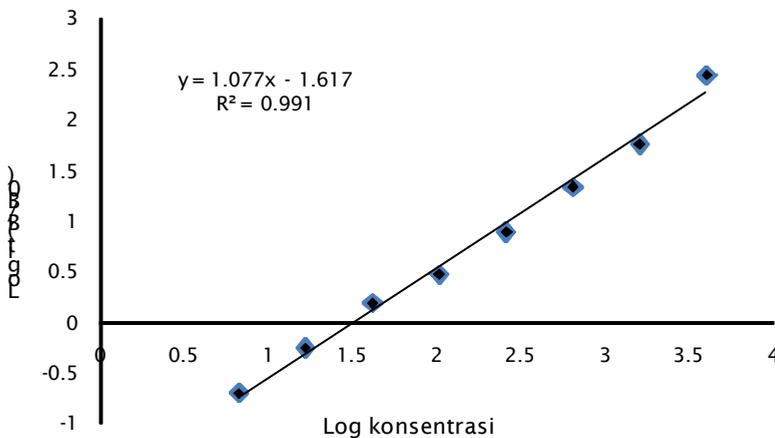


Gambar 1. Kurva standar penentuan kadar 11-keto testosterone pada induk ikan kerapu sunu (*Plectropomus leopardus*)

Figure 1. Standard curve to determine 11-keto testosterone level for broodstock of coral trout grouper, *Plectropomus leopardus*

juga dalam kondisi musim pemijahan. Selama bulan Agustus, induk memijah sebanyak 9 kali dengan jumlah telur berkisar antara 200.000–1.200.000 butir per pemijahan (Sembiring, unpubl.). Dari kadar estradiol-17 $\alpha$  dalam darah,

menunjukkan sebanyak 29,16% (7 ekor) merupakan ikan yang berjenis kelamin betina dengan kadar estradiol-17 $\alpha$  sebesar 500 sampai lebih dari 1000 pg/mL. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Tridjoko *et al.* (2002),



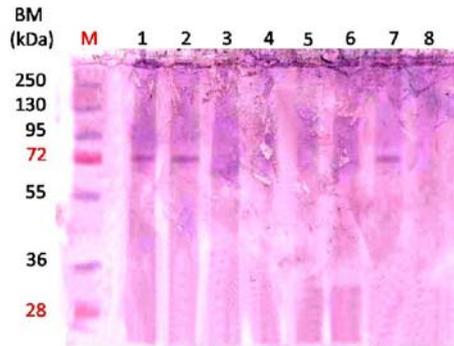
Gambar 2. Kurva standar penentuan kadar estradiol-17 $\alpha$  pada induk ikan kerapu sunu (*Plectropomus leopardus*)

Figure 2. Standard curve to determine estradiol-17 $\alpha$  concentration in broodstock of coral trout grouper, *Plectropomus leopardus*

Tabel 1. Kadar hormon steroid (11-KT testosterone & estradiol-17 $\alpha$ ) dalam darah setiap individu induk kerapu sunu (*Plectropomus leopardus*)

Table 1. Concentration of steroid hormone (11-KT testosterone & estradiol-17 $\alpha$ ) in blood of each coral trout grouper

No	Penanda Tagging	Panjang total Total length (cm)	Bobot badan Body weight (kg)	Hormon steroid (pg/mL)	
				11-KT Testosteron	Estradiol $\beta$ 7
1	412041750B	49,0	2,4	4,479,258	58,249
2	42104E2c65	47,0	2,1	9,130,617	37,425
3	42136C7D22	45,0	1,8	11,461,728	68,958
4	4213676C5B	48,0	1,8	7,561,054	65,170
5	No Tagging	47,0	2,0	1,972,339	817,505
6	4210394105	47,0	2,2	5,641,414	416,199
7	42137B0450	45,0	2,2	6,932,128	-
8	4.21E+43	45,0	2,0	5,678,642	-
9	42135D304B	44,0	1,5	1,006,838	1,351,000
10	4213604542	46,0	1,9	7,306,325	44,137
11	420B71321F	48,0	2,4	958,811	898,405
12	42136C4A52	48,0	2,2	974,694	250,367
13	4214012A5E	48,0	2,8	7,907,232	-
14	42137F0B17	53,0	2,6	6,019,009	-
15	4210444E1B	47,0	2,0	5,791,037	-
16	420B687D02	44,5	1,7	5,026,608	-
17	42137A0567	48,0	2,2	10,893,290	61,605
18	42102G7A22	52,0	2,4	4,852,295	309,052
19	420B4A200A	46,0	1,8	10,740,682	41,772
20	No Tagging	46,0	1,9	8,530,996	37,425
21	42136A5201	45,0	1,7	2,831,006	-
22	420B561A32	45,0	1,8	2,370,774	-
23	42136B6268	50,0	2,2	449,230	1,213,791
24	42141B2549	47,0	1,8	6,368,915	-
25	42102B7E38	43,0	1,6	7,951,029	-
26	No Tagging	46,0	1,8	4,921,664	745,824
27	421013171	46,0	1,8	5,904,493	-
28	420B4A4F3B	45,0	2,1	11,201,619	65,170
29	420B5C4B26	45,0	1,6	4,852,295	46,642
30	420B462934	45,0	1,7	974,694	1,694,159
31	4213771829	45,0	1,5	1,905,698	287,789
32	4214216E2A	52,0	2,5	1,489,725	449,939
33	4210481A5D	44,0	1,7	2,062,910	-
34	42135A3F7F	44,0	1,6	2,226,120	-
35	4210320F30	47,0	1,6	2,777,929	-
36	4213691B6E	46,0	1,4	2,202,437	-
37	42102A4617	47,0	1,8	1,450,845	-
38	420B693D6F	46,0	1,7	4,613,244	-
39	410507F25	44,0	1,6	5,347,835	-
40	421373797C	47,0	1,0	3,745,861	-
41	4210392672	48,0	1,8	2,993,142	-
42	421048486E	50,0	3,0	2,178,877	204,644
43	42135F1A5D	48,0	2,8	4,886,920	745,824
44	420B6F191D	46,0	1,8	8,350,449	-
45	4210392672	47,0	1,2	6,487,667	-
46	4213610973	47,0	2,2	5,275,623	-
47	No Tagging	47,0	1,9	12,695,241	77,271



Keterangan :

- M : Marker protein
- 1 : kode sampel 19 P
- 2 : kode sampel 1 AP
- 3 : kode sampel 1 P
- 4 : kode sampel 40 AP
- 5 : kode sampel 39 AP
- 6 : kode sampel 3 AP
- 7 : kode sampel 17P
- 8 : kode sampel 3 P

Gambar 3. Profil protein ikan kerapu sunu, *Plectropomus leopardus* menggunakan metode western blotting dengan antibodi primer *Cyp19a1a* (CT) Z-fish™ (Lingkaran menunjukkan sampel yang positif betina)

Figure 3. Protein profile of coral trout grouper, *Plectropomus leopardus* analyzed by using western blotting with primary antibody *Cyp19a1a* (CT) Z-fish™ (Circle sign means samples is positively female)

pada ikan kerapu bebek menunjukkan bahwa kadar hormon estradiol antara 650–880 pg/mL mempunyai diameter oosit 200–300 µm. Priyono *et al.* (2004), juga menyatakan bahwa dengan bertambahnya ukuran oosit dalam gonad juga mempengaruhi besarnya kandungan estradiol-17α dalam serum darahnya.

Hasil analisis dengan metode western blot dari 8 sampel yang dianalisis terlihat hanya 3 sampel nomor 1, 2, dan 7 yaitu induk dengan nomor *tagging* 421048486E; 42135F1A5D; dan 42102G7A22 (Gambar 3) yang positif berjenis kelamin betina. Hasil yang

tervisualisasi, protein estradiol terletak pada pita dengan berat molekul 72 kDa. Pada bagian membran yang lain tidak menunjukkan adanya pita protein yang tervisualisasi. Menurut Abbas *et al.* (2000), spesivitas antibodi ditentukan berdasarkan kemampuan antibodi dalam mengenali epitop protein spesifik di antara epitop protein lainnya. Antibodi poliklonal memiliki afinitas yang tinggi, akan tetapi spesifisitasnya rendah. Antibodi poliklonal mampu mendeteksi banyak tipe dari epitop protein yang diinjeksikan. Hal ini menyebabkan apabila protein memiliki epitop yang sesuai dengan antibodi, maka terbentuk ikatan antara protein dan antibodi.

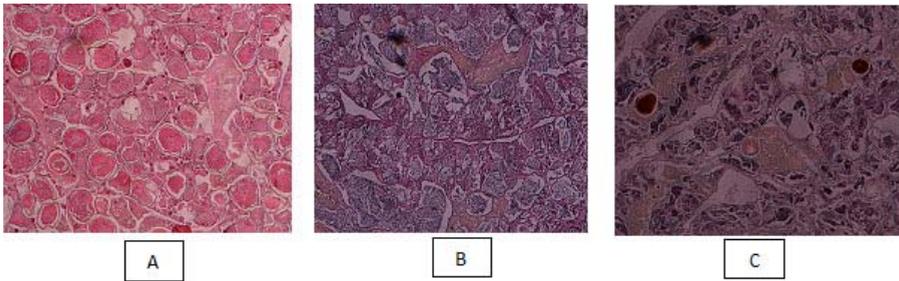
Dari kedua metode yang digunakan untuk studi pendahuluan determinasi jenis kelamin induk ikan kerapu sunu ternyata dengan metode western blot memberikan hasil yang lebih sensitif dan spesifik dari pada metode ELISA. Hal ini terbukti dari 8 sampel yang dianalisis dengan western blot, 3 sampel (421048486E; 42135F1A5D; 42102G7A22) yang pada saat pengambilan sampel darah, bentuk bagian perut ikan membesar dan lubang genitalnya membengkak menunjukkan bahwa ikan tersebut adalah betina dan siap memijah, ternyata hasil analisis western blot sesuai

dengan pengamatan secara morfologi di atas yaitu positif betina. Sementara dengan menggunakan metode ELISA, ikan yang digunakan sebagai kontrol (betina) hanya menunjukkan adanya ratio kadar estradiol dan 11-keto testosterone yang relatif sama (sampel nomor 18, 42, dan 43 pada Tabel 1) sehingga masih memungkinkan terjadinya kesalahan dalam penentuan jenis kelamin. Sebaliknya jika ditinjau dari faktor waktu dan biaya, analisis dengan ELISA lebih cepat dan murah dibandingkan dengan metode western blot. Hal ini sesuai dengan pendapat Jaswir (2010),

Tabel 2. Data pengukuran dan histologis gonad induk-induk ikan kerapu sunu, *Plectropomus leopardus* yang mati selama penelitian  
 Table 2. Measurement and histological gonad of coral trout grouper, *Plectropomus leopardus* of dead fish during the experiment

No His	TL (cm)	BW (kg)	WG (g) *	TKG	F/M/H *
BS-1	45.8	1.6	6.8	I	F
BS-2	56.0	3.1	48.8	III	F
BS-3	57.0	2.9	135.3	IV	F
BS-4	47.0	1.7	42.7	IV	F
BS-5	49.0	2.0	13.6	-	Tdk ketemu gonad
BS-6	51.0	2.9	65.2	IV	F
BS-7	39.8	1.0	11.0	IV	F
BS-8	40.0	1.1	28.7	III	F
BS-9	37.0	0.9	19.3	IV	F
BS-10	47.0	2.3	4.1	-	H
BS-11	45.0	2.0	55.1	III	F
BS-12	48.0	2.5	22.8	I	F
BS-13	58.0	3.1	-	I	F
BS-14	58.0	2.5	99.0	II	F
BS-15	56.0	2.5	5,005	III	H
BS-16	46.0	1.6	17,091	II	F
BS-17	56.0	2.2	12,125	II	F
BS-18	55.0	2.4	43.2	III	F
BS-19	51.0	2.0	37.5	IV	F
BS-20	55.0	2.2	34,654	IV	F
BS-21	54.0	2.2	10,562	II	F
BS-22	52.0	2.0	9302.0	IV	M
BS-23	60.0	3.8	201.1	III	F
BS-24	50.0	2.4	103.1	III	F
BS-25	46.0	2.0	11,685	II	F
BS-26	53.0	2.6	16,036	III	F
BS-27	65.0	4.2	21,130	II	F

Keterangan \* : WG = Bobot gonad; F = Female; M = Male; H = Hermafrodit



Gambar 4. Histologi gonad ikan kerapu sunu, *Plectropomus leopardus*. (A; Gonad Betina TKG IV; B. Gonad Jantan TKG IV; C. Gonad Hermafrodit) (HE x 100)

Figure 4. Gonad histology of coral trout grouper, *Plectropomus leopardus* (A; Female Stage IV Gonad; B. Male Stage IV Gonad; C. Hermaphrodite Stage Gonad) (HE x 100)

yang menyatakan bahwa teknik ELISA dapat menguji sampel dalam jumlah yang banyak secara cepat, penggunaan antiserum yang sedikit serta proses proses pengujian yang mudah. Untuk memperoleh hasil yang lebih sensitif dengan menggunakan metoda ELISA tersebut dapat teratasi dengan pengulangan hingga beberapa kali agar keakuratannya bisa bertambah.

Untuk melengkapi data pembandingan bahwa analisis serologi dengan metode ELISA dan western blot dapat digunakan untuk menentukan jenis kelamin induk kerapu sunu, maka juga dilakukan analisis histologis. Ikan yang digunakan berasal dari kelompok umur yang sama namun dengan bak pemeliharaan yang lain. Berdasarkan hasil analisis histologis gonad, dari 27 ekor ikan kerapu sunu yang dibedah, sebanyak 23 ekor betina, 1 ekor ikan jantan, 2 ekor hermafrodit dan 1 ekor tidak ditemukan gonadnya (Tabel 2).

Berdasarkan analisis histologis tersebut di atas, diperoleh hasil bahwa ikan kerapu sunu ukuran kurang dari 1,0 kg sudah dapat mencapai matang gonad. Selanjutnya teori yang menyatakan bahwa induk jantan adalah yang berukuran besar tidaklah selalu benar. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ikan yang berukuran 2,0 kg sudah menjadi induk jantan yang produktif walaupun dalam populasi tersebut terdapat ukuran induk yang jauh lebih besar dan berkelamin betina. Dari gonad ikan kerapu sunu yang dihistologi, ditemukan 2 ekor yang dalam stadia transisi (oosit dan spermatozoid ditemukan dalam gonad yang sama) (Gambar 4). Kedua ikan ini digolongkan sebagai hermafrodit, yang akan mengalami

perubahan jenis kelamin dari betina menjadi jantan.

#### KESIMPULAN

- Metode western blot lebih sensitif dan spesifik daripada metode ELISA untuk studi determinasi jenis kelamin induk ikan kerapu sunu.
- Ukuran (panjang dan bobot tubuh) tidak dapat menentukan jenis kelamin dari ikan kerapu sunu secara morfologi.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A.K., Lichtman, A.K., & Pober, J.S. 2000. Cellular and Molecular Immunology. 4<sup>th</sup> Edition. W.B.Saunders Company, Philadelphia.
- Allsop, D.J. & West, S.A. 2003. Sex Change Life History Invariants in Fish. *Journal of Evolutionary Biology*, 16: 921-929.
- Andamari, R., Farmer, M., Chodriyah, U., & Susanto, A.N. 1998. Gonad maturity stages of anchovies (*Engrasicholna heterolobus*) from Bacan Island. *Ind. Fish. Res. Journal*, IV(2): 47-51.
- Andamari, R., Haryanti, & Suwirya, K. 2004. Aspek reproduksi ikan kerapu sunu (*Plectropomus leopardus*). *Prosiding Seminar Nasional Biologi ITS*, Surabaya 25 September 2004, hlm. 222-227.
- Cyrus, D.P. & Blaber, S.J.M. 1984. The reproductive biology of Gerres (Teleostei) Bleeker 1859, in Natal estuaries. *J. Fish. Biol.*, 24: 491-504.
- Dijkstra, J. & de Jager, C.P. 1998. Practical Plant Virology: Protocols and Exercises. *Springer Laboratory Manual*, 458 pp.

- Fermin, J.T., Takeshi, M., Ueda, H., Adachi, S., & Yamauchi, K. 1997. Testicular histology and serum steroid hormone profiles in hatchery bred Catfish, *Clarias macrocephalus* (Gunter) during an annual reproduction cycle. *Fisheries Science*, 63(5): 681-686.
- Huang, W., Zhou, L., Li, Z., & Gui, J.F. 2009. Expression pattern, cellular localization and promoter activity analysis of ovarian aromatase (*Cyp19a1a*) in protogynous hermaphrodite red-spotted grouper. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 307: 224-236.
- Hunter, J.R. & Goldberg, S.R. 1980. Spawning incidence and batch fecundity in northern anchovy *Engraulis mordax*. *Fish. Bull. U.S.*, 77: 641-652.
- Jaswir, I. 2010. Recent advancement in laboratory management and halal product analysis, *International Islamic University Malaysia, National University Of Malaysia*, Seminar International UIN Jakarta, p. 10-21.
- Kemeny, D.M. 1991. *A Practical Guide to ELISA*. Pergamon Press Oxford, 115 pp.
- Kime, D.E., Nash, J.P., & Scott, A.P. 1999. Vitellogenesis as a biomarker of reproduction disruption by xenobiotics. *Aquaculture*, 177: 345-352.
- Lynn, S.G., Birge, W.J., & Shepherd, B.S. 2008. Molecular characterization and sex-specific tissue expression of estrogen receptor  $\alpha$  (*esr 1*), estrogen receptor  $\beta$  (*esr2a*) and ovarian aromatase (*cyp19a1a*) in yellow perch (*Perca flavescens*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B* 149: 126-147.
- Priyono, A., Setiadharna, T., Imanto, P.T., Swastika, M., & Z.I. Azwar. 2004. Pengaruh dosis pelet hormon terhadap perkembangan sel telur dan gonad induk betina kakap merah, *Lutjanus argentimaculatus*. *Prosiding Lokakarya Perhimpunan Ilmu Pemuliaan Indonesia*, VII: 575-582.
- Rantam, F.A. 2003. *Metode Imunologi*. Airlangga University Press. Surabaya, 174 hlm.
- Towbin, H., Staehelin, T., & Gordon, J. 1979. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proc Natl Acad Sci USA*, 76(9): 4350-4354.
- Tridjoko, Ismi, S., Priyono, A., & Johnny, F. 2002. Pengamatan profil steroid hormon dalam darah hubungannya dengan pematangan dan pemijahan induk ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis*. Laporan Penyelesaian DIP 2002, hlm. 40-54.
- Wahyuni, W. 2005. *Dasar-Dasar Virologi Tumbuhan*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.