

## PROFIL HORMON REPRODUKSI DAN GAMETOGENESIS PADA GURAME (*Osphronemus gouramy* Lac) BETINA

### Reproductive hormone profiles and gametogenesis in female of giant gouramy (*Osphronemus gouramy*)

Gratiana E. Wijayanti\*, Soeminto dan Sorta B.I. Simanjuntak

Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman Purwokerto 53122 Indonesia

\*E-mail: [bugrat\\_1@yahoo.co.uk](mailto:bugrat_1@yahoo.co.uk)

#### ABSTRACT

Giant gouramy is one of freshwater aquaculture fish species that has high economic value so that various efforts had been performed to continuous increase its production levels. The successful of giant gouramy culture requires good understanding on its reproductive biology, however limited information is available. Therefore, this study was conducted to determine reproductive hormone profiles and gametogenesis of giant gouramy for a cycle of reproduction. Eighteen broodstocks were naturally spawned; the day of spawning was referred as the first day (zero weeks) of post spawning. Nine (Group A) of those broodstocks were used to evaluate gonadotropin, estradiol, and progesterone profiles. The remained broodstocks (group B) were used to evaluate gametogenesis. Blood sample from fish group A were taken on 0, 1, 2, 3 and 4 weeks post spawning for measurement of hormone levels. Hormone levels were measured by using ELISA method with kit of REF30-407 for gonadotropin, REF30-431 for estradiol and REF30-406 for progesterone, respectively. On the same time, ovarian were taken from fish group B. Ovarian were weighted to examine gonado somatic index (GSI), and they were then be fixative by NBF solution, processed to histology using paraffin, and stained with haematoxyline-eosin. Histology of ovarian was observed using a light microscope. The results of hormone analysis showed that the level of gonadotropin was relatively high during the spawning ( $0.17 \pm 0.021$  mIU/ml), decrease to  $0.13 \pm 0.017$  mIU/ml) at the first week and then relatively stable until the fourth week. Estradiol- $17\beta$  concentration was relatively high during the spawning ( $2,222.32 \pm 68.19$  pg/ml), decrease until the third week and then increase at the fourth week ( $1,989.66 \pm 103.11$  pg/ml). Progesterone level from fish spawning to the first week was  $0.403 \pm 0.02$  ng/ml, increase to  $0.514 \pm 0.02$  ng/ml at the second week and then decrease at the fourth week ( $0.260 \pm 0.0$  ng/ml). GSI values from the first week to the fourth were 1.794%; 2.3125%; 2.562% and 4.468%, respectively. Histology analysis showed that giant gouramy has nine oocytes development, including 2 stages of previtellogenesis, 6 stages of vitellogenesis and a post vitellogenesis stage. Information of gonadotropin, estradiol- $17\beta$  and progesterone profiles, and gametogenesis of giant gouramy could be useful on the effort to optimize their reproductive performance.

Keywords: hormone profile, reproduction, gametogenesis, giant gouramy

#### ABSTRAK

Ikan gurame merupakan salah satu jenis ikan budidaya air tawar yang memiliki nilai ekonomi cukup tinggi, sehingga berbagai upaya untuk peningkatan produksinya senantiasa dilakukan. Keberhasilan budidaya gurame memerlukan pemahaman yang memadai tentang biologi reproduksi, akan tetapi informasi tersebut masih terbatas. Oleh karena itu dalam penelitian ini dievaluasi profil hormon reproduksi dan gametogenesis gurami selama satu siklus reproduksi. Induk gurame (n= 18) dipijahkan secara alami, hari pada saat ikan memijah ditetapkan sebagai hari pertama (minggu ke-0) pasca mijah. Sembilan ikan (grup A) digunakan untuk evaluasi profil hormon gonadotropin, estradiol dan progesteron. Sembilan ikan lainnya (grup B) digunakan untuk evaluasi profil gametogenesis. Pada minggu ke-0, 1, 2, 3 dan ke-4 pasca mijah, sampel darah diambil dari ikan grup A untuk pengukuran kadar hormon. Pengukuran kadar hormon dilakukan menggunakan metoda ELISA dengan kit gonadotropin (REF 30-407), estradil (REF 30-431) dan progesteron (REF 30-406). Pada saat yang sama, ikan dari grup B dimatikan dan dibedah untuk diangkat ovariumnya. Ovarium ditimbang untuk perhitungan *gonado somatic index* (GSI), kemudian difiksasi dalam larutan NBF, diproses untuk pembuatan sediaan histologi menggunakan metode parafin, dan diwarnai dengan haematoxylin-eosin. Histologi ovarium dievaluasi dengan mikroskop cahaya. Hasil pengukuran kadar hormon menunjukkan

bahwa kadar gonadotropin relatif tinggi pada saat pemijahan ( $0,17 \pm 0,021$  mIU/ml) kemudian menurun ( $0,13 \pm 0,017$  mIU/ml) pada minggu pertama dan relatif stabil hingga minggu keempat. Kadar estradiol-17 $\beta$  relatif tinggi pada saat pemijahan ( $2222,32 \pm 68,19$  pg/ml) menurun hingga minggu ketiga ( $1518,61 \pm 100,68$  pg/ml) dan meningkat kembali pada minggu keempat ( $1989,66 \pm 103,11$  pg/ml). Kadar progesteron pada saat pemijahan hingga minggu pertama  $0,403 \pm 0,02$  ng/ml, meningkat menjadi  $0,514 \pm 0,02$  ng/ml pada minggu kedua dan menurun kembali hingga minggu keempat kadarnya  $0,260 \pm 0,0$  ng/ml). Nilai GSI induk betina pada minggu pertama hingga minggu keempat berturut-turut sebesar 1,794%; 2,3125%; 2,562% dan 4,468%. Evaluasi terhadap sediaan histologi ovarium menunjukkan bahwa gurame memiliki sembilan tahapan perkembangan oosit meliputi previtelogenesis (2 tahap), vitelogenesis (6 tahap) dan post vitelogenesis. Informasi tentang profil hormon gonadotropin, estradiol-17 $\beta$  dan progesteron serta profil gametogenesis pada gurame dapat digunakan sebagai dasar dalam upaya optimasi reproduksi ikan gurame.

Kata kunci: profil hormon, reproduksi, gametogenesis, ikan gurame

## PENDAHULUAN

Sektor perikanan merupakan salah satu komponen penting dalam perekonomian nasional, oleh karenanya berbagai upaya untuk meningkatkan produksi perikanan senantiasa dilakukan. Produk perikanan Indonesia sebagian besar berasal dari perikanan tangkap akan tetapi produksi perikanan tangkap setelah tahun 1997 mengalami stagnan bahkan menurun (Sulaeman, 2005).

Dalam kondisi produksi perikanan tangkap yang stagnan, peranan perikanan budidaya menjadi sangat penting. Prediksi meningkatnya permintaan produk perikanan dalam tahun-tahun mendatang memberi peluang untuk peningkatan produksi perikanan budidaya. Produk perikanan budidaya sebagian berasal dari budidaya ikan air tawar. Salah satu produk perikanan tawar yang memiliki nilai ekonomi cukup tinggi adalah gurame. Produk gurame yang dipasarkan tidak hanya berupa gurame ukuran konsumsi sebagai penghasil daging, tetapi juga gurame stadium benih dalam berbagai ukuran bahkan telur hasil pemijahan yang masih berada di dalam sarang (Khaeruman dan Amri, 2003).

Keberhasilan budidaya gurame memerlukan ketersediaan benih yang berkualitas baik dalam jumlah cukup secara berkesinambungan. Benih gurame dihasilkan oleh usaha perorangan, perusahaan dan pemerintah melalui Balai Benih ikan (BBI), akan tetapi benih yang dihasilkan masih belum mencukupi permintaan pasar (Khaeruman dan Amri, 2003). Hal ini antara

lain disebabkan benih-benih tersebut diproduksi melalui pembenihan tradisional sehingga tingkat mortalitas larva cukup tinggi (Insan, 2000; Djajasewaka, 2004). Sehubungan dengan hal tersebut, langkah-langkah menuju pembenihan gurame secara semi intensif ataupun intensif perlu segera dilakukan.

Keberhasilan pembenihan ikan secara intensif memerlukan pemahaman yang memadai tentang biologi reproduksi ikan yang bersangkutan, baik mengenai aspek anatomi, regulasi hormonal maupun strategi reproduksinya. Informasi tentang ketiga aspek tersebut pada ikan gurame masih sangat terbatas. Analogi menggunakan informasi dari ikan-ikan lain tidak sepenuhnya dapat dilakukan mengingat tingginya plastisitas reproduksi pada ikan (Jalabert, 2005). Oleh karena itu penelitian untuk mengungkap aspek anatomi organ reproduksi, mekanisme regulasi hormonal dan strategi reproduksi hormonal pada ikan gurame sangat diperlukan.

Reproduksi pada gurame, sebagaimana pada ikan-ikan yang lain, sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Faktor-faktor lingkungan termasuk feromon diterima oleh sistem syaraf pusat dan dilanjutkan ke hipotalamus. Sel-sel neuroendokrin pada hipotalamus mensintesis dan mensekresikan *gonadotropin releasing hormone* (GnRH) (Sherwood *et al.*, 1991) yang akan mengaktifkan hipofisis untuk mensintesis dan mensekresikan gonadotropin. Gonadotropin diperlukan untuk aktivitas gametogenesis dan pembentukan hormon-hormon gonad seperti estradiol, progesteron,

testosteron dan 11-ketotestosteron (Yaron, 1995). Pada ikan dikenal adanya tiga macam GnRH, akan tetapi pada kebanyakan ikan hanya satu GnRH yang berperan dalam sekresi gonadotropin (Peter dan Yu, 1997). Penelitian pada hipofisis dari berbagai ikan telah berhasil diisolasi dua tipe gonadotropin yang kemudian disebut GTH-I dan GTH-II. GTH-I memiliki sub-unit  $\alpha$  yang sama dengan GTH-II sedangkan sub-unit  $\beta$  pada GTH-I dan GTH-II sangat berbeda (Kawauchi *et al.*, 1989; 1991; Lin *et al.*, 1992; Van der Kraak *et al.*, 1992). Peranan GTH-I dan GTH-II bervariasi pada berbagai spesies ikan. Pada ikan salmon, GTH-I dan GTH-II memiliki kemampuan yang sama dalam memacu sekresi estradiol dari folikel, tetapi GTH-II lebih potensial dalam memacusekresi 17,20-P dari folikel postvitelogenik (Suzuki *et al.*, 1988; Swanson *et al.*, 1991). Pada ikan rainbow trout, hanya GTH-I yang mampu memacu sekresi estradiol dari folikel postvitelogenik (Sumpter *et al.*, 1991). Pada ikan karper, GTH-I dan GTH-II memiliki kemampuan yang sama dalam memacu sekresi steroid dari ovarium dan memacu pemasakan oosit pada kondisi *in vitro* (Van der Kraak *et al.*, 1992). Terlepas dari perbedaan kemampuan dalam memacu steroidogenesis pada gonad berbagai spesies ikan, terdapat kesamaan pada fungsi GTH-I dan GTH-II dalam gametogenesis. GTH-I berperan dalam proses awal gametogenesis (oogenesis dan spermatogenesis) sedangkan GTH-II berperan dalam pemasakan gamet tahap akhir dan pemijahan (diulas dalam Kawauchi *et al.*, 1989 dan Swanson, 1991). Hormon-hormon gonad pada gilirannya akan memberikan umpan balik untuk mengatur aktivitas hipotalamus ataupun hipofisis sehingga siklus reproduksi dapat berlangsung (Peter dan Yu, 1997).

Proses oogenesis pada ikan dapat dibedakan atas empat tahapan perkembangan (Wallace dan Shelman, 1981). Tahap I berupa perkembangan struktur seluler dasar meliputi perbesaran nukleus, pembentukan nukleoli dan organel subseluler seperti cortical alveoli yang memegang peranan penting dalam fertilisasi. Di sekeliling oosit berkembang dua lapisan sel yaitu sel theca

dan sel granulosa yang berperan dalam produksi hormon steroid ovarium. Tahap II, berupa vitelogenesis. Vitelogenesis melibatkan interaksi antara hipofisis anterior, sel-sel folikel, hepar dan oosit. Gonadotropin yang disekresikan oleh hipofisis anterior memacusel-sel theca untuk memproduksi testosteron. Testosteron berdifusi ke sel-sel granulosa dan diaromatisasi menjadi estradiol-17 $\beta$  (Kagawa *et al.*, 1982). Estradiol-17 $\beta$  dibawa oleh aliran darah menuju hepar untuk memacu organ tersebut membentuk vitelogenin yaitu prekursor protein yolk (Pelissero *et al.*, 1991; Peyton *et al.*, 1992). Vitelogenin dibawa oleh aliran darah dan diinternalisasi ke dalam oosit melalui reseptor spesifik. Di dalam oosit, vitelogenin diproses lebih lanjut menjadi protein yolk berukuran lebih kecil yang akan digunakan sebagai cadangan makanan bagi embryo (Wallace dan Begovac, 1985; Tyler, 1991). Vitelogenesis merupakan tahapan terpanjang dalam oogenesis. Tahap III, adalah tahap pemasakan oosit. Selama pemasakan, oosit bergerak dari posisi tengah menuju posisi tepi sitoplasma kemudian inti oosit menghilang, proses ini dikenal dengan germinal vesicle break down (GVBD). Proses ini menandai berakhirnya proses meiosis pertama. Selanjutnya kromosom mengalami kondensasi, benang-benang spindel terbentuk dan polar bodi pertama dilepaskan pada akhir meiosis pertama (Yoshikuni dan Nagahama, 1991). Hasil penelitian pada beberapa spesies ikan menunjukkan bahwa hormon yang berperan dalam pemasakan oosit adalah 17,20-P. 17,20-P dihasilkan atas kerjasama sel-sel theca dan sel granulosa dibawah kendali hormon gonadotropin. Sel theca menghasilkan 17 $\alpha$ -hydroxyprogesteron. Hormon ini berdifusi ke dalam sel-sel granulosa dan diubah menjadi 17,20-P yang juga dikenal sebagai *maturation inducing hormone* (MIH) (Nagahama, 1987). Tahap ini harus tercapai agar oosit dapat diovulasikan dan dioviposisikan pada saat pemijahan. Beberapa penelitian mengindikasikan bahwa ovulasi dipacu oleh prostaglandin, terutama prostaglandin F2 $\alpha$  (Goetz, 1987). Tahap IV, oosit yang

telah mengalami GVBD dioviposisikan dalam proses pemijahan.

Regulasi aktivitas poros hipotalamus-hipofisis-gonad pada ikan gurame belum banyak diketahui. Guna mengetahui proses tersebut langkah pertama yang perlu dilakukan adalah mengukur kadar kadar hormon GnRH, gonadotropin dan hormon-hormon gonad termasuk di dalamnya adalah estrogen dan progesteron. Hasil pengukuran kadar hormon steroid gonad memberikan informasi tentang profil hormon selama satu siklus reproduksi. Berdasarkan profil hormonal selama satu siklus reproduksi dapat ditentukan pola interaksi hormonal selama gametogenesis, ovulasi dan pemijahan pada gurame. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi profil hormon reproduksi dan gametogenesis pada gurame bertina selama satu siklus reproduksi.

## BAHAN DAN METODE

### Materi Penelitian

Materi penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah induk gurame jantan dan betina matang gonad dengan berat 2-3 kg per ekor. Induk gurame diperoleh dari petani pembenih di desa Kutasari, Kecamatan Baturaden, Kabupaten Banyumas. Induk-induk tersebut dipijahkan secara alami pada kolam pemijahan gurame dengan rasio jantan: betina 1:1. Rasio ini dipilih untuk menjamin bahwa pasangan tersebut benar-benar memijah. Keberhasilan pemijahan ditandai dengan adanya telur di dalam sarang. Pasangan induk yang telah memijah ditetapkan sebagai induk pasca mijah. Hari pasa saat induk gurame memijah ditetapkan sebagai hari ke 0 pasca mijah.

### Metode pengambilan sampel

Penelitian ini dilaksanakan menggunakan metode survei dengan teknik pengambilan sampel *purposive sampling*. Dikatakan *purposive* karena induk gurame yang digunakan adalah induk gurame pasca mijah dan telah diketahui jarak waktu antar siklus pemijahannya. Variabel yang diamati berupa kadar hormon gonadotropin, estrogen,

dan progesteron selama satu siklus pemijahan. Histologi ovarium pada waktu yang relevan dengan saat pengambilan sampel darah diamati untuk melihat profil hormonal dalam relevansinya dengan oogenesis.

### Pemeliharaan induk gurame

Induk gurame pasca mijah dipelihara dalam kolam pemeliharaan dengan suplai air yang cukup. Induk-induk gurame tersebut diberi pakan berupa pelet pakan buatan yang disuplementasi dengan kecambah kacang hijau dan daun sente. Pemberian kecambah dan daun sente dilakukan secara berselang seling (Soeminto *et al.*, 2005). Selama pemeliharaan kondisi lingkungan pemeliharaan dimonitor dengan mengukur pH dan temperatur air kolam, kandungan O<sub>2</sub> terlarut dan CO<sub>2</sub> bebas. Air kolam senantiasa diperbarui dengan adanya aliran masuk dan aliran keluar pada kolam pemeliharaan. Kesehatan ikan dimonitor dengan mengamati ada tidaknya indikasi serangan penyakit serta memperhatikan gerakan ikan.

### Pengambilan sampel darah

Sampel darah sebanyak 2-3 ml diambil setiap minggu dari pembuluh vena insang tanpa anti koagulan. Sampel darah dibekukan pada temperatur ruang selama 30 menit selanjutnya didinginkan dalam refrigerator selama 8 jam untuk mengoptimalkan pembekuan darah kemudian disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Serum yang diperoleh diambil menggunakan pipet mikro dan dipindahkan ke dalam tabung berukuran 1,5 ml. Serum disimpan dalam *freezer* hingga pengukuran kadar hormon.

### Pengukuran kadar hormon dalam darah

Kadar hormon diukur menggunakan metode ELISA menggunakan Vidas ELISA kit untuk 17 $\beta$ -estradiol (REF 30 330), progesteron (REF 30-406) dan gonadotropin (REF 30-407) (BioMarieux, Inc, Perancis). Kit hormon terdiri atas strip dengan 10 *well*.

Pada Kit estradiol-17 $\beta$ , dan progesteron, *well* pertama diperuntukkan

bagi sampel; *well* kedua hingga keempat kosong; *well* kelima berisi derivat hormon berlabel alkaline phosphatase + 0,9g/l sodium azide 600  $\mu$ l; *well* keenam berisi bufer pencuci berupa tris-NaCl (0,05 mol/l) pH7,4 + 0,9g/l sodium azide 600  $\mu$ l; *well* ketujuh berisi bufer pencuci berupa sodium phosphate (0,1 mol/l) + NaCl (0,3 mol/l) pH 7,5 + 0,9g/l sodium azide 600  $\mu$ l; *well* kedelapan berisi pelarut berupa sodium phosphate (0,1 mol/l) pH 7,5 + 0,9 g/l sodium azide 600  $\mu$ l; *well* kesembilan berisi bufer pencuci diethanolamine DEA (1,1 mol/l atau 11,5%) pH 9,8 + 1g/l sodium azide 600  $\mu$ l; dan *well* ke sepuluh berisi substrat berupa 4-methyl-umbelliferyl phosphatase (0,6 mmol/l) +DEA (0,62 mol/l, atau 6,6% + 1g/l sodium azide 300  $\mu$ l).

Pada kit gonadotropin, *well* pertama diperuntukkan bagi sampel, *well* kedua hingga kelima kosong, *well* keenam berisi konjugat monoklonal anti-FSH immunoglobulin mencit berlabel alkaline phosphatase + 1g/l sodium azide (400  $\mu$ l). *Well* ketujuh dan kedelapan, berisi buffer pencuci berupa sodium phosphate (0,01mol/l) pH7.4 + 1g/l sodium azide (600  $\mu$ l), *well* ke sembilan berisi bufer pencuci diethanolamine DEA (1,1 mol/l atau 11,5%) pH 9,8 + 1g/l sodium azide 600  $\mu$ l; *well* kesepuluh berupa cuvet pembaca yang berisi 4-methyl-umbelliferyl phosphatase (0,6 mmol/l) +DEA (0,62 mol/l, atau 6,6% + 1g/l sodium azide 300  $\mu$ l).

Larutan standar, Strip, SPR dan semua reagen diadaptasikan ke dalam temperatur ruang selama minimal 30 menit sebelum digunakan. Setiap pembacaan dapat mengakomodasi 6 strip sekaligus. Strip pertama untuk larutan standar, strip kedua untuk kontrol, strip ketiga hingga keenam diperuntukkan bagi sampel yang akan diukur. Sebanyak 200  $\mu$ l standar, kontrol atau sampel dimasukkan kedalam *well* pertama pada masing-masing strip yang relevan.

### **Pembuatan sediaan histologis Ovarium**

Pada hari pengambilan data, ikan gurame pascamijah dianastesi menggunakan MS222, ditimbang kemudian dibedah. Ovarium didiseksi kemudian ditimbang.

Ovarium, difiksasi dalam larutan *neutral buffered formalin* selama 48 jam, selanjutnya didehidrasi dalam larutan alkohol bertingkat mulai dari 70% hingga absolut, didealkoholosasi dalam xylol, diinfiltrasi dalam campuran xylol-parafin dan ditanam dalam paraplast (Sigma p3858). Ovarium yang telah ditanam dalam blok parafin diiris secara transversal dengan ketebalan 6  $\mu$ m dan diwarnai dengan larutan haematoxylin dan eosin. Irisan ovarium diamati tahapan perkembangan oosit kemudian dihitung proporsi oosit pada masing-masing tahap perkembangan.

### **Penghitungan gonado-somatik indeks (GSI)**

GSI dihitung dengan rumus = [berat gonad: (berat tubuh+gonad)]x100%

### **Analisis statistik**

Guna mengetahui interaksi antara hormon steroid gonad, gonadotropin dan aktivitas gametogenesis, dilakukan analisis korelasi antara hormon 17 $\beta$ -estradiol, dan progesteron dengan gonadotropin serta antara proporsi oosit pada setiap tahapan perkembangan dengan hormon steroid dan gonadotropin.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Kadar Hormon estradiol-17 $\beta$**

Hasil pengukuran kadar estradiol-17 $\beta$  menunjukkan bahwa pada hari pemijahan kadar hormon ini masih cukup tinggi yaitu (2222,32  $\pm$  68,19 pg/ml). Pada minggu-minggu berikutnya kadar estradiol-17 $\beta$  berfluktuasi dengan kecenderungan menurun antara minggu ke 2 hingga ke 3 (1518,61  $\pm$  100,68 pg/ml) dan kembali meningkat pada minggu ke 4 (1989,66  $\pm$  103,11pg/ml) (Gambar 1).

### **Kadar hormon Progesteron**

Hasil pengukuran kadar hormon progesteron menunjukkan bahwa pada hari pemijahan konsentrasi hormon ini sebesar

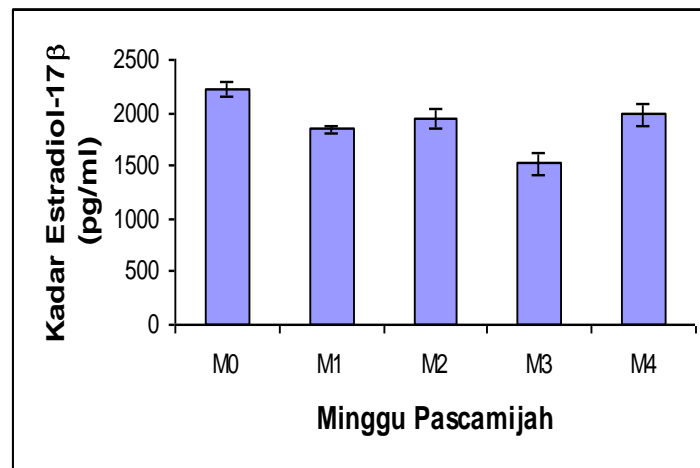
$0,403 \pm 0,02$  ng/ml. Kadar progesteron relatif tetap pada minggu pertama setelah pemijahan yaitu sebesar  $0,404 \pm 0,01$  ng/ml, meningkat menjadi  $0,514 \pm 0,02$  ng/ml pada minggu kedua kemudian menurun kembali menjadi  $0,384 \pm 0,02$  ng/ml pada minggu ke tiga dan  $0,260$  ng/ml pada minggu keempat (Gambar. 2).

### Kadar hormon gonadotropin

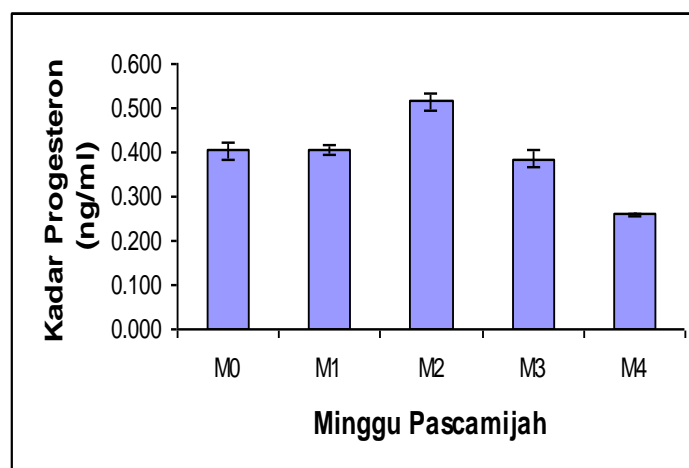
Hasil pengukuran kadar hormon gonadotropin menunjukkan bahwa kadar hormon ini relatif stabil yaitu  $0,17$  mUI/ml pada hari pemijahan kemudian  $0,13$  mUI/ml

pada minggu pertama hingga minggu ketiga dan  $0,14$  mUI/ml pada minggu ke empat (Gambar 3). Pada penelitian ini gonadotropin yang terukur ekuivalen dengan FSH. Hasil pengukuran hormon LH tidak dapat dilaporkan karena kadar hormon LH pada serum gurame berada di bawah batas standar konsentrasi terendah dari kit yang tersedia.

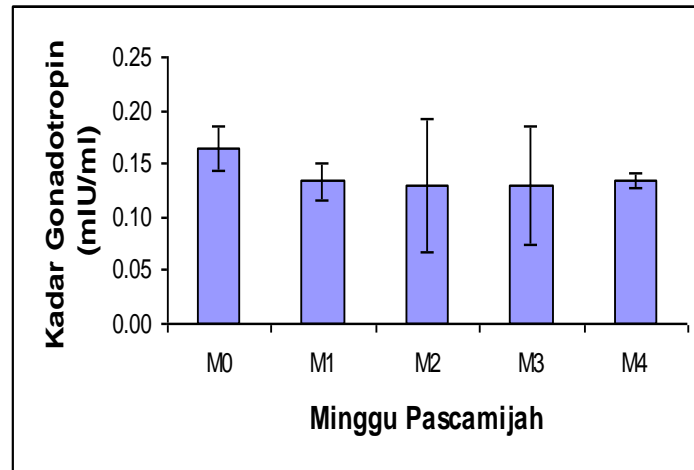
Hasil analisis korelasi menunjukkan adanya hubungan yang erat antara kadar gonadotropin dengan progesteron ( $r = 0,744782$ ), namun tidak demikian dengan estradiol- $17\beta$  dan progesteron ( $r = -0,00091$ ) dan gonadotropin dengan estradiol- $17\beta$  ( $r = -0,05014$ ).



Gambar 1. Kadar hormon estradiol- $17\beta$  pada induk gurame betina, diukur setiap minggu sejak pemijahan.



Gambar 2. Kadar hormon progesteron pada induk gurame betina, diukur setiap minggu sejak pemijahan.



Gambar 3. Kadar hormon gonadotropin pada induk gurame betina, diukur setiap minggu sejak pemijahan.

### Gonad dan Indeks Kematangan Gonad

Ovarium berupa organ berpasangan yang menyatu pada bagian anteriornya dan tertelak pada bagian anterior rongga viscera. Gonad pada ikan minggu pertama pasca mijah berwarna kuning tua dan akan menjadi kuning ke arah oranye pada saat menjelang pemijahan. Nilai IKG pada induk betina pada minggu pertama hingga minggu keempat berturut-turut sebesar 1,794%; 2,3125%; 2,562% dan 4,468%.

### Oogenesis

Aktivitas oogenesis dievaluasi berdasarkan tingkat perkembangan oosit pada sediaan histologi ovarium. Evaluasi pada ovarium menunjukkan adanya sembilan tahapan perkembangan oosit yang dapat dikelompokkan atas dua tahapan previtelogenetik selanjutnya disebut tahap PV-1 dan PV-2, dan enam tahapan vitelogenetik selanjutnya disebut sebagai tahap V-1 hingga V-6 serta satu tahapan postvitelogenetik (Gambar 4). Deskripsi masing-masing tahapan perkembangan oosit gurame disajikan pada Tabel 1.

Hasil perhitungan proporsi masing-masing tahapan oosit pada setiap minggu pasca mijah menunjukkan bahwa oosit tahap PV-1 dan PV2 mendominasi setiap minggu pengamatan dengan kecenderungan semakin menurun setiap minggunya. Proporsi oosit tahap V-1 hingga V-3 meningkat meskipun

peningkatannya tidak terlalu tajam sedangkan proporsi oosit tahap V-4 hingga V-6 semakin meningkat setiap minggunya (Gambar 5.).

Hasil analisis korelasi menunjukkan adanya hubungan yang erat antara proporsi oosit pada tahap V4 hingga V6 dengan IKG. Proporsi oosit tahap previtelogenesis dan tahap vitelogenesis-1 menurun seiring dengan peningkatan IKG ( $r = -0.98179$  dan  $r = -0.94863$ ). Proporsi oosit tahap vitelogenesis-2, 3 dan 4 meningkat seiring dengan peningkatan IKG ( $r = 0.98489$ ,  $r = 0.67716$  dan  $r = 0.97419$ ).

### Pembahasan

Perubahan kadar hormon steroid gonad selama siklus reproduksi telah dilaporkan pada berbagai spesies ikan teleostei air tawar maupun laut (diulas oleh Fostier *et al.*, 1983 dan Pankhurst dan Carragher, 1991). Namun periodisitas kadar hormon-hormon tersebut diperoleh dari populasi ikan yang tertangkap di alam pada berbagai musim (Sisneros *et al.*, 2004) sehingga menghasilkan data yang sifatnya tidak berkesinambungan. Pada penelitian ini, kadar hormon diukur pada individu yang sama dan diikuti selama siklus pemijahan. Sepuluh induk gurame pasca mijah diukur kadar hormonnya setiap minggu sehingga fluktuasi hormon yang terukur lebih mencerminkan kondisi yang sebenarnya dan berkesinambungan.

Pada ikan gurame kadar  $17\beta$ -estradiol relatif tinggi pada minggu pemijahan, kemudian menurun pada minggu pertama hingga ketiga dan meningkat kembali pada minggu keempat yaitu menjelang pemijahan berikutnya (Gambar 1). Kondisi ini agak mirip dengan ikan *midshipman* betina yang menunjukkan bahwa kadar estradiol relatif rendah sepanjang tahun kecuali menjelang pembentukan sarang tepat sebelum musim pemijahan (Sisneros *et al.*, 2004). Sementara pada ikan lain misalnya *Haplochromis burtoni*, kadar hormon estradiol meningkat sejak ovarium mulai matang, kemudian menurun menjelang pemijahan (Martin, 2004). Penelitian pada *Osphronemus niloticus* menunjukkan bahwa kadar  $17\beta$ -estradiol meningkat hingga hari ke sembilan dari 15 hari siklus pemijahan kemudian menurun hingga saat pemijahan berikutnya (Biswas *et al.*, 2005). Penurunan  $17\beta$ -estradiol pada minggu pertama dan kedua bersamaan dengan peningkatan kadar hormon progesteron (Gambar 2). Kondisi ini sangat menarik karena pada minggu ketiga proporsi oosit tahap vitelogenesis pertengahan dan akhir justru meningkat (Gambar 5). Penelitian pada berbagai ikan menunjukkan bahwa sintesis vitelogenin di dalam hepar membutuhkan induksi dari  $17\beta$ -estradiol (Celius dan Walther 1998; Arukwe dan Goksoyr, 2003). Dalam penelitian ini tidak dilakukan pengukuran kadar vitelogenin selama siklus pemijahan. Dengan demikian belum dapat diketahui apakah fluktuasi kadar vitelogenin juga mengikuti fluktuasi kadar hormon  $17\beta$ -estradiol, dan progesteron. Informasi ini sangat diperlukan untuk menjelaskan pola regulasi hormonal pada ikan gurame. Terdapat kemungkinan bahwa progesteron dan gonadotropin berperan dalam internalisasi protein vitelogenin ke dalam sitoplasma oosit (Tyler *et al.*, 1991). Apabila demikian halnya, tentunya pada saat kadar progesteron meningkat diikuti pula dengan peningkatan reseptor pada oosit, oleh karena itu perlu penelitian lebih lanjut guna menguji kemungkinan tersebut.

Fluktuasi kadar  $17\beta$ -estradiol pada gurame dalam penelitian ini berkorelasi positif dengan kadar gonadotropin

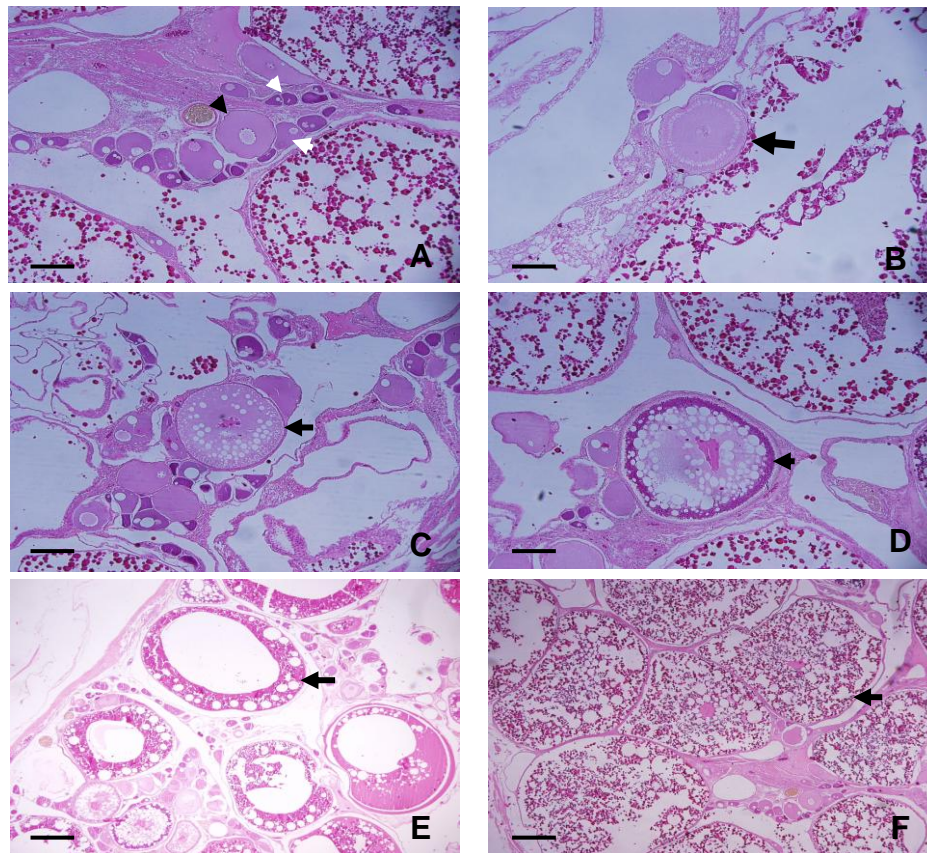
( $r=0,7447$ ). Kadar hormon gonadotropin yang relatif stabil bahkan cenderung menurun sepanjang siklus pemijahan juga merupakan fenomena yang menarik karena keberhasilan pemijahan secara tidak langsung memerlukan induksi dari hormon gonadotropin (Yaron, 1995 ; Peter dan Yu, 1997). Data tentang profil hormon reproduksi pada gurame masih sangat terbatas. Hingga saat ini belum diketahui karakter gonadotropin pada gurame. Penelitian pada anggota kerabat jauh gurame yaitu blue gourami (*Trichogaster trichopterus*) menunjukkan adanya dua tipe gonadotropin yaitu GtH-I dan GtH-II (Jackson *et al.*, 1999). Berdasarkan ekspresi mRNA dari kedua jenis gonadotropin tersebut diketahui bahwa ekspresi tertinggi didapatkan pada oosit yang sedang aktif melakukan vitelogenesis dan pematangan (Jackson *et al.*, 1999). Melihat hasil penelitian pada *T. trichopterus* dimungkinkan bahwa pada gurame juga terdapat jenis gonadotropin kedua yang tak terdeteksi dalam penelitian ini namun memegang peranan penting dalam pengaturan produksi hormon steroid ovarium maupun vitelogenesis. Guna menguji dugaan tersebut diperlukan isolasi dan karakterisasi hormon gonadotropin pada gurame.

Perbedaan fluktuasi hormon steroid ovarium dan gonadotropin pada gurame dengan ikan-ikan lain dimungkinkan karena adanya perbedaan pada strategi reproduksinya. Berdasarkan proporsi tahapan perkembangan oogenik yang diperoleh melalui evaluasi histologis dalam penelitian ini, gurame dapat digolongkan sebagai *asynchronous batch spawner*. Strategi pemijahan seperti ini ditandai dengan adanya berbagai tahapan perkembangan oogenik pada ovarium dengan peningkatan proporsi oosit matang menjelang pemijahan (Murua dan Saborido-Rey, 2003; Jalabert, 2005). Ikan-ikan yang tergolong *batch spawner* dan memijah berulang kali selama musim pemijahan memiliki karakteristik nilai IKG yang kecil (Berra *et al.*, 2007). Kondisi semacam ini juga dijumpai pada gurame. Dalam penelitian ini diketahui bahwa gurame betina memiliki IKG antara 1,794% pada hari pertama setelah memijah hingga 4,468% pada minggu

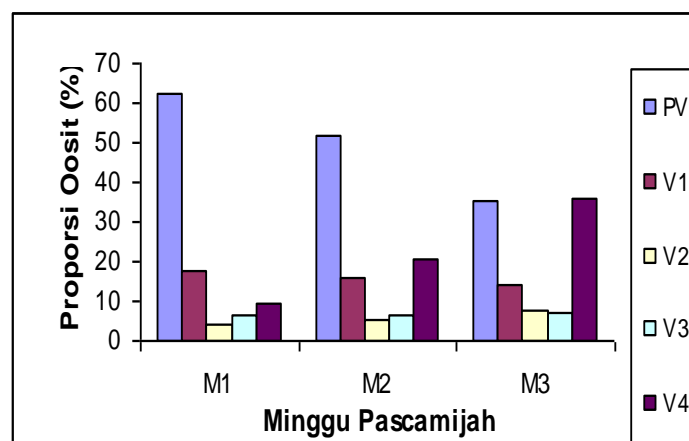


keempat. Selama penelitian diperoleh data bahwa gurame memijah dengan interval 3-6 minggu dengan rerata 4 minggu. Frekuensi pemijahan tinggi pada bulan Januari-April

dan Agustus-Februari, sedangkan antara bulan April-Juli frekuensi pemijahan menurun.



Gambar 4. Gambaran histologis tahapan perkembangan oosit pada ovarium gurame pasca mijah. A. tanda panah putih kecil menunjukkan oosit pada tahap previtelogenesis (PV-1), putih besar (PV-2) dan panah hitam (vitelogenesis (V-1). B-F tanda panah hitam menunjukkan berturut-turut tahap vitelogenesis (V-2 hingga V-6). Garis bar mewakili 150  $\mu\text{m}$ . Ovarium diproses dengan metode parafin, diiris dengan ketebalan 6  $\mu\text{m}$  dan diwarnai dengan haematoxylin-eosin.



Gambar 5. Proporsi oosit pada masing-masing tahapan perkembangan pada induk gurame pascamijah

Tabel 1. Morfologi oosit gurame yang dijumpai pada ovarium sejak minggu pertama hingga minggu keempat pasca mijah

Tahap perkembangan	Deskripsi morfologi
Previtelogenesis-I	Diameter oosit 15-61 $\mu\text{m}$ dengan rerata 39 $\mu\text{m}$ . Sitoplasma terwarna ungu tua dengan haematoxylin-eosin, nukleus kurang menyerap warna dan memiliki sekitar lima nukleoli.
Previtelogenesis-II	Diameter oosit 67-123 $\mu\text{m}$ dengan rerata 90 $\mu\text{m}$ . Sitoplasma terwarna ungu tua dengan haematoxylin-eosin diameter nukleus dan jumlah nukleoli bertambah, pada sitoplasma kadang dijumpai semacam globula tunggal.
Vitelogenesis-I	Diameter oosit 153-307 $\mu\text{m}$ dengan rerata 222 $\mu\text{m}$ . Sitoplasma terwarna ungu muda, diameter nucleus meningkat dan jumlah nukleoli berkisar antara 8-15. Pada sitoplasma kadang-kadang dijumpai globula berukuran kecil terletak pada bagian perifer.
Vitelogenesis-II	Diameter oosit 410-512 $\mu\text{m}$ dengan rerata 461 $\mu\text{m}$ , diameter nukleus sebesar 46-82 $\mu\text{m}$ dengan rerata 68 $\mu\text{m}$ dan memiliki bulatan terwarna ungu tua. Sitoplasma terwarna agak merah muda dan memiliki dua tipe globula, globula berukuran kecil berada di bagian perifer sedangkan yang berukuran lebih besar berada di bagian tengah. Membran vitelin belum dapat diidentifikasi.
Vitelogenesis-III	Diameter oosit 543-615 $\mu\text{m}$ dengan rerata 558 $\mu\text{m}$ , diameter nukleus sebesar 46-82 $\mu\text{m}$ . Sitoplasma terwarna merah muda dan pada bagian perifer granula yolk yang terwarna merah muda disamping globula yolk yang ukurannya membesar dan posisinya semakin ke tengah, membran vitelin mulai dapat dikenali.
Vitelogenesis-IV	Diameter oosit 771-1054 $\mu\text{m}$ dengan rerata 874 $\mu\text{m}$ . Ukuran yolk globul meningkat dan bertambah jumlahnya pada bagian tengah terdapat yolk globul terbesar dengan ukuran 167-205 $\mu\text{m}$ , granula yolk terwarna ungu, membran vitelin semakin tampak jelas.
Vitelogenesis-V	Diameter oosit 1208-1414 $\mu\text{m}$ dengan rerata 1285 $\mu\text{m}$ . Ukuran yolk globul meningkat dan bertambah jumlahnya pada bagian tengah terdapat yolk globul terbesar dengan ukuran 167-205 $\mu\text{m}$ , granula yolk terwarna merah muda, membran vitelin semakin tampak jelas.
Vitelogenesis-VI	Diameter oosit 1414-2005 $\mu\text{m}$ dengan rerata 1709 $\mu\text{m}$ . Pada sitoplasma terdapat globula yang tak terwarna, globula terwarna ungu dan granula yolk, nukleus berada di tengah sitoplasma dan rasio antara sitoplasma:nukleus menjadi semakin jauh, membran vitelin dapat dibedakan dengan jelas dari sel-sel folikel.
Post vitelogenesis	Diameter oosit 2020- 2600 $\mu\text{m}$ dengan rerata 2300 $\mu\text{m}$ Nukleus mulai bergeser ke arah perifer. Membran vitelin dan sel-sel folikel semakin tampak jelas.

## KESIMPULAN

Berdasarkan data penelitian yang meliputi profil hormon dan aktivitas gametogenesis dapat disimpulkan bahwa:

- a. Gurame memiliki strategi reproduksi *synchronous batch spawner* dengan rerata interval memijahan selama empat minggu.
- b. Pada gurame betina, kadar hormon  $17\beta$ -estradiol menurun sejak pemijahan hingga minggu ketiga pasca mihak dan meningkat kembali tepat menjelang pemijahan. Fluktuasi ini berkorelasi positif dengan fluktuasi gonadotropin namun tidak berkorelasi dengan progesteron.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini didanai oleh Kementerian Riset dan Teknologi Indonesia melalui Program Insentif Dasar Tahun anggaran 2007.

## DAFTAR PUSTAKA

- Arukwe, A. and A. Goksoyr. 2003. Egg shell and egg yolk protein in fish, hepatic protein for the next generation. [www.comparative-endocrinology.com](http://www.comparative-endocrinology.com) 5-12-2003
- Berra, T.M., B. Gomelsky, B.A. Thompson and D. Wedd. 2007. Reproductive anatomy, gonad development and spawning seasonality of nurseryfish, *Kurtus gulliveri* (Perciformes: Kurtidae). Australian journal of Zoology, 55: 211-217
- Biswas A.K., T. Morita, G. Yoshizaki, M. Maita and T. Takeuchi. 2005. Control of reproduction in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) by photoperiod manipulation. Aquaculture, 243: 229-239
- Djajasewaka, H. 2004. Pengaruh kadar protein berbeda dalam pakan induk ikan gurami (*Osphronemus gouramy*) terhadap produksi dan kualitas telur. Biosfera, 21(3): 84-88
- Fostier, A., B. Jalabert, R. Billard, and B. Breton. 1983. The gonadal steroid. In: Hoar, W.S. Randall, D.J. and Donaldson, E.M., Eds.), Fish Physiology, Vol IXA. Academic Press, New York. pp.227-372
- Goetz, F.W., M. Rajan, A.K. Brendtson and P. Duman. 1987. The mechanism and hormonal regulation of ovulation: the role of prostaglandins in teleost. In: D.R. Idler, L.W. Crim and J.M. Walls (Eds.) Proceeding of the third International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish. St. John's Newfoundland, Canada, August 2-7, 1987. pp 235-238
- Insan, I. 2000. Teknik pembenihan ikan gurami dengan media dan pakan yang terkontrol. Warta Penelitian Perikanan Indonesia, 6(2): 16-19
- Jackson, R., D. Goldberg, M. Ofir, M. Abraham and C. Degani. 1999. Blue gouramy (*Trichogaster trichopterus*) gonadotropic b subunits (I and II)cDNA sequences and expression during oogenesis. Journal of Molecular Endocrinology, 23: 177-187
- Jalabert, B. 2005. Particularities of reproduction and oogenesis in teleost fish compared to mammals. Reprod. Natur. Dev., 45: 261-279
- Kagawa, H., G. Young, S. Adachi and Y. Nagahama. 1982.  $17\beta$ -estradiol production in amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*) ovarian follicles: role of thecal and granulosa cells. General and Comparative Endocrinology, 47: 440-448
- Kawauchi, H., K. Suzuki, H. Itoh, P. Swanson, N. Naito, Y. Nagahama, M. Nozaki, Y. Nakai and S. Itoh. 1989. The duality of teleost gonadotropins.

- Fish Physiologu and Biochemistry, 7: 29-38
- Khaeruman, S.P. dan K. Amri. 2003. Pembenihan dan pembesaran gurami secara intensif. Agromedia Pustaka. Jakarta 139 pp
- Lagler, K.F., J.E. Bardach, R.R. Miller and R.R.M. Passino. 1979. Ichthyology. John Wiley and Son. New York
- Lin, Y-W.P., B.A. Rupnow, D.A. Price, R.M. Greenberg, and R.A. Wallace. 1992. *Fundulus heteroclitus* gonadotropin. III. Cloning and sequencing of gonadotropic hormone (GTH) I and II subunit using the polymerase chain reaction Mollecular Cellular Biology, 85 : 127-139
- Martin, J. 2004. Hormonal and physiological profiles of female *Haplochromis burtoni* as it relate to affiliative behavior. SURJ: 55-61
- Murua, H. and F. Saborido-Rey. 2003. Female reproductive strategies of marine fish species of the North Atlantic. J. Northw. Atl. Fish.Sci., 33: 23-31
- Nagahama Y. 1987.  $17\alpha$ ,  $20\beta$ -Dihydroxy-4-pregnen-3-one: a teleost maturation-inducing hormone. Development Growth and Differentiation, 29: 1-12
- Peter, R.E. and K.L. Yu. 1997. Neuroendocrine regulation of ovulation in fishes: basic and applied aspects. Rev. Fish. Biol. Fisher, 7:173-197
- Pankhurst, N.W. and J.F. Carragher. 1991. Seasonal endocrine cycles in marine teleost. In: Scott, A.P., Sumpter J.P. Kime D.E. and Rofle M.S. (Eds.) Reproductive Physiology of Fish. Fish Fish Symp91, Sheffield vol. 91: 131-135
- Pelissero, C., J.L. Foucher, B. Bennetau, J. Donogues, G. Fluoriot and J.P. Sumpter. 1991. *In vitro* estrogenic activities of phyoestrogen on liver vitellogenin synthesis in the rainbow trout (*Oncorhyncus mykiss*). In: A.P. Scott, J.P. Sumpter, D.E. Kime, ans M.S. Rolfe (eds.). Proceeding of the fourth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish. Noewich, UK. 7-12 Juli 1991, Fish Fish Symp91, Sheffield pp 247-249
- Peyon, P., S. Baloché and E. Burzawa-Gerard. 1992. Induction of vitelogenin synthesis by  $17\beta$ -estradiol and testosterone in silver eel hepatocytes maintained in primary culture. In: Abstract, Second International Symposium on Fish Endocrinology, Saint Malo, June 1-4, 1992, p. P58
- Sherwood, N.M. and I.R. Coe, 1991. Neuropeptides and their genes in fish. In: A.P. Scott, J.P. Sumpter, D.E. Kime, ans M.S. Rolfe (eds.). Proceeding of the fourth International Symposium on the Reproductive Pphysiology of Fish. Noewich, UK. 7-12 Juli 1991, Fish Symposium, Sheffield pp 38-40
- Sisneros, J.A., P.M. Forlano, R. Knapp and A.H. Dass. 2004. Seasonal variation of steroid hormone levels in an intertidal-nesting fish, the vocal plainfin midshipman. General and Comparative Endocrinology, 136: 101-116
- Soeminto, G.E. Wijayanti, A. Sunarma dan N. Nurhayati. 2005. Studi pendahuluan untuk mendapatkan metode memperoleh gamet fertil pada ikan gurami (*Osphronemus goramy* Lac.) untuk pembuahan buatan. Prosiding Seminar Nasional Biologi dan Akuakultur Berkelanjutan. Purwokerto
- Sulaeman, 2005. Perikanan kita kemana akan dibawa? *Warta Penelitian*

- Perikanan Indonesia* 11(3): 17-23  
 Sumpter, J.P., C.R. Tyler, and H. Kawauchi. 1991. Action of GTH I and GTH II on ovarian steroidogenesis in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. In: A.P. Scott, J.P. Sumpter, D.E. Kime, and M.S. Rolfe (eds.). Proceeding of the fourth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish. Noewich, UK. 7-12 Juli 1991, Fish Fish Symp91, Sheffield pp 27
- Suzuki, K., Y. Nagahama and H. Kawauchi. 1988. Steroidogenic activities of two distinct gonadotropins. *General and Comparative Endocrinology*, 71: 452-548
- Swanson, P., K. Suzuki, H. Kawauchi, and W.W. Dickhoff. 1991. Isolation and characterization of two coho salmon gonadotropin, GTH I and GTH II. *Biology of Reproduction*, 44: 29-38
- Tyler, C.R., J.P. Sumpter, H. Kawauchi, and P. Swanson. 1991. Involvement of gonadotropin in the uptake of vitellogenin into vitellogenic oocytes of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *General and Comparative Endocrinology*, 84: 291-299
- Van der Kraak, G., K. Suzuki, R.E. Peter, H. Itoh, and H. Kawauchi. 1992. Properties of common carp gonadotropin I and gonadotropin II. *General and Comparative Endocrinology*, 85:217-229
- Wallace, R.A. and P.c. Begovac. 1985. Phosvitin in *Fundulus* oocytes and eggs. *Journal of Biological Chemistry*, 260: 11268-11274
- Wallace, R.A. and K. Shelman. 1990. Ultrastructural aspect of oogenesis and oocyte growth in fish and amphibians. *Journal of Electron Microscopic Techniques*, 16: 175-201
- Yaron, Z. 1995. Endocrinology control of gametogenesis and spawning induction in the carp. *Aquaculture*, 129: 49-73
- Yoshikuni, M. and Y. Nagahama. 1991. Endocrine regulation of gametogenesis in fish. *Bull. Inst. Zool. Acad. Sin. Monogr.*, 16: 139-172