

STUDY ON MATERNAL TESTOSTERONE HORMONE IN FEMALE BROODSTOCKS AND EGG OF CATFISH (*Clarias gariepinus*)

Triayu Rahmadiyah^{1*} · Muhammad Zairin Junior² · Alimuddin² · Iis Diatin²

ABSTRACT *This study aimed to track maternal testosterone hormone in catfish (*Clarias gariepinus*) eggs as an endogenous factor causing cannibalism. The fish used were female catfish broodstocks that had never been spawned before, with an average weight of 450.0 ± 62.00 g and a total length of 35.4 ± 3.53 cm. The male broodstock had an average weight of 810.0 ± 85.00 g and a total length of 46.1 ± 5.83 cm. The broodstock were maintained separately by sex in $3 \times 1 \times 1$ m³ hapa nets, with a stocking density of two females and one male (2:1 ratio). The study employed a completely randomized design (CRD) with treatments consisting of females injected with propylene glycol (0 µg/L*

body weight) (A), females injected with the hormone 17α-MT (1 µg/L body weight) (B), and females injected with the hormone 17α-MT (2 µg/L body weight) (C), each treatment replicated three times. For the observation of hormone derivatives, egg samples were collected during the pre-spawning (day 90) and post-spawning (day 91) periods. The results indicated that the testosterone levels in the catfish eggs were higher during the pre-spawning period (A: 0.6 ± 0.03 ng/ml; B: 0.7 ± 0.07 ng/ml; C: 1.2 ± 0.01 ng/ml) compared to the post-spawning period (A: 0.3 ± 0.03 ng/ml; B: 0.1 ± 0.00 ng/ml; C: not detected). This finding suggests that, even

¹ Program Studi Budidaya Perikanan Air Tawar, Akademi Komunitas Negeri Rejang Lebong.

* E-mail: triayu.rahmadiyah@akrel.ac.id

² Departemen Budidaya Perairan, IPB University

without the injection of the 17 α -MT hormone, testosterone is present in catfish eggs, albeit in small amounts.

Keywords: *Aggressiveness, cannibalism, inherited hormones.*

PENDAHULUAN

Kanibalisme adalah suatu kebiasaan dasar memangsa pada ikan baik seluruh atau sebagian dari individu dalam populasi yang sama. Ada beberapa tipe kanibalisme yang terjadi di alam yaitu tahap perkembangan mangsa (telur, larva, benih dan dewasa). Kanibalisme pada telur terjadi pada telur yang tidak menetas dan kemudian dimakan oleh induknya. Berdasarkan hubungan genetik, kanibalisme dibagi menjadi tiga tipe yaitu induk ke larva, sekerabat, dan tidak sekerabat. Kanibalisme pada induk ke larva terjadi pada ikan yang memiliki pola asuh terhadap anaknya, kanibalisme sekerabat terjadi pada sesama larva. Biasanya larva yang memiliki ukuran lebih besar akan memakan larva yang memiliki ukuran lebih kecil, sedangkan kanibalisme tidak sekerabat terjadi pada ikan yang berbeda spesies contohnya cairan dan bau telur ikan *trout* pelangi akan memicu ikan gobi untuk memakan telur tersebut. Selain berdasarkan kekerabatan, kanibalisme juga terjadi berdasarkan jenis kelamin yang berbeda, contohnya pada ikan lele vundu (*Heterobranchus longifilis*) (Król *et al.*, 2014; Duk *et al.*, 2017).

Yang *et al.* (2015) dan Vallon *et al.* (2016) menjelaskan bahwa peran endokrinologi memegang peran penting dalam *trigger* agresivitas yang merupakan langkah awal dari kanibalisme.

Penyerangan dalam kanibalisme antar kelompok dikaitkan dengan peran hormonal melalui modulator yang berbeda, salah satunya adalah testosteron. Testosteron memengaruhi tingkah agresif dalam mempertahankan wilayah. Zairin *et al.* (1992) juga menyatakan bahwa *C. batrachus* yang dipelihara pada suhu 23-25 °C memiliki kadar testosteron yang tinggi pada saat proses vitelogenesis. Tingginya kadar testosteron pada induk ini diduga terbawa ke dalam telur dan larva, sehingga dapat meningkatkan agresivitas. Nakamura (2013), Kang *et al.* (2015), dan Saha *et al.* (2018) juga menjelaskan bahwa hormon testosteron tidak hanya tersimpan di dalam embrio telur, tetapi juga tersimpan di dalam kuning telur, dan bahkan terus meningkat seiring dengan perkembangan larva dan induk.

Testosteron turunan dari induk ini diduga sebagai pemicu sifat agresif yang dapat menyebabkan kanibalisme. Untuk menguji peran testosteron pada *C. gariepinus*, pada penelitian ini induk betina ikan lele disuntik dengan MT. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kadar hormon testosteron awal yang memengaruhi sifat kanibalisme yang diturunkan oleh induk ke telur.

METODE PENELITIAN

Ikan dan wadah pemeliharaan

Ikan uji yang digunakan adalah induk ikan lele sangkuriang (*C. gariepinus*) yang diperoleh dari Balai Besar Perikanan Budidaya Air Tawar (BBPBAT) Sukabumi yang belum pernah memijah. Bobot rata-rata induk betina 450.0 $\pm$ 62.00 g dengan panjang total 35.4 $\pm$ 3.53 cm, induk jantan 810.0 $\pm$ 85.00 g dengan panjang total

46.1±5.83 cm. Induk ikan dipelihara secara terpisah antara jantan dan betina menggunakan hapa berukuran 3×1×1 m³ dengan kepadatan 2 ekor induk betina dan 1 ekor induk jantan (2:1). Hapa-hapa tersebut ditempatkan pada bak beton berukuran 3×2×0.6 m³ dan selanjutnya dipijahkan. Telur ditetaskan secara terpisah menggunakan akuarium berukuran 40×30×25 cm³ dengan ketinggian air 15 cm. Masing-masing akuarium dipasangkan instalasi aerasi yang diletakkan di bagian tengah akuarium dan *heater* untuk menstabilkan dan mempertahankan suhu 27-30 °C.

Tahap 1: Pengosongan gonad

Induk ikan lele diadaptasikan selama satu minggu dalam bak pemeliharaan yang telah disiapkan sebelumnya. Selama adaptasi dan pemeliharaan, pemberian pakan dilakukan sebanyak 3-5% dari bobot tubuh sebanyak tiga kali sehari pada pukul 07.00 WIB, 13.00 WIB dan 19.00 WIB. Pakan yang diberikan adalah pakan khusus induk ikan dengan kadar protein 30-40%. Apabila seluruh induk telah memperlihatkan kondisi yang baik dan telah beradaptasi dengan lingkungan budi daya serta pakan yang diberikan, maka dilanjutkan pemeliharaan selama satu bulan untuk pematangan gonad. Setelah satu bulan pemeliharaan dilakukan pengosongan gonad terhadap semua induk betina melalui induksi dengan LHRH-a dan antidopamin (Ovaprim; Syndel Lab) dosis 0.1 ml/kg untuk induk jantan dan 0.2 ml/kg untuk induk betina. Telur yang ada di dalam gonad dikeluarkan dengan cara pengaliran (*stripping*). Pengosongan gonad dilakukan agar induk mempunyai tingkat perkembangan gonad yang seragam.

Tahap 2: Pengecekan hormon pada induk

Setelah pemeliharaan pertama (matang gonad dan pengosongan), induk diaklimatisasi di bak beton terpisah dan dipelihara dengan perlakuan pemberian pakan yang sama seperti sebelumnya. Pada pemeliharaan kedua, induk betina ikan lele diinjeksi dengan MT. Rancangan yang digunakan pada penelitian adalah rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari tiga perlakuan, yaitu A (induk betina ikan lele yang diinjeksi MT dengan dosis 0 µg/L sebagai kontrol), B (induk betina ikan lele yang diinjeksi MT dengan dosis 1 µg/L), dan C (induk betina ikan lele yang diinjeksi MT dengan dosis 2 µg/L), masing-masing dilakukan tiga kali ulangan. Penginjeksian hormon 17α-MT ini bertujuan untuk mempertahankan kadar hormon testosteron pada induk betina ikan lele, yang nantinya akan dijadikan parameter pengamatan hormon testosteron yang diturunkan dari induk ke anakan melalui telur.

Hormon 17α-MT dilarutkan dalam larutan *propylene glycol* dengan perbandingan 1:1. Pengamatan kadar hormon testosteron dan glukosa darah diamati setiap 20 hari; tiga hari sebelum injeksi MT (hari ke-0, 20, 40, 60 dan 80 masa pemeliharaan) dan setelah injeksi MT hari ke-6, 26, 46, 66 dan 86 masa pemeliharaan). Setelah 90 hari pemeliharaan, kematangan gonad dan hormon induk diamati. Untuk pengukuran hormon maternal, sampel telur dikumpulkan dan hormon testosteron diukur pada saat sebelum pemijahan (90 hari) dan setelah pemijahan (91 hari). Pengukuran kualitas air yaitu pH dan suhu dilakukan setiap hari, sedangkan *dissolved oxygen* (DO) dilakukan setiap awal, tengah dan akhir pemeliharaan.

Preparasi serum darah induk betina dan telur ikan lele

Darah diambil dari pembuluh darah bagian *vena caudal* atau ekor menggunakan *syringe* yang telah diberi antikoagulan (Na-sitrat 3,8%). Darah yang terdapat di dalam tube disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 5-10 menit. Supernatan yang terbentuk dari proses sentrifugasi diperoleh sebagai serum kemudian disimpan pada suhu -20 °C untuk pengujian kadar testosteron dan glukosa darah induk ikan lele.

Koleksi telur dilakukan sebelum (hari ke-90) dan setelah pemijahan (hari ke-91) sebanyak 4 g telur induk. Telur yang telah dikoleksi selanjutnya dilakukan preparasi cairan telur dengan menggerus sampel dan dihomogenkan dalam larutan *phospat buffered saline* (PBS) yang mengandung 0,05% tween-20 (pH 7.2) dengan perbandingan 1:4. Sampel disentrifugasi 5000 rpm selama 5-10 menit. Supernatan yang terbentuk dari proses sentrifugasi diperoleh sebagai cairan telur kemudian disimpan pada suhu -20 °C sampai dengan dilakukan pengamatan.

Analisis tingkat kematangan gonad

Pengamatan tingkat kematangan gonad dilakukan pada akhir pemeliharaan (hari ke-90) dengan mengamati ciri morfologi induk dan diameter telur ikan untuk pengukuran diameter telur ikan. Sampel telur dipilih secara acak satu ekor induk dari setiap perlakuan, masing-masing sebanyak 30 butir/ikan dengan cara pengalinan (*stripping*). Telur yang akan diamati terlebih dahulu diawetkan dengan larutan *buffer neutral formaline* (BNF) 10% selama 24 jam, selanjutnya dimasukkan ke dalam larutan alkohol 70% untuk menambah daya simpan sampel. Telur diamati dibawah

mikroskop stereo Zeiss Stemi DV4 dengan perbesaran 32 kali dan diolah dengan *software* Image-J.

Analisis statistik

Analisis kualitatif dilakukan terhadap data kadar hormon testosteron dan morfologi induk betina yang matang gonad. Analisis kuantitatif dilakukan terhadap data kadar glukosa darah. Data ditabulasi menggunakan program *microsoft office excel* 2010, dianalisis dengan analisis ragam (*analysis of variance*, Anova) melalui program Minitab 18 dengan selang kepercayaan 95%. Jika analisis sidik ragam menunjukkan hasil berbeda nyata, maka dilakukan uji lanjut dengan metode Tukey.

HASIL DAN PEMBAHASAN

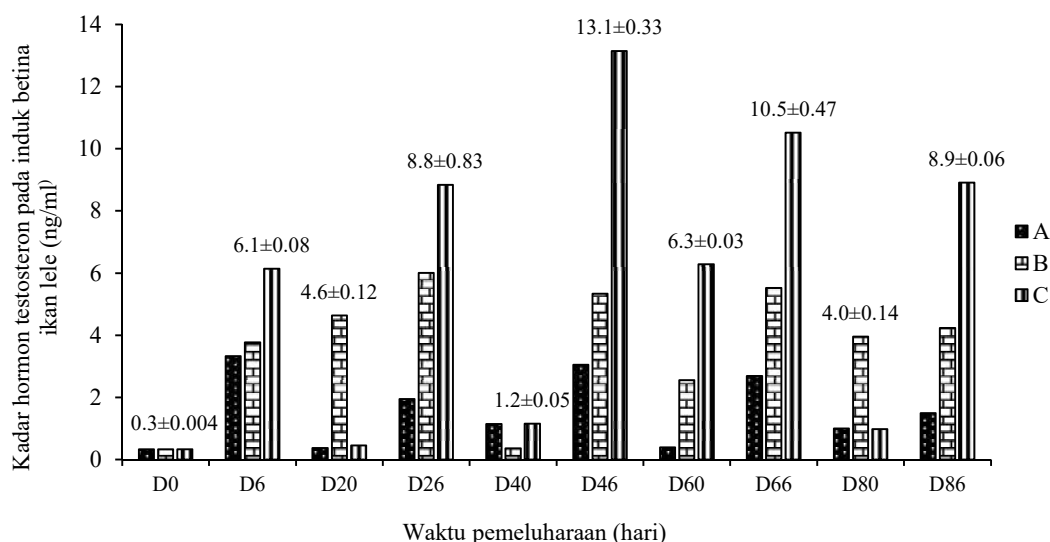
Hormon testosteron pada induk betina ikan lele

Berdasarkan hasil pada Gambar 1, kadar hormon testosteron pada induk betina ikan lele dibagi menjadi dua yaitu pra-injeksi (0, 20, 40, 60, dan 80 hari) dan pasca-injeksi (6, 26, 46, 66, dan 86 hari).

Kadar testosteron induk betina pada hari ke-0 berkisar 0.3 ± 0.04 ng/ml dan selang tiga hari kemudian dilakukan penginjeksian hormon 17α -MT. Dari hal tersebut dapat dilihat bahwa kadar testosteron setelah penginjeksian lebih besar daripada sebelum penginjeksian. Pada hari ke-6, kadar hormon testosteron induk betina setiap perlakuan mengalami kenaikan sesuai dosis hormon 17α -MT yang diberikan. Rahmadiah *et al.* (2019) menjelaskan bahwa pemberian MT dapat meningkatkan kadar testosteron pada ikan lele. Hal ini sejalan dengan penelitian ini bahwa kadar hormon testosteron pada induk betina ikan lele meningkatkan setelah penyun-

tikan. Peningkatan hormon ini menyebabkan peningkatan aktivitas dan

agresivitas larva seperti tingkah laku berenang.



Gambar 1. Kadar hormon testosteron pada induk betina ikan lele saat sebelum dan sesudah penyuntikan MT.

Kadar hormon testosteron pada induk betina ikan lele dalam waktu 14 hari mengalami penurunan kembali (A dan C), hal ini terjadi karena adanya proses degradasi hormon testosteron. Ketika diinjeksi kembali dengan MT, kadar hormon testosteron pada induk betina ikan lele mengalami peningkatan dan mengalami penurunan setelah 46 hari kemudian. Berdasarkan penelitian Nishshanka *et al.* (2015) pada ikan nila, 14 hari setelah perlakuan kadar MT tidak terdeteksi pada darah ikan nila, meskipun sebaliknya pada penelitian Afpriyaningrum *et al.* (2016) ditemukan bahwa kadar MT pada ikan nila mengalami penurunan pada 30 hari setelah perendaman. Hal ini disebabkan karena hormon MT mengalami proses metabolisme dan ekskresi. Penurunan kadar hormon tergantung dari kemurnian kandungan steroid, jenis ikan, organ dan jaringan yang diukur kadar hormonnya. Pada penelitian ini, hormon MT yang digunakan memiliki tingkat kemurnian

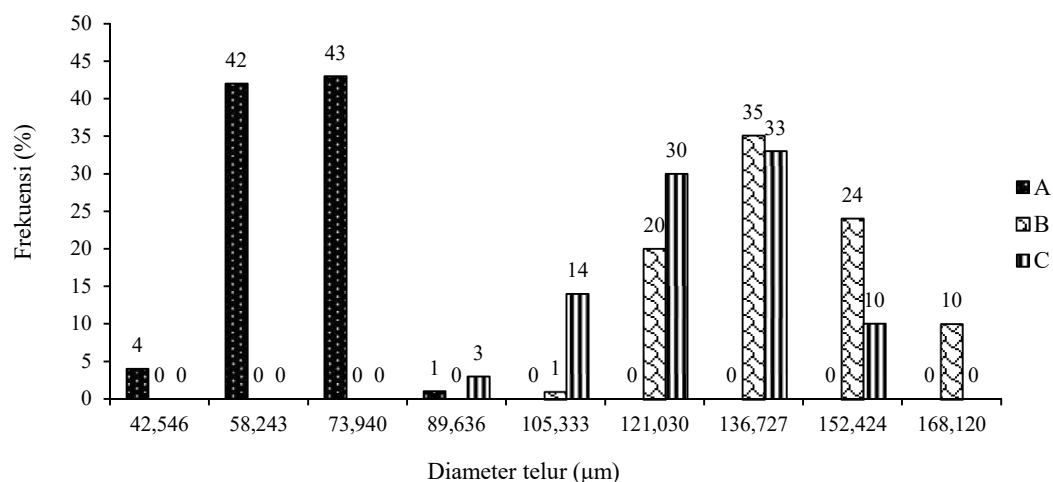
≥ 97% dan jaringan yang diukur kadar hormonnya adalah darah. Selain itu, diduga suhu juga berperan dalam proses degradasi hormon. Pada umur 86 hari, kadar hormon testosteron pada induk betina ikan lele mulai mengalami penurunan hingga mendekati tahap pemijahan. Hal ini mengindikasikan bahwa setelah penyuntikan, kadar hormon testosteron pada induk betina ikan lele secara konsisten lebih tinggi pada perlakuan C dibandingkan dengan perlakuan B dan A.

Kadar hormon testosteron pada telur ikan lele

Berdasarkan hasil analisis statistik pada Gambar 2, perlakuan MT dapat meningkatkan tingkat kematangan gonad (TKG) dan ukuran diameter telur. Kondisi induk betina ikan lele pada penelitian ini berada pada TKG IV dengan ciri-ciri telur berwarna kuning pekat dan diameter telur berkisar 136,7-152,4 µm (B dan C). Sedangkan pada perlakuan A (kontrol) telur berwarna

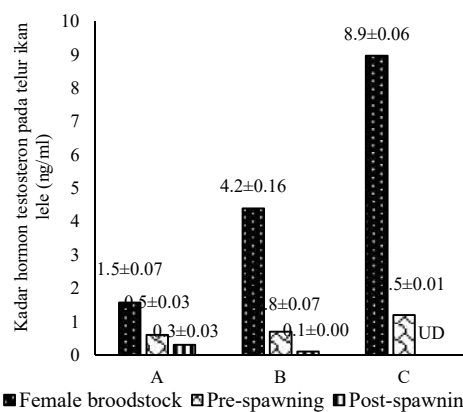
kekuningan dan agak keruh serta diameter telur kecil berkisar 73,9-89,6 μm . Perbedaan ukuran diameter ini juga disebabkan oleh pengaruh pemberian MT (Rivero-Wendt *et al.*, 2014). Hormon MT juga dapat digunakan untuk mempercepat kematangan gonad ikan.

Tingginya kadar testosteron di dalam tubuh kemudian akan mampu menyuplai ketersediaan estradiol-17 β yang nantinya akan digunakan untuk proses vitelogenesis (Sarkar *et al.*, 2014; Reading *et al.*, 2017).



Gambar 2. Distribusi diameter telur ikan lele

Namun demikian, hormon testosteron masih tersisa dan diturunkan ke telur berdasarkan Gambar 3. Perlakuan tanpa penyuntikan MT memiliki kadar hormon testosteron tertinggi pada telur ikan lele *post-spawning* di antara perlakuan lainnya yaitu sebesar $0,3 \pm 0,03$ ng/ml. Hal ini menunjukkan bahwa hormon testosteron sudah terdapat pada telur meskipun dalam jumlah yang sedikit. Pada proses reproduksi, induk mengirimkan hormon, faktor imunitas dan nutrisi kepada telur, namun Bebbington & Groothuis (2021) mengatakan bahwa hal tersebut tergantung pada kemampuan induk dalam merespon sinyal-sinyal tersebut, interaksi, dan memengaruhi satu sama lain baik dalam rentang waktu tingkah laku maupun evolusi.



Gambar 3. Kadar hormon testosteron pada telur ikan lele saat sebelum dan setelah memijah. UD: tidak terdeteksi

KESIMPULAN

Hormon testosteron memengaruhi perilaku agresif yang dapat menyebabkan kanibalisme. Pada penelitian ini injeksi MT dapat meningkatkan kadar hormon

testosteron pada telur ($0,3 \pm 0,03$ ng/ml), namun tanpa penginjeksian pun hormon testosteron sudah ada di dalam telur ikan lele walaupun dalam jumlah yang sedikit.

PUSTAKA

- Afpriyaningrum, M. D., Soelistyowati D. T., Alimuddin, Zairin Jr., M., Setiawati, M., & Hardiantho, D. (2016). Maskulinisasi ikan nila melalui perendaman larva pada suhu 36°C dan kadar residu 17α -metiltestosteron dalam tubuh ikan. *Omni Akuatika*, 12(3): 106-113. <http://dx.doi.org/10.20884/1.oa.2016.12.3.132>
- Bebbington, K., & Groothuis, T. G. G. (2021). Who listens to mother? A whole-family perspective on the evolution of maternal hormone allocation. *Biological Reviews*, 96: 1951-1968. <https://doi.org/10.1111/brv.12733>
- Duk, K., Pajdak, J., Terech-Majewska, E. & Szarek, J. (2017). Intracohort cannibalism and methods for its mitigation in cultured freshwater fish. *Review Fish Biology Fisheries*, 27: 193-208. <http://dx.doi.org/10.1007/s1160-017-9465-2>
- Kang, H. W., Cho, J. K., Son, M. H., Park, J. Y., Hong, C. G., Chung, J. S., & Chung, E. Y. (2015). Gonadal development, spawning and plasma sex steroid levels of the indoor cultured grunt (*Haplochromys nitens*). *Development & Reproduction*, 19(1): 33-41. <https://doi.org/10.12717/DR.2015.19.1.033>
- Król, J., Flisiak, W., Urbanowicz, P., & Ulikowski, D. (2014). Growth, cannibalism and survival relations in larvae of European catfish, *Silurus glanis* (Actinopterygii: Siluriformes: Siluridae) attempts to mitigate sibling cannibalism. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 44(3): 191-199. <http://dx.doi.org/10.3750/AIP2014.44.3.03>
- Nakamura, M. (2013). Morphological and physiological studies on gonadal sex differentiation in teleost fish. *Aqua-Bio Science Monographs*, 6: 1-47. <http://dx.doi.org/10.5047/absm.2013.00601.0001>
- Nishshanka, U., Chu, P. S., Evans, E., Reimschuessel, R., Hasbrouck, N., Amarasinghe, K., & Jayasuriya, H. (2015). Tentative structural assignment of a Glucuronide metabolite of methyltestosterone in tilapia bile by liquid chromatography–quadrupole-time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(24): 5753-5760. <https://doi.org/10.1021/jf506151g>
- Rahmadiyah, T., Zairin Jr., M., Alimuddin, & Diatin, I. (2019). Aggressive and cannibalistic behavior of African catfish larvae: Effect of different doses of methyltestosterone injecting to female broodstock and larval stocking densities. *Indonesian Journal of Aquaculture*, 18(2): 182-192. <https://doi.org/10.19027/jai.18.2.182-192>
- Reading, B.J., Sullivan, C.V., & Schilling, J. (2017). Vitellogenesis in fishes. In Roitberg, B. D. (Ed.). *Reference Module in Life Sciences*. Elsevier. Amsterdam. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.03076-4>

- Rivero-Wendt, C. L. G., Borges, A. C., Oliveira-Filho, E. C., Miranda-Vilela, A. L., Ferreira, M. F. N., & Grisolia, C. K. (2014). Effect of 17 α -methyltestosterone on the reproduction of the freshwater snail *Biomphalaria glabrata*. *Genetics and Molecular Research*, 13(1): 605-615.
<http://dx.doi.org/10.4238/2014>
- Saha, R., Bhat, I. A., Charan, R., Purayil, S. B. P., Krishna, G., Kumar, A. P., & Sharma, R. (2018). Ameliorative effect of chitosan-conjugated 17 α -methyltestosterone on testicular development in *Clarias batrachus*. *Animal Reproduction Science*, 193: 245-254.
<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.04.078>
- Sarkar, S., Bhattacharya, D., Juin, S. K., & Nath, P. (2014) Biological properties of Indian walking fish (*Clarias batrachus*) (L.) gonadotropin in female reproduction. *Fish Physiology Biochemical*, 40(6): 1849-1861.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10695-014-9973-0>
- Vallon, M., Grom, C., Kalb, N., Sprenger, D., Anthes, N., Lindström, K., & Heubel, K. U. (2016). You eat what you are: Personality-dependent filial cannibalism in a fish with paternal care. *Ecology and Evolution*, 6(5): 1340-1352.
<http://dx.doi.org/10.1002/ece3.1966>
- Yang, S., Yang, K., Liu, C., Sun, J., Zhang, F., Zhang, X., & Song, Z. (2015). To what extent is cannibalism genetically controlled in fish? A case study in juvenile hybrid catfish *Silurus meridionalis-asotus* and the progenitors. *Aquaculture*, 437: 208–214.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.12.00>
- Zairin Jr, M., Furukawa, K., & Aida, K. (1992). Changes in ovarian maturity in the tropical walking catfish, *Clarias batrachus* reared under 23-25°C. *Nippon Suisan Gakkaishi* 58: 2033-2037.
<https://doi.org/10.2331/suisan.58.2033>

Kontribusi Penulis: Rahmadiyah, T.: mengumpulkan data, analisis data, menulis manuskrip, Zairin Jr., M., Ali-muddin, Diatin, I.: analisis data, menulis manuskrip.