

Tersedia online di: <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/jra>

## PENGARUH RANGSANGAN HORMON AROMATASE INHIBITOR DAN OODEV TERHADAP PERUBAHAN KELAMIN DAN PERKEMBANGAN GONAD IKAN KERAPU SUNU, *Plectropomus leopardus*

Hirmawan Tirta Yudha<sup>\*)#</sup>, Agus Oman Sudrajat<sup>\*\*)</sup>, dan Haryanti<sup>\*)</sup>

<sup>\*)</sup> Balai Besar Riset Budidaya Laut dan Penyuluhan Perikanan

<sup>\*\*)</sup> Institut Pertanian Bogor

(Naskah diterima: 6 Desember 2017; Revisi final: 11 Januari 2018; Disetujui publikasi: 11 Januari 2018)

### ABSTRAK

Permasalahan utama yang dihadapi dalam penyediaan calon induk ikan kerapu sunu *Plectropomus leopardus* hasil budidaya yang bersifat hermaphrodit sekuensial adalah keterlambatan dalam perkembangan gonad dan perubahan gonad dari betina menjadi jantan. Manipulasi hormonal merupakan cara yang paling efektif dan efisien dalam memacu perkembangan reproduksi dan pematangan gonad. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan dosis hormon aromatase inhibitor dan oodev yang tepat untuk memacu perubahan kelamin dan perkembangan gonad ikan kerapu sunu. Ikan uji yang digunakan sebanyak 35 ekor F-1 dengan bobot rerata  $2,3 \pm 0,28$  kg. Penelitian dilakukan selama dua bulan. Induksi hormon dilakukan melalui penyuntikan setiap dua minggu sekali dengan empat dosis aromatase inhibitor dan oodev yang berbeda; A (aromatase inhibitor 1 mg kg<sup>-1</sup> ikan), O (oodev 1 mL kg<sup>-1</sup> ikan), AO1 (aromatase inhibitor 0,1 mg kg<sup>-1</sup> ikan + oodev 1 mL kg<sup>-1</sup> ikan), AO2 (aromatase inhibitor 1 mg kg<sup>-1</sup> ikan + oodev 1 mL kg<sup>-1</sup> ikan), dan K (plasebo). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi aromatase inhibitor 1 mg kg<sup>-1</sup> ikan dan oodev 1 mL kg<sup>-1</sup> ikan efektif untuk merangsang perubahan kelamin. Perlakuan tersebut dapat meningkatkan konsentrasi testosteron dalam darah (2,819 ng/mL) setelah delapan minggu pemeliharaan. Berdasarkan hasil histologi gonad dan observasi terhadap ekspresi gen terkait reproduksi menggunakan gen target DMRT1 dan SOX3 menunjukkan bahwa perlakuan hormon AO2 (Aromatase inhibitor 1 mg kg<sup>-1</sup> ikan + oodev 1 mL kg<sup>-1</sup> ikan) terbukti dapat memacu perubahan kelamin dari betina menjadi jantan dan kematangan gonad pada ikan kerapu sunu *Plectropomus leopardus*.

**KATA KUNCI:** aromatase inhibitor; jantan; kerapu sunu; manipulasi hormonal; oodev

**ABSTRACT:** *The effects of hormone aromatase inhibitor and oodev induction on sex reversal and gonadal development of coral trout grouper (*Plectropomus leopardus*). By: Hirmawan Tirta Yudha, Agus Oman Sudrajat, and Haryanti*

The main problems faced in providing prospective broodstock of protogynous hermaphrodite coral trout grouper *Plectropomus leopardus* are lateness of gonadal development and gonadal sex reversal from female to male. Hormonal manipulation is the most effective way to induce reproductive development and gonadal maturation. The present study aimed to determine an effective dose of aromatase inhibitor and oodev on sex reversal and gonadal development of coral trout grouper. There were 35 F-1 fish with an average weight of  $2.3 \pm 0.28$  kg. This research was conducted for two months. The fish were injected with four different dosages of aromatase inhibitor and oodev every two weeks: A (aromatase inhibitor 1 mg kg<sup>-1</sup> fish), O (1 mL oodev), AO1 (aromatase inhibitor 0.1 mg kg<sup>-1</sup> fish + oodev 1 mL kg<sup>-1</sup> fish), AO2 (aromatase inhibitor 1 mg kg<sup>-1</sup> fish + oodev 1 mL kg<sup>-1</sup> fish), and K (placebo). The results showed that the combination of aromatase inhibitor 1 mg kg<sup>-1</sup> fish and oodev 1 mL kg<sup>-1</sup> fish was effective to induce the sex change. It could increase the concentration of testosterone in the blood (2.819 ng/mL) after eight weeks of culture. Based on the results of gonadal histology and reproductive-related genes expression observations using DMRT1 and SOX3 target genes, the hormonal treatment of AO2 (aromatase inhibitor 1 mg kg<sup>-1</sup> fish + oodev 1 mL kg<sup>-1</sup> fish) was able to accelerate sex reversal from female to male and gonadal maturation in coral trout grouper *Plectropomus leopardus*.

**KEYWORDS:** aromatase inhibitor; coral trout grouper; hormonal manipulation; male; oodev

# Korespondensi: Balai Besar Riset Budidaya Laut dan Penyuluhan Perikanan. Jl. Br. Gondol Kec. Gerokgak Kab. Buleleng, Po. Box 140, Singaraja 81155, Bali, Indonesia.  
Tel. + 62 362 92272  
E-mail: [info.gondol@gmail.com](mailto:info.gondol@gmail.com)

## PENDAHULUAN

Ikan kerapu merupakan salah satu komoditas perikanan laut yang sangat potensial untuk dikembangkan. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik pada tahun 2013 ekspor ikan kerapu dalam keadaan hidup mencapai 2.552 ton dengan nilai USD 19,8 juta. Pangsa pasar utama ekspor ikan kerapu 90% dikirim ke Hongkong, sisanya ke Cina, Taiwan, Jepang, Korea Selatan, Vietnam, Thailand, Filipina, USA, Australia, Singapura, Malaysia, dan Perancis. Ikan kerapu sunu merupakan salah satu di antara jenis ikan kerapu yang cukup diminati dengan ciri khas berwarna merah. Ikan ini tersebar dari perairan Australia sampai kepulauan Jepang, dan Indonesia sebagai negara kepulauan memiliki potensi alami yg tinggi (Haemstra & Randall, 1993). Laju eksploitasi ikan kerapu sunu pada kawasan tertentu di Indonesia, seperti perairan Kabupaten Kolaka, Sulawesi Tenggara, sudah di atas ambang batas lestari, dengan laju eksploitasi di atas 70% (Landu *et al.*, 2013). Eksploitasi berlebihan menyebabkan ikan ini mulai sulit diperoleh. Kegiatan budidaya merupakan salah satu upaya yang dapat memperbaiki ketimpangan laju eksploitasi di alam. Ketersediaan induk kerapu sunu yang siap memijah merupakan faktor penting untuk keberhasilan budidaya. Permasalahan utama dalam budidaya ikan kerapu sunu yang bersifat hermaphrodit sekuensial yaitu keterlambatan perkembangan gonad dan perubahan kelamin dari betina menjadi jantan fungsional.

Seperti halnya vertebrata lain, aktivitas reproduksi dan perubahan kelamin ikan diatur oleh aktivitas hormonal. Rangkaian stimulasi hormon diawali dengan pelepasan *gonadotropin-releasing hormone* (GnRH) yang dihasilkan hypothalamus, yang merangsang sekresi dua jenis *pituitary gonadotropins* (GTHs), yaitu *follicle-stimulating hormone* (FSH) dan *luteinizing hormone* (LH). FSH dan LH bekerja pada gonad untuk menghasilkan steroid seks yang mengatur perkembangan gonad. Selama proses perkembangan gonad, FSH disinyalir berperan untuk mengatur fase awal gametogenesis, seperti vitellogenesis pada betina dan spermatogenesis pada jantan, dan LH pada fase berikutnya dari gameto-genesis, seperti pematangan *oocyte* dan ovulasi pada betina dan spermiasi dan produksi semen pada jantan (Devlin *et al.*, 2002; Hayakawa *et al.*, 2008).

Oodev merupakan kombinasi PMSG (*Pregnant Mare's Serum Gonadotropin*) dan anti dopamin. PMSG atau eCG (*Equine Chorionic Gonadotropin*) merupakan glikoprotein yang memiliki fungsi aksi biologis seperti LH dan FSH, namun dengan fungsi sebagai FSH yang lebih dominan (Hafez *et al.*, 2000). Dopamin merupakan neurotransmitter yang mempunyai peranan

penting dalam regulasi reproduksi pada vertebrata, terutama sebagai sinyal penghentian gonadotropin di tingkat hipofisis dan pelemahan aksi GnRH terhadap gonadotropin. Dopamin dapat dihambat menggunakan anti dopamin, sehingga diharapkan sekresi gonadotropin akan meningkat (Popescu *et al.*, 2010). Oodev yang merupakan premiks PMSG dan anti dopamin cukup efektif untuk memacu perkembangan gonad induk betina pada ikan air tawar seperti ikan tor *Tor soro* (Farastuti *et al.*, 2014) dan ikan lele (Nainggolan *et al.*, 2014).

Aromatase merupakan enzim kompleks yang bertanggung jawab untuk mengonversi androgen menjadi estrogen yang merupakan modulator penting konsentrasi estradiol. Estradiol sangat penting dalam regulasi semua proses yang berkaitan dengan diferensiasi dan perkembangan ovarium (Reading & Sullivan, 2011). Penghambatan terhadap aktivitas aromatase dapat dilakukan dengan pemberian senyawa *aromatase inhibitor* (Ankley *et al.*, 2002). Penggunaan *aromatase inhibitor* (AI) pada ikan hermaphrodit protogini seperti ikan kerapu *Epinephelus merra*, menunjukkan perkembangan betina menjadi jantan fungsional. Uji coba AI secara *in vitro* juga menyebabkan penekanan terhadap produksi estradiol dan merangsang produksi testosteron dan 11-ketotestosteron pada fragmen ovarium betina matang (Bhandari *et al.*, 2004).

Induksi dengan aromatase inhibitor diharapkan dapat mempercepat perubahan gonad ikan kerapu sunu dari betina menjadi jantan, sedangkan penggunaan oodev dapat mempercepat kematangan gonad. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan dosis hormon aromatase inhibitor dan oodev yang tepat untuk memacu perubahan kelamin dan perkembangan gonad ikan kerapu sunu.

## BAHAN DAN METODE

### Ikan Uji

Ikan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah calon induk ikan kerapu sunu *Plectropomus leopardus* F-1 yang belum pernah matang gonad, yang sebelumnya dipelihara di karamba jaring apung (KJA). Bobot rata-rata dari calon induk kerapu sunu yang digunakan adalah  $2,3 \pm 0,28$  kg sebanyak 35 ekor. Ikan uji dipelihara dalam tiga bak pemeliharaan yang berukuran masing-masing 50 m<sup>3</sup> dengan sistem air mengalir dengan pergantian air 300% per hari. Adaptasi terhadap perubahan lingkungan pemeliharaan dilakukan selama satu bulan sebelum perlakuan. Pakan yang diberikan berupa ikan rucah dan ditambah vitamin mix dengan dosis 5 g/kg pakan, pakan diberikan satu kali sehari

pada pagi hari secara *ad libitum*.

Hormon yang digunakan dalam penelitian ini adalah *aromatase inhibitor* imidazole (1,3-Diaza-2,4-Cyclopentadiene) *Sigma Chemical Co* dan oodev yang merupakan produk komersial yang mengandung kombinasi PMSG (*Pregnant Mare's Serum Gonadotropin*), dan anti dopamin.

Penelitian dilakukan secara eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Perlakuan induksi hormonal yang diaplikasikan adalah (A) aromatase inhibitor 1 mg kg<sup>-1</sup> ikan, (O) oodev 1 mL kg<sup>-1</sup> ikan, (AO1) aromatase inhibitor 0,1 mg kg<sup>-1</sup> ikan + oodev 1 mL kg<sup>-1</sup> ikan, (AO2) aromatase inhibitor 1 mg kg<sup>-1</sup> ikan + oodev 1 mL kg<sup>-1</sup> ikan, dan (K) tanpa hormon (kontrol).

Penerapan hormon dilakukan melalui penyuntikan sesuai dosis yang telah ditentukan. Pada kontrol juga dilakukan penyuntikan terhadap hewan uji menggunakan plasebo. Penyuntikan hormon tiap perlakuan dilakukan terhadap tujuh ekor calon induk, sehingga individu calon induk digunakan sebagai ulangan. Untuk membedakan ikan antar perlakuan digunakan *radio tagging*. *Sampling* awal dilakukan dengan mengambil sampel darah ikan kerapu sunu dan gonad. *Sampling* dilakukan setiap dua minggu setelah penyuntikan dan dilakukan pengamatan terhadap profil hormon dalam darah. Penyuntikan susulan dilakukan setiap dua minggu sesaat setelah dilakukan pengambilan darah. Penyuntikan dilakukan sebanyak empat kali dalam kurun waktu delapan minggu. Pada akhir penelitian minggu ke-10 dilakukan pengambilan sampel gonad.

### Analisis Hormon

#### Konsentrasi Testosteron dan Estradiol

Dalam penelitian ini parameter yang diukur dan dianalisis adalah konsentrasi testosteron dan estradiol dalam darah ikan kerapu sunu. Analisis kedua hormon tersebut dilakukan pada awal penelitian, minggu ke-2, 4, 6, dan minggu ke-8. Pengambilan darah sebanyak 1 mL tiap ekor calon induk kerapu sunu. Pada saat pengambilan darah, ikan dibius dengan 2-phenoxyethanol 50 mg/L melalui perendaman pada wadah styrofoam berukuran 1 m x 0,4 m x 0,4 m dengan volume air 10 L. Pengambilan darah ikan kerapu sunu dilakukan pada arteri pangkal ekor menggunakan *syringe* bervolume 2,5 mL dengan Heparin. Selanjutnya darah didiamkan selama dua jam dan dilanjutkan dengan melakukan sentrifuse dengan kecepatan 5.000 rpm selama 15 menit. Plasma darah yang diperoleh disimpan pada *freezer* bersuhu -20°C sampai analisis berikutnya. Pengukuran konsentrasi hormon dalam

plasma dilakukan dengan menggunakan ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) kit estradiol dan testosteron.

### Profil Histologi Gonad

Pengamatan perkembangan gonad secara seluler, dilakukan melalui pemotongan jaringan (histologi) organ gonad pada awal dan akhir penelitian, sehingga dapat menentukan jenis kelamin dan tingkat kematangan ikan kerapu sunu. Pengamatan histologi gonad mengacu kepada Ferreira (1995) dan Longenecker & Langston (2016).

### Eksresi Gen DMRT1 dan SOX3

Pengamatan proses dan perubahan yang berkaitan dengan reproduksi dan perubahan kelamin selama penelitian, dilakukan analisis terhadap ekspresi gen dengan menggunakan pengkode target gen spesifik reproduksi. Gen pengkode untuk analisis ekspresi gen reproduksi meliputi DMRT1 yang merupakan gen pengkode yang berperan dalam proses pembentukan sperma dan SOX3 yang merupakan gen yang terkait dalam proses pembentukan sel telur. Tahapan analisis ekspresi gen terkait gen reproduksi sesuai Haryanti *et al.* (2014), target gen spesifik mengikuti Shin *et al.* (2009) seperti tertera pada Tabel 1.

### Analisis Data

Data pengaruh perlakuan terhadap konsentrasi testosteron dan estradiol, profil perkembangan gonad (histologi) dan kecenderungan perubahan genital (seksual) pada ikan kerapu sunu melalui ekspresi gen yang terkait dengan reproduksi dari masing-masing perlakuan dilakukan secara deskriptif. Sementara, jumlah induk yang mengalami perubahan seksual dianalisis dengan *chi square* yaitu analisis uji beda nyata untuk data kualitatif dan jika hasil yang berbeda nyata ( $P < 0,05$ ), maka untuk menentukan perlakuan yang memberikan respons terbaik dilakukan pengujian *odd ratio* yaitu ukuran asosiasi peluang kejadian pada suatu percobaan yang dihitung berdasarkan perbandingan nilai terjadinya kejadian yang diharapkan dengan kejadian yang tidak diharapkan.

## HASIL DAN BAHASAN

### Konsentrasi Estradiol dan Testosteron

Berdasarkan hasil analisis menunjukkan bahwa konsentrasi estradiol (E<sub>2</sub>) pada perlakuan AO1 (aromatase inhibitor 0,1 mg kg<sup>-1</sup> ikan + oodev 1 mL kg<sup>-1</sup> ikan) dan AO2 (aromatase inhibitor 1 mg kg<sup>-1</sup> ikan + oodev 1 mL kg<sup>-1</sup> ikan) pada akhir penelitian tidak terdeteksi (sangat rendah), berbeda pada perlakuan A

Tabel 1. Sekuen primer yang digunakan untuk analisis ekspresi gen yang terkait dengan reproduksi kerapu sunu *P. leopardus* dengan metode RT-qPCR

Table 1. Primary sequences used in the for analysis of gene expression related reproduction of coral trout grouper *P. leopardus* with RT-qPCR method

Primer	Sekuen (5'-3')
DMRT1	F (5' – CCT CCT ATT ACA ACT TCT ACC – 3') R (5' – GAC AGG CGG CCA TCA CC –3')
SOX3	F (5' – AGT GTC AGC GAC CAG GAG CG – 3') R (5' – TTT CCA GTC AGC CCC GAG C – 3')
$\beta$ -actin/internal kontrol	F (5' – GCA AGA GAG GTA TCC TGA CC –3')
$\beta$ -actin/internal control	R (5' – CTC AGC TCG TTG TAG AAG G –3')

(aromatase inhibitor 1 mg kg<sup>-1</sup> ikan) dan O (oodev 1 mL kg<sup>-1</sup> ikan) yang sangat tinggi yaitu masing-masing 12,859 dan 9,037 ng/mL. Konsentrasi testosteron (T) menunjukkan bahwa perlakuan AO2 memberikan konsentrasi yang lebih tinggi dibanding yang lain yakni 2,819 ng/mL. Konsentrasi E<sub>2</sub> dan T setelah perlakuan dapat dilihat pada Tabel 2.

Penurunan konsentrasi E<sub>2</sub> yang diikuti dengan peningkatan konsentrasi T dalam plasma darah dapat menjadi indikator perubahan kelamin ikan kerapu sunu yang bersifat hermaphrodit sekuensial protogini, yaitu perubahan terhadap fase jantan terjadi setelah melalui fase betina terlebih dahulu (Frisch, 2004). Terapi induksi hormonal yang dilakukan terhadap calon induk kerapu sunu memengaruhi konsentrasi hormon E<sub>2</sub> maupun T. Perlakuan AO2 (aromatase inhibitor 1 mg kg<sup>-1</sup> ikan + oodev 1 mL kg<sup>-1</sup> ikan) memiliki potensi untuk perubahan kelamin dari betina ke jantan yang lebih cepat, karena dapat meningkatkan kadar hormon T sebesar 2,8 kali dibandingkan kontrol. Konsentrasi hormon T pada perlakuan AO2 tersebut adalah 2,82 ng/mL; dan juga menunjukkan kadar E<sub>2</sub> yang sangat

rendah. Pada perlakuan lain, konsentrasi T tidak lebih tinggi dibanding kontrol 0,994 ng/mL. Konsentrasi T pada kontrol relatif cukup tinggi dan kemungkinan ikan sudah memasuki fase interseks secara alami. Observasi yang dilakukan Sembiring *et al.* (2013) menunjukkan konsentrasi E<sub>2</sub> pada ikan kerapu sunu betina yang sudah matang gonad pada kisaran 0,55 ng/mL sampai lebih dari 1 ng/mL, sedangkan konsentrasi T dalam darah di atas 0,7 ng/mL dapat dipastikan ikan kerapu tersebut berkelamin jantan.

Efek pemberian aromatase inhibitor pada perlakuan A (aromatase inhibitor 1 mg kg<sup>-1</sup> ikan) tidak menunjukkan respons terhadap penurunan E<sub>2</sub> maupun peningkatan konsentrasi T, namun didapat setelah dikombinasikan dengan oodev yang memiliki fungsi biologis sebagai gonadotropin. Pemberian oodev tanpa AI pada perlakuan O (oodev 1 mL kg<sup>-1</sup> ikan) dapat meningkatkan konsentrasi E<sub>2</sub> lebih tinggi yaitu 9,04 ng/mL dibanding kontrol 3,39 ng/mL. Pemberian oodev diharapkan dapat memacu perkembangan gonad baik jantan maupun betina karena merupakan gonadotropin *exogenous* dengan fungsi biologis sebagai FSH (*fol-*

Tabel 2. Konsentrasi estradiol dan testosteron dalam plasma darah kerapu sunu *P. leopardus* dengan induksi hormonal aromatase inhibitor dan oodev pada konsentrasi yang berbeda

Table 2. Estradiol and testoterone concentrations in blood plasma of coral trout grouper *P. leopardus* with hormone induction of aromatase inhibitor and oodev with different concentrations

Perlakuan Treatments	Konsentrasi dalam darah Concentration in blood (ng/mL)	
	Estradiol	Testosteron
A	12.859 ± 3.06	0.468 ± 0.48
O	9.037 ± 3.25	0.569 ± 0.01
AO1	0	0.509 ± 0.15
AO2	0	2.819 ± 2.23
Kontrol (Control)	3.39	0.994 ± 0.07

*luteinizing hormone*) yang dapat memacu perkembangan gonad jantan maupun betina (Hafez *et al.*, 2000). Kombinasi AI dan oodev dengan dosis AI yang terlalu rendah ( $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$  ikan) juga kurang mampu memperkuat efek AI dalam meningkatkan konsentrasi T pada perlakuan AO1 (aromatase inhibitor  $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$  ikan + oodev  $1 \text{ mL kg}^{-1}$  ikan). AI dapat menghambat sintesis  $E_2$  sehingga dapat meningkatkan konsentrasi T yang dapat mempercepat perubahan kelamin menjadi jantan. Namun, pada ikan kerapu sunu yang diuji menunjukkan penghambatan modulasi  $E_2$  tidak serta merta mengarah pada peningkatan T, namun masih perlu induksi hormon gonadotropin eksternal untuk meningkatkan metabolisme gonad. Ikan kerapu sunu dalam kondisi budidaya cenderung mengalami gangguan perkembangan reproduksi, dikarenakan sinyal lingkungan untuk perkembangan reproduksi secara alami cenderung tidak diperoleh dalam wadah budidaya. Perkembangan gonad/gametogenesis (spermatogenesis dan vitellogenesis) dan pematangan akhir (spermiasi dan pematangan oosit) diatur oleh *axis* otak-pituitary-gonad, yaitu rangsangan lingkungan akan direspons oleh otak melalui pelepasan GnRH (*gonadotropin-releasing hormone*) yang direspons oleh pituitary dengan sekresi *gonadotropin* FSH (*follicle-stimulating hormone*) dan LH (*luteinizing hormone*) ke sistem sirkulasi menuju gonad dan merangsang

sintesis hormon steroid kelamin yang merupakan modulator perkembangan gonad (Mylonas *et al.*, 2010).

### Profil Histologi Gonad Kerapu Sunu *P. leopardus*

Hasil histologi gonad menunjukkan bahwa tahap perkembangan ikan kerapu sunu terdiri atas fase betina, fase interseks dan fase jantan. Pada gonad betina, tingkat perkembangan gonad menunjukkan variasi oosit mulai dari tingkat satu hingga tiga. Pada gonad interseks, terdapat oosit stadia awal dan testis sudah mulai berkembang lebih dari 50%-nya. Pada gonad jantan, sudah didominasi pertumbuhan testis. Hasil histologi gonad dapat dilihat pada Gambar 1. Perkembangan gonad dan proporsi perubahan kelamin ditabulasi pada Tabel 3.

Berdasarkan hasil pengamatan menunjukkan bahwa induksi hormon aromatase inhibitor dan oodev pada perlakuan O dan AO2 memberikan dampak terhadap perubahan gonad menjadi jantan dengan proporsi masing-masing 50% dan 100%. Sementara itu, pada kontrol serta perlakuan A dan AO1 hanya memberikan dampak perubahan peralihan gonad betina menjadi jantan (intersex) dengan proporsi yang sama yaitu masing-masing 50%.

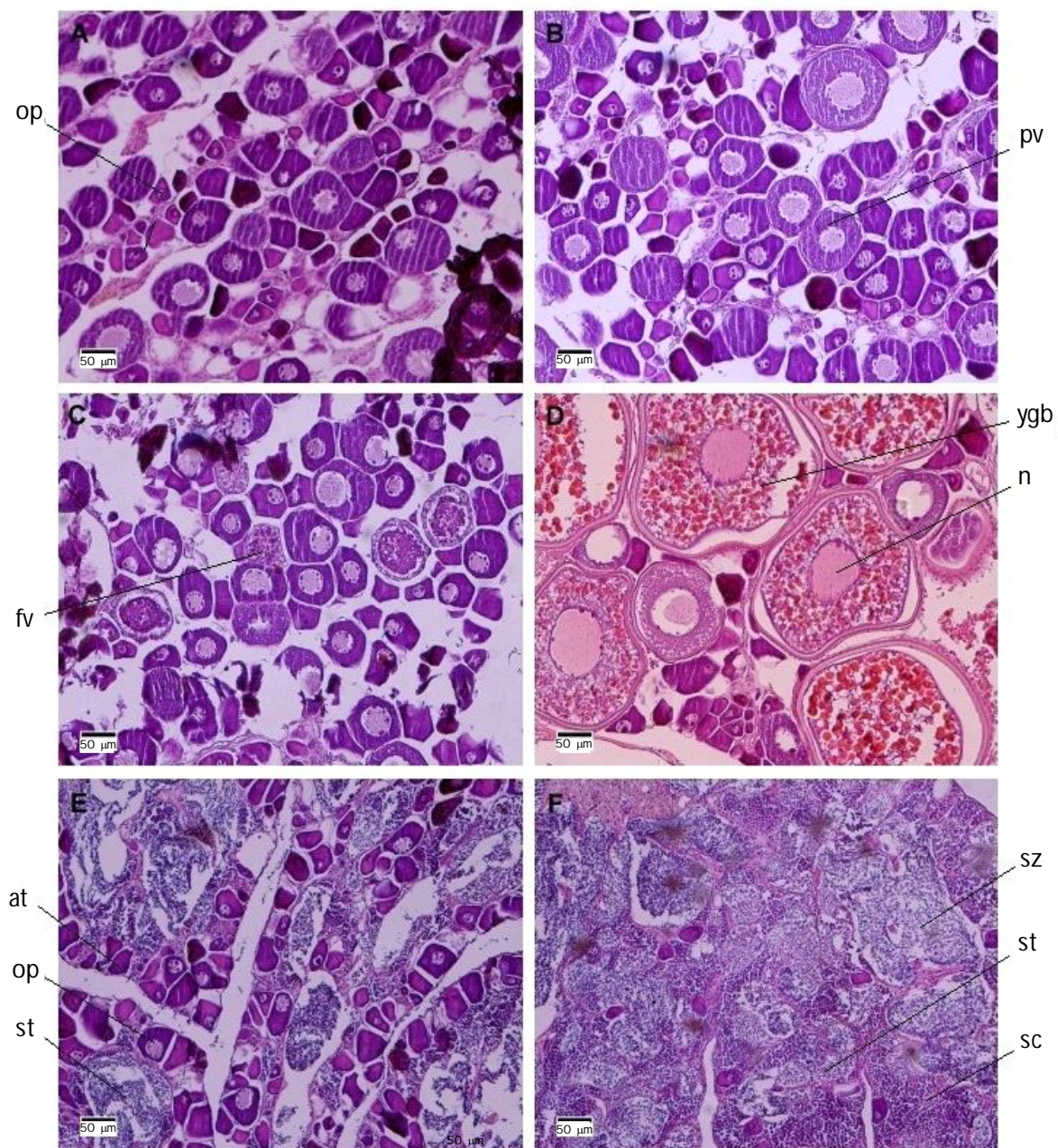
Tabel 3. Perkembangan gonad calon induk kerapu sunu *P. leopardus* dengan induksi hormon aromatase inhibitor dan oodev pada konsentrasi yang berbeda

Table 3. Gonadal development of coral trout grouper *P. leopardus* induced by hormone aromatase inhibitor and oodev with different concentrations

Perlakuan <i>Treatments</i>	Bobot <i>Weight</i>	Jenis gonad <i>Genital type</i>	Stadia kematangan gonad <i>Gonad maturation stage</i>	Jumlah induk berdasarkan jenis kelamin <i>Number of broodstock by sex</i>			Odds rasio <i>Odds ratio</i>	
				Betina <i>Female</i>	Interseks <i>Intersex</i>	Jantan <i>Male</i>	Jantan <i>Male</i>	Interseks <i>Intersex</i>
Kontrol <i>Control</i>	2.08	Betina ( <i>Female</i> ) Interseks ( <i>Intersex</i> )	Stadia 1, 2, 3 Interseks akhir	1	1	0	0	1
A	2.41	Interseks ( <i>Intersex</i> ) Betina ( <i>Female</i> )	Interseks akhir, banyak spermatid Stadia 1, 2	1	1	0	0	1
O	2.57	Betina ( <i>Female</i> ) Jantan ( <i>Male</i> )	Stadia 1, 2, 3 Spermatid	1	0	1	1	0
AO1	2.5	Betina ( <i>Female</i> ) Interseks ( <i>Intersex</i> )	Stadia 1, 2, 3 Interseks akhir	1	1	0	0	1
AO2	2.42	Jantan ( <i>Male</i> ) Jantan ( <i>Male</i> )	Spermatid Spermatozoa	0	0	2	∞	0

Keterangan: ∞ menunjukkan nilai odd ratio pengaruh perlakuan dengan proporsi jantan 100%





Gambar 1. Histologi gonad ikan kerapu sunu *P. leopardus* dengan induksi hormon aromatase inhibitor dan oodev (A. stadia kematangan *oocyte* tingkat 1; *oocyte* primer (op); B. stadia kematangan *oocyte* tingkat-2; previtelogenic (pv); C. stadia kematangan *oocyte* tingkat-3; fase pertengahan folikel vitelogenin (fv); D. stadia kematangan *oocyte* tingkat-4; nucleus (n), *yolksac globule* (y.gb); E. gonad Interseks; spermatid (st), *oocyte* primer (op), atresia (at); F. jantan; spermatid (st), spermatocyte (sc), spermatozoa (sz)).

Figure 1. Gonadal histology of coral trout groupers *P. leopardus* treated with hormone induction of aromatase inhibitor and oodev using different concentrations (A. *oocyte* stage-1; primary *oocyte* (op); B. *oocyte* stage-II; previtelogenic (pv); C. *oocyte* stage-III; fase pertengahan folikel vitelogenin (fv); D. *oocyte* stage-IV; nucleus (n), *yolksac globule* (y.gb); E. intersex gonad; spermatid (st), primeryoocyte (op), atresia (at); F. male; spermatid (st), spermatocyte (sc), spermatozoa (sz)).

Berdasarkan analisis chi square menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan nyata ( $P > 0,05$ ). Namun demikian, ada kecenderungan bahwa peluang perubahan menjadi jantan pada perlakuan AO2 lebih besar daripada perlakuan yang lain yaitu  $\infty$  kali; sementara itu, pada perlakuan O memberikan peluang perubahan sebesar satu kali. Pada perlakuan kontrol, A dan AO1 memberikan peluang perubahan gonad interseks sebesar masing-masing satu kali.

Hasil analisis histologi gonad calon induk kerapu sunu menunjukkan perkembangan gonad ikan kerapu sunu memiliki tahapan perkembangan sel yang berbeda atau *asynchronous*. Ikan kerapu sunu bersifat *multiple-spawner* atau memijah beberapa kali pada musim pemijahan (Ferreira, 1995). Beberapa ikan kemungkinan sudah mulai berubah menjadi jantan secara alami. Ikan kerapu sunu yang digunakan dalam penelitian ini merupakan calon induk kerapu sunu yang belum pernah matang gonad walaupun secara ukuran seharusnya sudah memijah. Sembiring *et al.* (2013), menyatakan adanya ikan kerapu sunu yang berukuran 1 kg sudah matang gonad dan ukuran 2 kg sudah ada yang berubah menjadi jantan fungsional. Perubahan kelamin jantan diperoleh pada perlakuan AO2 (aromatase inhibitor 1 mg kg<sup>-1</sup> ikan + oodev 1 mL kg<sup>-1</sup> ikan) dengan proporsi 100% jantan dengan nilai *odd ratio* tak terhingga ( $\infty$ ). Sementara itu perubahan menjadi jantan juga terjadi pada perlakuan O yaitu pemberian oodev 1 mL kg<sup>-1</sup> ikan dengan peluang sebesar satu dengan proporsi perubahan 50%. Sementara itu, pada perlakuan yang lain baik kontrol, A, maupun AO1 perubahan kelamin hanya mencapai pada stadia interseks (peralihan betina menjadi jantan). Pemberian oodev 1 mL kg<sup>-1</sup> dapat memacu perkembangan gonad ikan kerapu yang memasuki fase interseks berubah menjadi jantan. Peranan oodev lebih kepada fungsi sebagai FSH yang fungsi utamanya memacu perkembangan gonad, baik spermatogenesis maupun oogenesis, dapat diaplikasikan baik pada ikan jantan ataupun betina. Menurut Akbar *et al.* (2015), oodev efektif untuk meningkatkan produksi sperma pada udang vaname. Ikan kerapu sunu yang sudah mulai berubah menjadi jantan, juga potensial untuk dipacu menggunakan oodev agar dapat segera matang gonad dan fungsional menghasilkan sperma.

### Ekspresi Gen yang Terkait dengan Reproduksi

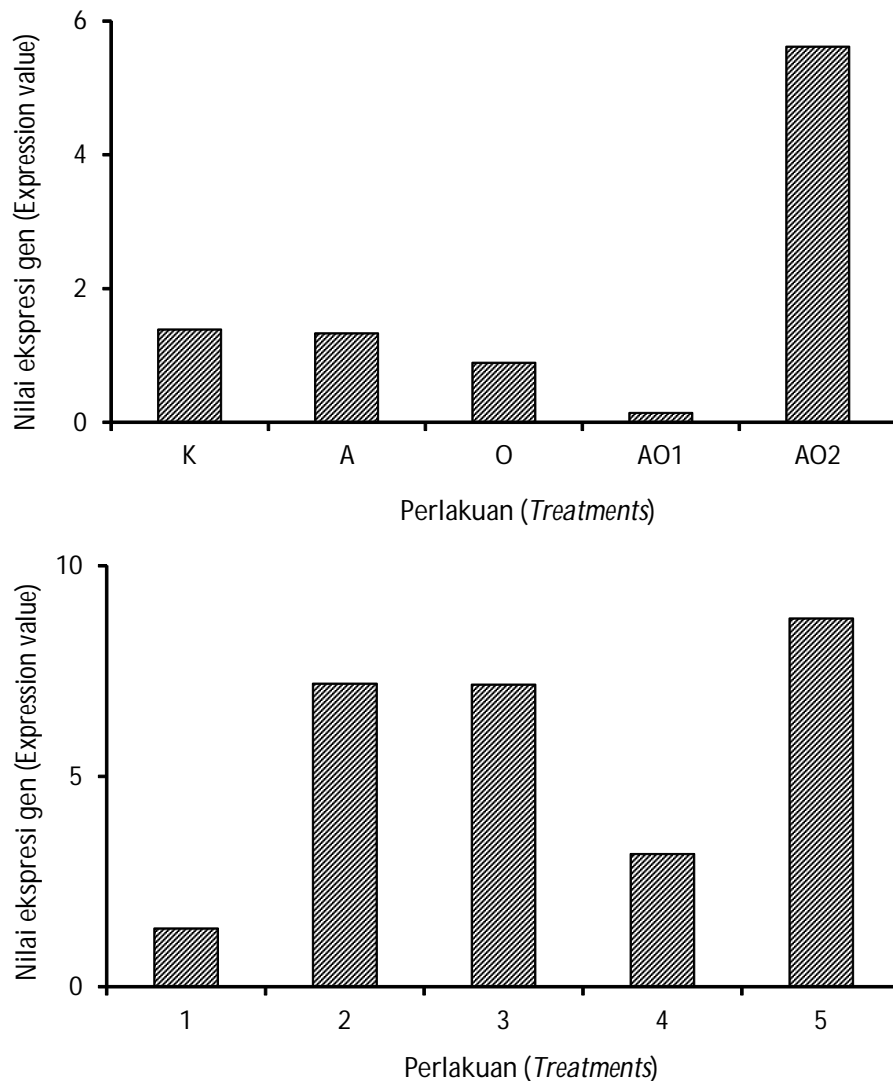
Ekspresi gen yang terkait dengan reproduksi pada kerapu sunu *P. leopardus*, diamati dalam penelitian ini dengan menggunakan target gen DMRT1 dan SOX3 untuk mengekspresikan profil gonad ikan kerapu sunu. Kelipatan ekspresi gen terkait reproduksi pada kerapu

sunu yang diinduksi hormon aromatase inhibitor dan oodev dengan konsentrasi berbeda dapat dilihat pada Gambar 2.

Pada analisis ekspresi untuk target gen DMRT1 (spermatogenesis) menunjukkan kelipatan pola ekspresi yang rendah. Pada kontrol (tanpa induksi hormon) terjadi kelipatan ekspresi gen DMRT1 sebesar 1,39 kali, sedangkan pada perlakuan A, O, dan AO1 kelipatan ekspresi masing-masing sebesar 1,33; 0,89; dan 0,14 kali. Hal yang berbeda terlihat pada perlakuan AO2 yang menunjukkan ekspresi gen spermatogenesis tinggi, yaitu 5,62 kali.

Ekspresi gen terkait reproduksi yang ditunjukkan dengan target gen SOX3 (vitellogenesis) terlihat adanya peningkatan kelipatan ekspresi pada semua perlakuan induksi hormon dibandingkan kontrol. Kelipatan ekspresi dari target gen SOX3 pada kontrol sebesar 1,38 kali; sedangkan pada perlakuan A dan O masing-masing sebesar 7,20 dan 7,17 kali. Pada perlakuan AO1 hanya diperoleh kelipatan ekspresi 3,15 kali dan 8,75 kali pada perlakuan AO2.

Pengamatan secara molekuler perkembangan gonad dan perubahan kelamin ikan kerapu sunu yang diberi perlakuan hormon, dilakukan terhadap ekspresi gen-gen yang terkait reproduksi jantan dan betina, yaitu DMRT1 yang memiliki peranan dalam spermatogenesis, Sox3 yang terkait dengan vitellogenesis. Nilai ekspresi gen DMRT1 pada perlakuan AO2, ikan yang sudah berubah menjadi jantan, menunjukkan kecenderungan peningkatan nilai ekspresi yang tinggi dibanding perlakuan lain maupun kontrol, yaitu masing-masing 5,63. Pada ekspresi gen SOX3 yang terkait oogenesis, nilai ekspresi cenderung merata dengan nilai ekspresi tertinggi pada perlakuan AO2 yang sudah berubah menjadi jantan, sedangkan pada kontrol dan perlakuan AO1 jauh lebih rendah. Nilai ekspresi DMRT1 terekspresi di semua perlakuan karena terdapat ikan yang mulai berubah menjadi jantan secara alami. Menurut Xia *et al.* (2007), DMRT1 hanya terekspresi pada saat gonad mulai berubah menjadi testis dan tidak terekspresi pada gonad betina *Epinephelus coioides*. SOX3 terekspresi pada proses vitellogenesis, namun pada perlakuan AO2 yang sepenuhnya jantan SOX3 terekspresi lebih tinggi dibanding perlakuan lain. Nampaknya, induksi hormon pada ikan kerapu sunu dapat mengekspresikan peran gen DMRT1 dan SOX3 sebagai pengkode dalam perkembangan dan pematangan gonad jantan. Hal ini sesuai dengan peranan DMRT1 dan SOX3 pada black porgy *Acanthopagrus schlegelii* yang menunjukkan ekspresi maksimal pada gonad jantan yang mulai matang (Shin *et al.*, 2009).



Gambar 2. Tingkat ekspresi mRNA dari gen yang terkait reproduksi (A) DMRT1 dan (B) SOX3 ikan kerapu sunu *P. leopardus* dengan induksi hormon aromatase inhibitor dan oodev pada konsentrasi yang berbeda.

Figure 2. Expression value of mRNA from reproduction related genes (A) DMRT1 and (B) SOX3 of coral trout grouper, *P. leopardus*, treated with hormone induction of aromatase inhibitor and oodev using different concentrations.

Induksi hormonal dengan kombinasi AI dan oodev dengan dosis yang tepat terbukti mampu secara efektif dan efisien menginduksi proses perubahan kelamin dari betina menjadi jantan pada calon induk kerapu sunu. Pengaruh terapi hormonal ini telah mempercepat perubahan kelamin betina menjadi jantan dengan tingkat kematangan gonad yang memasuki fase matang gonad. Hal ini terlihat dari hasil histologi yang menunjukkan dihasilkannya spermatozoa dalam gonad.

## KESIMPULAN

Induksi hormonal menggunakan kombinasi Aromatase Inhibitor 1 mg kg<sup>-1</sup> ikan + Oodev 1 mL

kg<sup>-1</sup> ikan efektif dalam proses pembentukan profil kelamin jantan dan memacu perkembangan gonad pada ikan kerapu sunu *Plectropomus leopardus*. Efek terapi hormonal mempercepat kematangan gonad dengan terbentuknya spermatozoa. Induksi oodev 1 mL kg<sup>-1</sup> ikan dapat mempercepat perubahan menjadi jantan pada ikan yang memasuki fase interseks.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dilaksanakan dengan dukungan pendanaan dari DIPA 2014 Balai Besar Riset Budidaya Laut dan Penguluhan Perikanan Gondol, Kementerian Kelautan dan Perikanan. Terima kasih disampaikan kepada staf teknis litkayasa dan peneliti Balai Besar



Riset Budidaya Laut dan Penyuluhan Perikanan, Gondol, Bali yang telah banyak membantu selama pelaksanaan penelitian.

## DAFTAR ACUAN

- Akbar, F., Sudrajat, A.O., & Subaidah, S. (2015). Kualitas sperma induk *Litopenaeus vannamei* yang disuntik PMSG dan antidopamin. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 14(2), 98-103.
- Ankley, G.T., Kahl, M.D., Jensen, K.M., Hornung, M.W., Korte, J.J., Makynen, E.A., & Leino, R.L. (2002). Evaluation of the aromatase inhibitor Fadrozole in a short-term reproduction assay with the fat-ted minnow (*Pimephales promelas*). *Toxicological Sciences*, 67, 121-130.
- Bhandari, R.M., Higa, M., Nakamura, S., & Nakamura, M. (2004). Aromatase inhibitor induces complete sex change in the protogynous honeycomb grouper (*Epinephelus merra*). *Molecular Reproduction and Development Journal*, 1(67), 303-307.
- Devlin, R.H., & Nagahama, Y. (2002). Review article: sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. *Aquaculture*, 208, 191-364.
- Farastuti, E.R., Sudrajat, A.O., & Gustiano, R. (2014). Induksi ovulasi dan pemijahan ikan soro (*Tor soro*) menggunakan kombinasi hormon. *Limnotek*, 21(1), 87-94.
- Ferreira, B.P. (1995). Reproduction of the common coral trout *Plectropomus leopardus* from the central and northern Great Barrier Reef. *Bulletin of Marine Science*, 56(2), 653-669.
- Frisch, A. (2004). Sex-change and gonadal steroids in sequentially-hermaphroditic teleost fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 14, 481-499.
- Haemstra, P.C., & Randal, J.E. (1993). Groupers of the World. *FAO Species Catalogue*, 16, 292-293.
- Haryanti, Muzaki, A., Sembiring, S.B.M., Fahrudin, Permana, I G.N., & Wardana, I K. (2014). The effect of probiotic on immunity improvement in the fry and spawner production of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Indonesian Aquaculture Journal*, 9(2), 133-146.
- Hayakawa, Y., Morita, T., Kitamura, W., Kanda, S., Banba, A., Nagaya, H., Hotta, K., & Sohn, Y.C. (2008). Biological activities of single-chain gold-fish follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone. *Aquaculture*, 274, 408-415.
- Hafez, E.S.E., Jainudeen, M.R., & Rosnina, Y. (2000). Hormones, growth factors, and reproduction. 7th Ed. Maryland: Lippincott Williams & Wilkins. *Reproduction in farm animals*, p. 33-54.
- Landu, A., & Asni. (2014). Penanggulangan dampak ilegal fishing ikan kerapu sunu *Plectropomus leopardus* di perairan Kabupaten Kolaka. *Phinisi*, 10(1), 19-23.
- Longenecker, K., & Langston, R. (2016). The Jungle Histology Atlas of Gonad Stages in Coral-Reef Fishes. Pacific Biological Survey. Hawaii (US), Bishop Museum.
- Mylonas, C.C., Fostier, A., & Zanuy, S. (2010). Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. *General and Comparative Endocrinology*, 165, 516-534.
- Nainggolan, A., Sudrajat, A.O., Utomo, B.Y., & Harris, E. (2014). Ovarian maturation inasian catfish (*Clarias sp.*) by combination oodev and nutrition addition *Spirulina plantesis*. *IJSBAR*, 15(1), 54-58.
- Popesku, J.T., Martyniuk, C.J., Denslow, N.D., & Trudeau, V.L. (2010). Rapid dopaminergic modulation of the fish hypothalamic transcriptome and proteome. *Plos One*, 5(8), e12338.
- Reading, B.J., & Sullivan, C.V. (2011). The reproductive organs and process: Vitellogenesis in fishes. *Encyclopedia of Fish Physiology*, 635-646.
- Sembiring, S.B.M., Priyono, A., Hutapea, J.H., & Setiadharm, T. (2013). Determinasi jenis kelamin ikan kerapu sunu (*Plectropomus leopardus*) dengan uji serologi. *Jurnal Riset Akuakultur*, 8(2), 181-189.
- Shin, H.S., An, K.W., Park, M.S., Jeong, M.H., & Choi, C.Y. (2009). Quantitative mRNA expression of sox3 and DMRT1 during sex reversal, and expression profile after GnRHa administration in black porgy, *Acanthopagrus schlegelii*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, 154, 150-156.
- Xia, W., Zhou, L., Yao, B., Li, C.J., & Gui, J.F. (2007). Differential and spermatogenic cell-specific expression of DMRT1 during sex reversal in protogynous hermaphroditic groupers. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 263, 156-172.