

Rangsangan Perkembangan Ovari Udang Putih (*Litopenaeus vannamei*) dengan Penyuntikan Estradiol-17 β

Tarsim¹, M. Zairin Jr.², E. Riani²

¹Fakultas Perikanan Universitas Lampung, Jl. Soemantri Brojonegoro No.1 Bandar Lampung. Telp. 0721-773577/08173692452. email: tarsim_jpg@yahoo.com

²Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, Kampus Darmaga Bogor 16680.

Abstrak

Kontrol hormonal pada reproduksi udang belum mengalami perkembangan yang signifikan. Pada umumnya untuk mempercepat kematangan gonad induk udang digunakan teknik ablasi. Mekanisme dan peranan hormon pada proses reproduksi udang belum banyak diketahui. Keberadaan hormon steroid pada krustase telah dikemukakan oleh beberapa peneliti, tetapi peranannya belum banyak diketahui. Pada penelitian ini dikaji pengaruh penyuntikan hormon estradiol-17 β pada perkembangan gonad induk udang putih (*Litopenaeus vannamei*). Penelitian ini menggunakan dosis 0,10 $\mu\text{g/g}$ bobot tubuh dengan perlakuan penyuntikan tunggal (hari ke-0) dan ganda (hari ke-0 dan ke-6). Sebagai pembanding dilakukan uji tanpa perlakuan (kontrol). Untuk melihat respon perkembangan gonad, pemeliharaan induk dilakukan selama 12 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa estradiol-17 β berpengaruh positif pada perkembangan gonad. Gonado somatic index (GSI) dan rata-rata diameter oosit pada perlakuan relative lebih tinggi dibandingkan kontrol. Penyuntikan ganda memberikan pengaruh paling besar dengan peningkatan GSI sebesar 0,453 dan rata-rata diameter oosit 23,97 μm . Oosit pada gonad hanya mampu berkembang hingga tahap previtelogenesis. Hal ini menunjukkan bahwa estradiol-17 β berperan dalam vitelogenesis endogenous. Keberadaan hormon penghambat perkembangan yang dihasilkan tangkai mata diduga menyebabkan oosit tidak dapat mencapai matang. Analisis SDS-PAGE menunjukkan bahwa protein kuning telur pada gonad terdapat 5 sub unit dengan perkiraan bobot 95, 98, 109 kDa dan dua unit >118 kDa.

Kata kunci: Gonad, estradiol-17 β , oosit, *L. vannamei*

Abstract

Available methods for hormonal control of shrimp reproduction are very limited, and only eyestalk ablation is used to induce ovarian development and spawning in shrimp farming. The occurrence of vertebrate-type steroid hormones in crustaceans have been reported, however, their physiological role are not sufficiently understood. The present study analyzed the effect of estradiol-17 β injection on gonad development of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. The estradiol-17 β dose 0.10 $\mu\text{g/g}$ body weight were used. The treatments consisted of control, single injection (day 0) and double injection (day 0 and 6). The females broodstock were cultured for 12 days. The result showed that estradiol-17 β had positive effect on gonad development. The gonado somatic index (GSI) and oocytes diameter in treatment larger than the control. Double injection had highest effect with ΔGSI and oocytes diameter was 0.453 and 23.97 μm respectively. The only oocytes previtelogenesis was found in gonad. It indicated that estradiol-17 β important to induce endogenous vitellogenesis. Gonad development probably affected by gonad inhibiting hormone in the eyestalk. It was inhibited oocyte maturation. The polypeptide sub unit was observed in vitellin of ovari by SDS-PAGE. The molecular weights of approximately 95, 98, 109 and two unit higher than 118 kDa of protein marker.

Key words: Gonad, estradiol-17 β , oocyte, *L. vannamei*

Pendahuluan

Dewasa ini budidaya udang putih (*Litopenaeus vannamei*) telah mengalami perkembangan yang pesat. Hal ini disebabkan tersedianya induk dan benih udang putih dengan kualitas *specific pathogen*

free (SPF), produktivitas yang tinggi dan waktu pemeliharaan relatif lebih singkat karena pada umumnya panen dilakukan pada ukuran <20 gram. Berkembangnya budidaya udang putih membuat panti benih juga banyak yang beralih ke usaha pembenihan udang putih.

Teknologi reproduksi dalam pembenihan udang belum mengalami perkembangan yang signifikan. Mekanisme dan peranan hormon pada proses reproduksi udang belum banyak diketahui. Pada umumnya untuk mempercepat kematangan gonad induk udang digunakan teknik ablasi. Ablasi dilakukan dengan memotong salah satu tangkai mata yang tujuannya untuk menurunkan sekresi hormon penghambat perkembangan gonad dan hormon penghambat kerja organ mandibular oleh kelenjar sinus yang berada di tangkai mata (Baclaski, 2001). Teknik ablasi cukup efektif dalam merangsang perkembangan gonad, tetapi penghilangan organ penghasil hormon akan mengganggu sistem endokrin dalam tubuh udang. Ablasi unilateral menyebabkan kerusakan permanen pada mata dan menurunkan 50% sintesis neurohormon oleh kelenjar sinus. Hal ini menyebabkan kemampuan udang untuk mengatur berbagai proses fisiologis tidak berjalan dengan baik (Huberman, 2000). Oleh sebab itu perlu diupayakan teknik rangsangan pematangan gonad yang lebih efektif dan produktif.

Manipulasi lingkungan merupakan cara yang efektif dan murah dalam merangsang sekresi hormon untuk mempercepat kematangan gonad, tetapi karakter spesifik dari sinyal-sinyal lingkungan untuk merangsang perkembangan gonad dan pemijahan, tidak diketahui secara pasti. Pada beberapa studi reproduksi udang putih telah diketahui bahwa fotoperiodisitas dan temperatur berpengaruh terhadap kecepatan perkembangan gonad tetapi hasilnya belum cukup optimal. Alternatif lain yang diduga cukup efektif dalam mempercepat perkembangan gonad adalah dengan rangsangan hormonal.

Kontrol pematangan gonad dan pemijahan merupakan masalah utama dalam pengembangan budidaya udang. Teknologi reproduksi dalam pembenihan udang belum mengalami perkembangan yang signifikan. Mekanisme dan peranan hormon pada reproduksi udang belum banyak diketahui. Pada umumnya untuk mempercepat kematangan gonad induk udang digunakan teknik ablasi. Teknik rangsangan hormonal dengan memberikan hormon-hormon steroid telah banyak dilakukan pada ikan dan terbukti cukup efektif. Pada udang, teknik rangsangan hormonal belum banyak digunakan. Hormon-hormon steroid seperti estradiol-17 β , progesterone, dan 17 α -hydroxyprogesterone juga terdapat pada hemolimf dan ovari beberapa spesies krustase (Souty-Grosset, 1997; Summavielle *et al.*, 2003; Okumura, 2004). Hormon-hormon tersebut merupakan hormon yang berperan penting dalam vitelogenesis ikan, sehingga keberadaannya dalam tubuh krustase khususnya udang diduga mempunyai peranan yang sama. Berdasarkan hal tersebut, maka

diperlukan kajian lebih lanjut mengenai peranan hormon steroid khususnya estradiol dalam perkembangan gonad induk udang. Percobaan ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian hormon estradiol-17 β terhadap perkembangan gonad induk udang putih (*Litopenaeus vannamei*).

Materi dan Metode

Waktu dan tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan April hingga bulan Juni 2006 di Balai Budidaya Air Payau (BBAP) Situbondo, Jawa Timur. Analisis histologi gonad dilakukan di laboratorium penyakit ikan, Jurusan Budidaya Perairan, FPIK-IPB dan analisis protein dengan SDS-PAGE dilakukan di Laboratorium Biotek Hewan dan Biomedis PAU-IPB.

Hewan dan bahan uji

Hewan uji adalah induk udang putih berukuran 38 \pm 2 g yang merupakan keturunan pertama dari persilangan asal Hawaii dan Florida. Induk telah berumur 9 bulan, pemeliharaan dilakukan dalam kolam percobaan BBAP Situbondo. Hormon yang digunakan sebagai bahan uji adalah estradiol-17 β produksi Argent co. ltd.

Pemberian perlakuan

Metode yang digunakan dalam percobaan ini adalah metode eksperimental. Percobaan ini menggunakan 2 perlakuan frekuensi penyuntikan hormon yaitu penyuntikan satu kali dan dua kali. Penyuntikan dua kali dilakukan agar pemaparan hormon kontinyu dan lebih lama. Penyuntikan kedua dilakukan pada hari ke-6 setelah penyuntikan pertama. Penyuntikan dilakukan pada pangkal kaki jalan kelima dengan menggunakan *syringe tuberculine* berukuran 1 mm. Dosis penyuntikan estradiol-17 β yang digunakan adalah 0,10 μ g/g bobot. Dosis tersebut merupakan dosis optimal yang diperoleh dari percobaan pendahuluan. Sebagai pembanding dilakukan uji tanpa perlakuan hormon (kontrol). Kontrol dan perlakuan masing-masing terdiri dari 15 ekor induk betina.

Pemeliharaan induk

Induk yang telah diberi perlakuan dan kontrol dipelihara dalam bak beton berwarna hitam berukuran 2x2x1 meter. Air pemeliharaan berasal dari laut yang telah di filter menggunakan *sandfilter* dengan salinitas 32-33 ppt dan temperatur 28 °C. Air mengalir kontinyu dengan debit 5 liter per menit dan dilakukan aerasi agar oksigen terlarut tetap optimal. Untuk memenuhi kebutuhan nutrisi dalam perkembangan gonad, induk diberi pakan 5 kali sehari sebesar 20% biomas dengan komposisi 40 % cumi, 40% kerang, 15% *polychaeta* dan 5% pelet.

Agar kondisi kualitas air tetap baik, kotoran yang ada di dasar bak dibersihkan setiap hari dengan cara disifon.

Parameter yang dipantau

Untuk analisis konsentrasi estradiol-17 β , hemolim diambil sebanyak 150 μ L melalui pangkal kaki jalan kelima menggunakan *syringe tuberculine* (1 ml) yang telah dibilas dengan larutan antikoagulan (3,8% natrium sitrat dalam larutan isotonik). Hemolim disentrifuse pada 5000 rpm, suhu 4 $^{\circ}$ C selama 20 menit kemudian disimpan pada suhu -20 $^{\circ}$ C hingga saat analisis. Analisis kandungan hormon dalam hemolim dilakukan sesuai prosedur *Coat-A-Count Estradiol-17 β* .

Indek maturasi (MI) ditentukan berdasarkan persamaan berikut (Alfaro et al., 2004):

$$MI (\%) = \frac{\sum \text{Induk TKG III \& IV}}{\sum \text{Total induk}} \times 100$$

Pada waktu pantau (awal dan akhir percobaan), sampel induk yang telah ditimbang dibedah untuk dikeluarkan gonad dan hepatopankreasnya. Indeks Ovari / ovarian index (OI) ditentukan dengan rumus (Longyant et al., 2003):

$$GSI / OI (\%) = \frac{\text{bobot gonad}}{\text{bobot tubuh}} \times 100$$

Hepato somatic index (HSI) ditentukan dengan rumus :

$$HSI (\%) = \frac{\text{bobot hepatopankreas}}{\text{bobot tubuh}} \times 100$$

Gonad yang telah ditimbang difiksasi dalam larutan Davidson selama 24 jam selanjutnya dimasukkan ke dalam botol sampel yang berisi alkohol 70%.

Tingkat kematangan gonad ditentukan secara morfologi yang didasarkan pada perubahan bentuk dan warna ovari. Tahapan tingkat kematangan gonad (ovari) *L. vannamei* dibedakan sesuai Yano (1988) dalam Vaca dan Alfaro (2000).

Selain berdasarkan morfologi, tingkat kematangan gonad *L. vannamei* juga ditentukan berdasarkan analisis histologi gonad. Gonad yang telah difiksasi didehidrasi dengan etanol dan dijemihkan dengan kloroform. Contoh gonad kemudian diembeding dalam campuran parafin-paraplas selanjutnya dipotong menggunakan mikrotom dengan ketebalan 5 μ m dan diberi warna dengan pewarna hematoxylin-eosin. Preparat histologi diamati dengan mikroskop cahaya untuk ditentukan

sebaran oosit pada berbagai tingkat perkembangan gonad. Adapun kriteria tahap perkembangan gonad udang *P. vannamei* adalah sebagai berikut (Medina et al., 1996).

Karakteristik protein Vg dan protein kuning telur (Vt) ditentukan pada beberapa induk dengan TKG berbeda. Karakteristik Vg ditentukan berdasarkan sampel dari hepatopankreas dan hemolim sedangkan Vt ditentukan berdasarkan sampel ovari. Identifikasi sub unit protein dilakukan dengan *sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis* (SDS-PAGE: 7,5% gel poliakrilamida) dan diwarnai dengan 1% *coomasie brilliant blue R250* (Laemmli, 1970).

Analisis Data

Analisis data menggunakan program Minitab versi 14. Uji tingkat perbedaan respon antar perlakuan dilakukan dengan analisis satu arah (ANOVA). Untuk data yang berbeda nyata dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji Tukey pada tingkat kepercayaan 95%. Data dalam bentuk gambar dan grafik dianalisis secara deskriptif.

Hasil dan Pembahasan

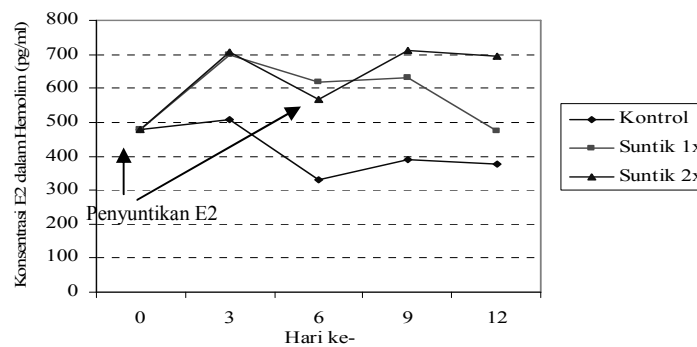
Penyuntikan estradiol-17 β meningkatkan kandungan estradiol dalam hemolim induk udang (Gambar 1). Sesaat sebelum penyuntikan, kandungan estradiol rata-rata dalam hemolim adalah 472,413 pg/ml. Tiga hari setelah penyuntikan, kandungan estradiol dalam hemolim pada perlakuan satu dan dua meningkat menjadi 699,181 dan 707,299 pg/ml, sedangkan kontrol hanya 509,694 pg/ml. Hari ke-6 konsentrasi estradiol menurun. Pada kontrol menurun menjadi 328,575 pg/ml dan pada perlakuan satu dan dua menurun menjadi 618,574 dan 567,599 pg/ml. Penyuntikan ulang pada perlakuan dua dengan dosis yang sama pada awal perlakuan menyebabkan konsentrasi estradiol meningkat menjadi 709,724 pg/ml. Konsentrasi hormon estradiol pada perlakuan satu relatif stabil dan menurun pada hari ke-12. Pada kontrol, konsentrasi estradiol naik menjadi 389,323 dan relatif stabil hingga hari ke-12.

Penyuntikan tunggal estradiol-17 β dengan dosis 0,10 μ g/g bobot tubuh memberikan respon terhadap peningkatan GSI (P<0,05). Penyuntikan ganda dengan dosis yang sama memberikan respon peningkatan GSI yang lebih tinggi dibanding penyuntikan tunggal dan kontrol (P<0,05). Baik penyuntikan tunggal maupun ganda tidak memberikan perbedaan respon yang nyata terhadap peningkatan HSI (Tabel 1). Pemberian

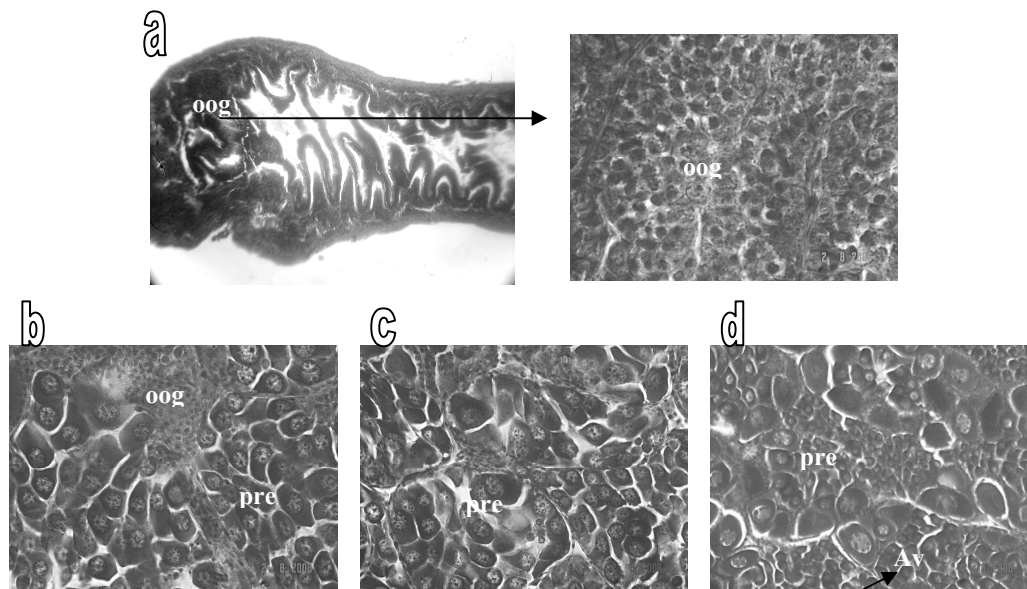
Tabel 1. Nilai gonado somatic index (GSI) dan hepato somatic index (HSI) *L. vannamei* pada perlakuan pemberian estradiol-17 β dosis 0,10 $\mu\text{g/g}$ dengan penyuntikan tunggal dan ganda

Perlakuan	GSI (%)		HSI (%)		Bobot (g)		Φ oosit (μm)	Δ GSI	Δ HSI	SGR
	Awal	Akhir	awal	akhir	awal	akhir				
Kontrol	0,809	0,994	1,780	2,032	38,6	39,0	14.56 ^a	0,185 ^a	0,252 ^a	0,090 ^a
1 x Suntik	0,795	1,110	1,751	2,071	39,2	39,6	16.02 ^a	0,316 ^b	0,320 ^a	0,092 ^a
2 x Suntik	0,803	1,256	1,780	2,155	38,1	38,6	23.97 ^b	0,453 ^c	0,375 ^a	0,095 ^a

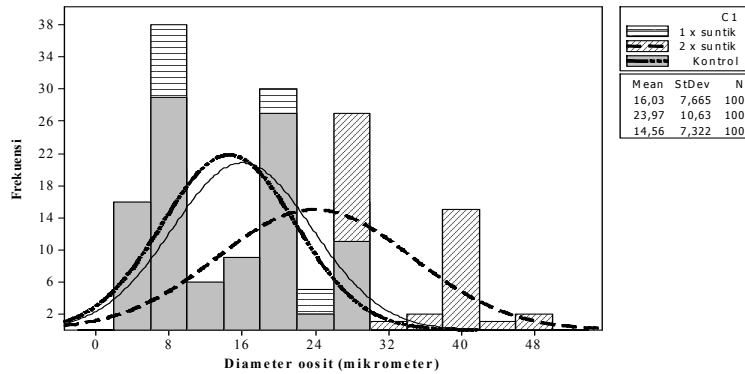
Ket. Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$)



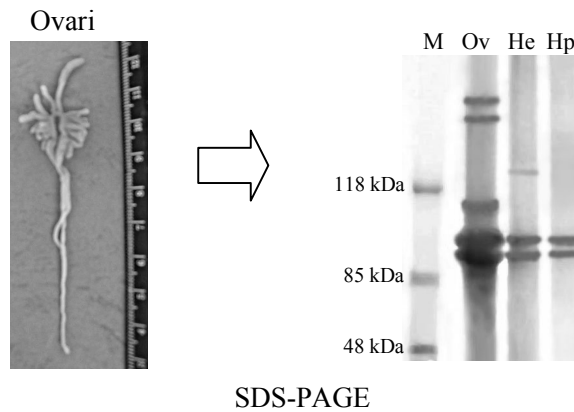
Gambar 1. Konsentrasi estradiol-17 β dalam hemolimf induk *L. vannamei* dengan perlakuan penyuntikan hormon estradiol-17 β dosis 0,10 $\mu\text{g/g}$ bobot tubuh melalui penyuntikan tunggal dan ganda. Penyuntikan estradiol-17 β memberikan respon peningkatan kandungan estradiol-17 β dalam hemolimf



Gambar 2. Kondisi umum gonad pada induk *L. vannamei* dengan perlakuan pemberian hormon estradiol-17 β dosis 0,10 $\mu\text{g/g}$ bobot tubuh melalui penyuntikan tunggal dan ganda. a. Kondisi gonad sebelum perlakuan, b. Kondisi setelah perlakuan pada kontrol, c. Kondisi pada perlakuan penyuntikan tunggal, dan d. Kondisi pada perlakuan penyuntikan ganda. (perbesaran 100x). Pada umumnya gonad baru mencapai TKG I sehingga oosit hanya terdiri dari oogonia dan oosit previtelogenesis oog (oogonia), pre (previtelogenesis), Av (awal vitelogenesis).



Gambar 3. Sebaran frekuensi diameter oosit induk *L. vannamei* tanpa ablasi dengan perlakuan penyuntikan hormon estradiol-17 β dosis 0,10 μ g/g bobot tubuh.



Gambar 4. Analisis SDS-PAGE (7,5% gel polyacrylamide) dengan perwarna coomassie brilliant blue R250, M (marker), Ov (Ovari), He (Hemolim), Hp (hepatopankreas)

estradiol-17 β juga tidak memberikan respon berbeda pada pertumbuhan spesifik ($P > 0,05$).

Penyuntikan ganda estradiol-17 β terhadap induk *L. vannamei* meningkatkan rata-rata diameter oosit dibandingkan dengan kontrol ($P < 0,05$), tetapi pada penyuntikan tunggal tidak berbeda ($P > 0,05$). Pada kondisi awal, oosit belum berkembang dan masih berbentuk oogonia (Gambar 2). Setelah penyuntikan, rata-rata diameter oosit pada kontrol, penyuntikan tunggal dan ganda masing-masing adalah 14,56, 16,02 dan 23,97 μ m.

Berdasarkan pengamatan histologi, pada awal perlakuan umumnya gonad belum berkembang (Gambar 2.a). Gonad berisi lapisan germinal yang merupakan bakal sel oogonia. Pada akhir perlakuan (12 hari), baik kontrol maupun perlakuan mengalami perkembangan gonad. Pada kontrol, umumnya di

dalam ovari masih banyak terdapat oogonia yang belum berkembang (Gambar 2.b), sedangkan pada induk yang diberi penyuntikan estradiol-17 β (tunggal dan ganda), oogonia pada bagian tengah ovari telah berkembang menjadi oosit. Semua oosit masih berada pada tahap previtelogenesis. Dibandingkan dengan penyuntikan tunggal, penyuntikan ganda memberikan respon perkembangan gonad yang lebih besar. Rata-rata diameter oosit lebih besar dibandingkan kontrol dan perlakuan penyuntikan tunggal ($P < 0,05$).

Berdasarkan kurva sebaran frekuensi diameter oosit (Gambar 3), tampak pada perlakuan penyuntikan tunggal tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Kisaran diameter oosit relatif sama yaitu antara 4,8-28,8 μ m, walaupun frekuensi diameter oosit pada selang 16-24 μ m lebih besar tetapi tidak signifikan. Kisaran diameter oosit pada penyuntikan

ganda adalah 9,6-48,0 μm . Tampak pada gambar, kurva normal diameter oosit pada penyuntikan ganda lebih lebar dengan puncak lebih ke kanan. Hal ini menunjukkan bahwa gonad mempunyai kisaran ukuran yang lebih lebar dengan ukuran rata-rata diameter yang lebih besar. Kisaran dan rata-rata diameter oosit perlakuan penyuntikan ganda relatif lebih besar dibanding kontrol dan perlakuan penyuntikan tunggal ($P < 0,05$).

Karakteristik Protein Vg dan Vt

Berdasarkan analisis SDS-PAGE (Gambar 4), pada ovarium terdapat 5 sub unit protein dengan perkiraan bobot 95, 98, 109 kDa dan dua sub unit protein dengan bobot > 118 kDa. Pada hemolim dan hepatopankreas terdapat dua sub unit utama dengan bobot 95 dan 98 kDa. Pemberian hormon estradiol-17 β melalui penyuntikan cukup efektif dalam meningkatkan kandungan estradiol dalam tubuh induk udang putih (*L. vannamei*). Estradiol-17 β yang disuntikan ke dalam tubuh udang akan tersirkulasi dalam hemolim sehingga kandungan estradiol menjadi lebih tinggi. Selain itu, di dalam hemolim induk juga terdapat estradiol endogenous. Hal ini didasarkan atas keberadaan estradiol pada hemolim kelompok induk yang tidak diberi perlakuan (kontrol). Sintesis estradiol di dalam tubuh udang belum diketahui secara pasti. Pada vertebrata, estradiol diproduksi dalam sel granulosa dari sel folikel ovarium, sehingga keberadaan sel folikel ovarium pada udang diyakini juga menjadi tempat sintesis estradiol. Hal ini diungkapkan oleh Yano (1998) bahwa estradiol disintesis dalam sel folikel ovarium udang. Kemampuan ovarium udang untuk mensintesis estradiol ditunjukkan dengan adanya aktivitas beberapa enzim yang berperan dalam sintesis estradiol antara lain 17 α -Hydroxylase, C17-21 lyase, 17 β -Hydroxysteroid dehidrogenase (17 β -HSD) dan aromatase (Sumavielle et al. 2003). Kandungan estradiol dalam hemolim tidak berbeda nyata selama perkembangan gonad, hal ini disebabkan estradiol bukan hormon utama dalam perkembangan gonad udang putih. Menurut Laufer et al. (1997) hormon yang berperan utama dalam vitelogenesis udang putih adalah *methyl farnesoate*. Estradiol berperan sebagai perangsang vitelogenesis dalam ovarium (*vitellogenesis stimulating ovarian hormone-VSOH*). Biosintesis estradiol juga terdapat pada beberapa krustase lainnya seperti *Macrobrachium rosenbergii* (Ghosh dan Ray, 1993), dan *Pandanus kessleri* (Quinitio et al. 1991). Fluktuasi yang terjadi dan overlap grafik kandungan estradiol dalam hemolim disebabkan tiap tahap sampling dilakukan pada individu yang berbeda, sedangkan setiap individu mempunyai kemampuan sintesis estradiol yang berbeda-beda. Keadaan ini menyebabkan variasi kandungan estradiol yang cukup

tinggi, baik antar individu dalam perlakuan maupun antar individu antar perlakuan. Faktor lain yang menyebabkan tingginya variasi kandungan hormon estradiol dalam hemolim adalah akibat jumlah induk yang disampling. Semakin sedikit jumlah induk yang disampling menyebabkan koefisien variasi menjadi semakin besar.

Pada akhir pengamatan terjadi penurunan konsentrasi estradiol di semua perlakuan. Hormon steroid yang telah sampai ke organ target dan berperan sebagaimana fungsinya, akan dimetabolisme atau mengalami proses inaktivasi. Pada mamalia proses inaktivasi hormon steroid terjadi pada ginjal dan hati oleh kelompok enzim glukuronosyltransferase dan sulfotransferase. Pada ikan salmon terdapat enzim carbonil reductase yang berperan dalam inaktivasi 17, 20 β -P dan 5 α serta 5 β -dihydroxytestosteron. Metabolit hormon steroid akan diekskresi melalui insang (dalam bentuk steroid bebas), empedu (bentuk glucoronide-steroid terkonjugasi) dan urine (bentuk sulfat) (Young et al. 2005). Berdasarkan hal tersebut diduga penurunan konsentrasi estradiol pada tubuh udang juga akibat proses inaktivasi atau metabolisme estradiol dalam tubuh, tetapi enzim yang berperan dalam proses metabolisme atau inaktivasi belum diketahui.

Penyuntikan ganda estradiol-17 β dengan dosis 0,10 $\mu\text{g/g}$ bobot tubuh pada induk udang putih tanpa ablasi mampu meningkatkan GSI dan rata-rata diameter telur. Ini menunjukkan bahwa estradiol berperan penting pada tahap awal vitelogenesis (*previtellogenesis*). Pada penelitian sebelumnya oleh Tsukimura dan Kanemoto (1991), pemberian hormon steroid (17- α -Hydroxyprogesterone) terhadap oosit *L. vannamei* secara *in vitro* mampu merangsang terjadinya *endogenous vitellogenesis*. Hormon 17- α -Hydroxyprogesterone merupakan prekursor testosterone dan dengan bantuan enzim aromatase akan dikonversi menjadi estradiol. Adanya aktifitas aromatase pada ovarium dan hepatopankreas udang dikemukakan oleh Summavielle et al. (2003). Pada awal perkembangan gonad, estradiol akan merangsang sel folikel ovarium dalam sintesis prekursor Vg yang akan digunakan dalam proses vitelogenesis (Yano, 1998). Protein tersebut diduga merupakan komponen protein *cortical rods* (CRs) yang muncul pada akhir vitelogenesis. Yamano et al. (2004) menyatakan bahwa protein CRs disintesis pada awal perkembangan ovarium, tetapi pembentukan strukturnya terjadi pada oosit matang.

Seperti telah disebutkan sebelumnya bahwa pemberian estradiol-17 β mampu merangsang *endogenous vitelogenesis* pada oosit. Pemaparan gonad pada estradiol akan memberikan respon

perkembangan yang lebih tinggi, tetapi perkembangan gonad belum mampu mencapai tahap matang. Perkembangan hanya mencapai tahap awal TKG I. Respon ini menunjukkan bahwa reseptor estradiol telah ada pada induk non-reproduktif. Pada udang windu respon akan lebih tinggi pada induk yang gonadnya telah berkembang karena jumlah reseptor lebih tinggi (Riani, 2000). Kemungkinan lain adanya pengaruh estradiol pada induk non-reproduktif adalah terjadinya efek farmakologi dimana estradiol berikatan dengan reseptor non-spesifik seperti reseptor ekdison (Okumura dan Sakiyama 2004). Tidak berkembangnya gonad hingga tahap matang diduga akibat adanya aktivitas GIH dan MOIH yang dihasilkan organ-X pada tangkai mata. Hal ini dikuatkan berdasarkan uji *in vitro*, bahwa pemberian estradiol menyebabkan peningkatan ukuran oosit yang cukup nyata, tetapi saat dilakukan *in vivo* pada induk non-ablasi, perbedaan respon menjadi tidak terlihat (Tsukimura, 2001).

Berdasarkan analisis SDS-PAGE, pada ovarium terdeteksi 5 sub unit protein dengan bobot 95, 98, 109 dan 2 sub unit >118 kDa. Protein tersebut diduga merupakan komponen dari Vt. Protein dengan bobot 95 dan 98 kDa merupakan komponen terbesar, hal ini ditunjukkan dengan ketebalan pita yang diperoleh. Jumlah sub unit yang diperoleh tidak berbeda dengan Quackenbush (2001) yang menyatakan bahwa protein Vt *L. vanamei* terdiri dari 5 sub unit, tetapi terdapat perbedaan pada bobot molekul masing-masing sub unit. Menurutnya bobot komponen protein Vt adalah 158, 103, 97, 95 dan 76 kDa. Hal berbeda diungkapkan oleh Vazques-Boucard *et al.* (2003) yang mengidentifikasi 6 sub unit dengan perkiraan bobot 160, 140, 100, 95, 90 dan 60 kDa. Perbedaan ini diduga karena perbedaan metode dan teknik separasi protein. Selain itu juga diduga akibat denaturasi protein selama penyimpanan. Selain di ovarium, sintesis prekursor Vt (Vg) juga terjadi di hepatopankreas (Quackenbush, 2001). Analisis SDS-PAGE menunjukkan bahwa pada hepatopankreas disintesis dua sub unit protein dengan perkiraan bobot 95 dan 98 kDa. Protein ini selanjutnya ditransfer ke oosit melalui hemolimf sehingga pada hemolimf terdeteksi sub unit protein yang sama.

Pada hemolimf jantan tidak terdeteksi adanya protein yang sama seperti pada ovarium, hepatopankreas dan hemolimf betina. Pada udang penaeid belum diketahui apakah sintesis Vg juga terjadi pada jantan. Pada fase juvenil individu jantan *Macrobrachium rosenbergii* dideteksi

keberadaan protein Vg, tetapi protein tersebut tidak terdeteksi saat dewasa. Hal ini diduga terkait dengan berkembangnya kelenjar androgen pada jantan fase dewasa (Souty-Grosset, 1997).

Kesimpulan

Pada induk yang tidak diablasi, pemberian estradiol-17 β dapat merangsang perkembangan gonad hingga TKG I. Estradiol berperan dalam endogenous vitellogenesis. Pengaruh hormon penghambat perkembangan gonad yang dihasilkan tangkai mata masih dominan sehingga oosit tidak dapat mencapai matang.

Daftar Pustaka

- Alfaro J, Zuñiga G, Komen J. 2004. Induction of ovarian maturation and spawning by combined treatment of serotonin and a dopamine antagonist, spiperone in *Litopenaeus stylirostris* and *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*. 236 : 511 -522.
- Baclaski, B. J. 2001. Crustacean reproductive hormonal control and the role of methyl farnesoate. University of Connecticut, Molecular and Cell Biology. USA.
- Ghosh, D and A. K. Ray. 1993. 17 β -Hydroxysteroid dehydrogenase activity of ovary and hepatopankreas of freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* : relation to ovarian condition and estrogen treatment. *General and Comparative Endocrinology*. 89 : 248-254.
- Huberman, A. 2000. Shrimp endocrinology. A review. *Aquaculture*. 191: 191-208.
- Laufer, H., P. Takac, J. S. B. Ahl and M. R. Laufer, 1997. Methyl farnesoate and the effect of eyestalk ablation on the morphogenesis of the juvenile female spider crab *Libinia emarginata*. *Invertebrate Reproduction Development*. 31: 63-68.
- Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 227 : 680-685.
- Longyant S, Sithigorkul P, Sithigorkul W, Chaivisuthangkura P, Thammapalerd N and Menasveta P. 2003. The effect of eyestalk extract on vitellogenin level in the hemolimf of the giant tiger prawn *Penaeus monodon*. *Science Asia*. 29 : 371-381
- Medina A, Vila Y, Mourente G, Rodriguez A. 1996. A Comparative study of the ovarian development in wild and pond-reared shrimp, *Penaeus kerathurus* (Forsk., 1775). *Aquaculture*. 148 : 63-75.

- Okumura, T. 2004. Review : Perspective on hormonal manipulation of shrimp reproduction. *JARQ*. 38 : 49-54.
- Okumura, T and K. Sakiyama. 2004. Hemolymph levels of vertebrate-type steroid hormones in female kuruma prawn, *Marsupenaeus japonicus* (crustacea :decapoda:penaeidae) during natural reproductive cycle and induce ovarian development by eyestalk ablation. *Fisheries Science*. 70:372-380.
- Quakenbush, L.S. 2001. Yolk synthesis in the marine shrimp, *Penaeus vannamei*. *American Zoologist*. 41: 465-476.
- Quinitio, E.T., R.M. Caballero, L.Gustilo.1993. Ovarian development in relation to changes in the external genitalia in captive *Penaeus monodon*. *Aquaculture*.114 : 71-81.
- Riani, E. 2001. Peningkatan dayaguna induk udang windu (*Penaeus monodon* Fab) afkir melalui pemberian dopamin serta modifikasinya dengan estradiol dan vitamin. Disertasi. Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Souty-Grosset, C. 1997. Vitellogenin synthesis in marine invertebrate. In: Fingerman, M., R. Nagabhushanam., M. Thompson. (ed). Recent advances in marine biotechnology. Vol. 1. Endocrinology and reproduction. Science Publisher, Inc. USA.
- Summavielle, T., P. R. R. Monteiro., M. A. Reis-Hendriquez., J. Coimbra. 2003. In vitro metabolism of steroid hormones by ovary and hepatopancreas of the crustacean penaeid shrimp *Marsupenaeus japonicus*. *Scientia Marina*. 67: 299-306.
- Tsukimura. B. 2001. Crustacean vitellogenesis: its role in oocyte development. *American Zoologist*. 41: 465-476.
- Tsukimura, B. and F. I. Kamemoto. 1991. In vitro stimulation of oocytes by presumptive mandibular organ secretions in the shrimp, *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*. 92:59-66.
- Vaca, A.A and Alfaro, J. 2000. Ovarian maturation and spawning in the white shrimp, *Penaeus vannamei*, by serotonin injection. *Aquaculture*. 182: 373-385.
- Vazquez-Boucard. C, H. Mejia-Ruiz, F. Zamudio, V. Serrano-Pinto, And H. Nolasco-Soria. 2003. Isolation and molecular characterization of vitellin from the mature ovaries of the prawn *Litopenaeus vannamei*. *J. Shellfish Research*. 22: 887-892.
- Yamano, K., G. Qiu and T. Unuma. 2004. Molecular cloning and ovarian expression profiles of thrombospondin, a major component of cortical rods in mature oocytes of penaeid shrimp, *Marsupenaeus japonicus*. *Biology of Reproduction*. 70: 1670-1678.
- Yano I .1998. Hormonal control of vitellogenesis in penaeid shrimp. In Flegel TW (ed) Advances in shrimp biotechnology. National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, Bangkok.
- Young G, M. Kusakabe, I. Nakamura, P.P. Lokman and F.W. Goetz. 2005. Gonadal steroidogenesis in teleost fish. p. 155-223. In Melamed P and Sherwood N. Editors. Hormones and their receptors in fish reproduction (molecular aspects of fish and marine biology; v.4). World Scientific Publishing. Singapore.