

Full Paper**FEMINISASI NILA (GIFT), *Oreochromis sp.* MENGGUNAKAN HORMON ESTRADIOL 17- β** **FEMINIZATION OF NILE (GIFT), *Oreochromis sp.* USING ESTRADIOL 17- β** Titin Kurniasih^{*)}, Otong Zenal Arifin^{*)}, dan Marizal^{*)}**Abstract**

Research to find out the effect of oral administration of estradiol 17- β on feminization of *Oreochromis sp.* (GIFT) fry was carried out at Cibalagung Research Station. Five different concentrations of estradiol 17- β i.e.: 60, 80, 100, 120 and 0 mg/kg feed, were given to larvae of 6 days old twice a day for 21 days in triplicates. The result indicated that there was significant difference of average percentage of female between control and treatments. The highest percentage of female was obtained from fish treated with 100 mg estradiol /kg feed (86.6%), whereas the lowest was obtained from fish control (51.7%). The survival rate and length growth were not significantly different. Survival rate of larvae ranged from 94 to 97.7% and the average of length growth ranged from 10.08 to 13.32 mm.

Key words: estradiol 17- β , feminization, GIFT tilapia, larvae**Pengantar**

Nilu merupakan ikan konsumsi yang diprogramkan sebagai salah satu sumber protein hewani bagi masyarakat karena mempunyai beberapa keunggulan, antara lain mudah berkembangbiak, pertumbuhannya cepat, dapat mencapai ukuran yang besar, dan dapat dibudidayakan secara intensif dengan kepadatan tinggi serta digemari oleh masyarakat.

Dalam pertumbuhannya nilu jantan memiliki rata-rata pertumbuhan yang relatif lebih cepat dibanding nilu betina, serta ukuran jantan lebih besar dibanding betina sehingga budidaya populasi tunggal kelamin jantan akan memberikan pertumbuhan lebih baik (Kristianto, 1997). Maskulinisasi ditujukan untuk menghasilkan nilu kelamin jantan dengan menggunakan teknologi secara hormonal melalui pencampuran pada pakan ataupun perendaman telur serta pemanfaatan bahan lokal pengganti hormon sintesis.

Metode pengalihan kelamin (*sex reversal*) secara langsung dengan mengalihkan

kelamin larva betina menjadi jantan (maskulinisasi), dewasa ini telah banyak dilakukan, namun hasilnya masih terbatas karena harga hormon cukup mahal dan ketersediaannya yang terbatas, prosentase keberhasilan tidak terjamin, kebosanan pemakai karena harus terus-menerus memberikan hormon setiap kali larva menetas dan juga adanya kekhawatiran mengaplikasikan hormon secara langsung pada ikan yang akan dikonsumsi manusia (Kurniasih, 2004).

Pengembangan induk nilu yang secara konsisten mampu menghasilkan keturunan 100% jantan (tanpa penggunaan hormon secara langsung pada nilu yang akan dikonsumsi manusia) merupakan langkah maju dalam dunia budidaya ikan. Untuk species *Oreochromis sp* yang individu betinanya bergenotif XX dan individu jantannya bergenotif XY, maka perlu merekayasa agar dihasilkan individu nilu jantan bergenotif YY, yang lebih dikenal dengan istilah YY *Supermale* (jantan super YY), yang apabila dikawinkan dengan betina normal XX, akan menghasilkan keturunan 100% jantan

^{*)} Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar, Bogor, Jl. Sempur No.1 Bogor.

^{*)} Penulis untuk korespondensi, E-mail: titink92@yahoo.com.

(Scott, *et al.*, 1989). Yamamoto (1961) berhasil menghasilkan YY *Supermale* pada *Oreochromis latipes* dengan cara mengawinkan betina fungsional bergenotip jantan (XY) dengan jantan normal XY. Yamamoto (1963) melaporkan bahwa jantan super YY dapat dialihkan kelaminnya menjadi betina fungsional bergenotip YY pada fase larva dengan terapi hormon estrogen.

Menurut Gordon *et al.* (1995), tahap awal untuk mendapatkan nila jantan super YY adalah dengan feminisasi, yaitu pembalikan kelamin nila jantan normal XY menjadi betina fungsional XY pada fase larva menggunakan hormon estrogen. Tahap kedua adalah mengawinkan betina fungsional XY tersebut dengan jantan normal XY sehingga akan menghasilkan keturunan 25% betina XX, 50% jantan XY dan 25% jantan YY.

Rahman, 1997 melaporkan bahwa pemberian salah satu jenis hormon estrogen, yaitu estron, secara oral melalui pakan terhadap larva berumur 10 hari selama 4 minggu telah menghasilkan larva betina 72,2% dengan dosis estron 100 mg/kg pakan. Keberhasilan ini menimbulkan dugaan bahwa estradiol, sebagai salah satu jenis estrogen lainnya, dimungkinkan akan memberikan pengaruh feminisasi positif pada kisaran dosis tersebut, yaitu pada kisaran di bawah dan di atas dosis 100 mg/kg pakan ikan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dosis yang tepat untuk pemberian salah satu hormon estrogen, yaitu estradiol 17- β , terhadap larva nila berumur 6 hari, dengan teknik mencampurkan hormon tersebut pada pakan yang akan dikonsumsi larva nila tersebut.

Bahan dan Metode

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah sebagai berikut:

Ikan uji

Ikan yang digunakan dalam percobaan ini adalah larva nila GIFT berumur 6 hari

dengan panjang 15 mm dan berat 0,05 g. Larva diperoleh dari hasil penetasan telur setelah dilakukan pemijahan induk nila GIFT di Inlitkanwar Cibalagung.

Hormon

Hormon yang dipakai dalam percobaan ini adalah hormon β -estradiol (1,3,10)-Estratriene-3, 17 β -diol). Hormon ini berwarna putih dan berbentuk serbuk halus (powder) diproduksi oleh Sigma Chemical Co, USA. Hormon tersebut lebih dikenal dengan nama estradiol 17- β .

Pakan ikan

Pakan yang diberikan pada larva ikan berupa pelet komersial halus dengan kadar protein 40% yang dicampur hormon estradiol 17- β .

Larutan asetokarmin

Larutan ini digunakan dalam pewarnaan jaringan gonad. Larutan asetokarmin dibuat dengan melarutkan 0,6 g karmin dalam 100 ml asam asetat. Larutan ini dipanaskan selama 2-4 menit kemudian didinginkan dan disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan partikel kasarnya (Guerrero & Shelton, 1974).

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen Rancangan Acak Lengkap (RAL), terdiri dari 4 perlakuan dan 1 kontrol dengan 3 ulangan. Perluakuannya adalah sebagai berikut :

- A : Pakan dengan 60 mg estradiol 17- β per kg pakan
- B : Pakan dengan 80 mg estradiol 17- β per kg pakan
- C : Pakan dengan 100 mg estradiol 17- β per kg pakan.
- D : Pakan dengan 120 mg estradiol 17- β per kg pakan.
- K : Kontrol pemberian pakan pada ikan uji tanpa hormon

Pembuatan hormon dilakukan dengan cara menimbang hormon sesuai dosis (60, 80, 100, 120 dan 0 mg), masing-masing dosis hormon dimasukkan dalam 500 ml ethylalkohol, kemudian campuran larutan pada berbagai dosis tersebut dicampurkan secara homogen pada 1 kg

pakan, diangin-anginkan sampai kering, disimpan dalam wadah tertutup rapat dan ditempatkan yang tidak terkena sinar matahari.

Sebelum digunakan, akuarium berukuran 80x40x30 cm³ sebanyak 15 buah dibersihkan, setelah itu diisi 20 l air. Air akuarium diaerasi dan dimasukkan ikan uji 200 ekor/akuarium. Perlakuan pada ikan uji berupa pemberian hormon melalui pakan dengan dosis 60, 80, 100,120, dan 0 mg/kg pakan dilakukan selama 21 hari dengan frekuensi 2 kali sehari.

Penggantian air dilakukan sehari sekali, dengan menyiphon sebagian air akuarium. Sisa pakan dan kotoran di dasar dan dinding akuarium dibersihkan dengan hati-hati yaitu pada saat sebelum diberi pakan (pagi hari). Akuarium diisi kembali dengan air hingga 20 l. Setelah perlakuan selesai (21 hari), larva dipindahkan ke hapa untuk pembesaran selama 2 bulan.

Uji histologis gonad dilakukan setelah masa pemeliharaan selama 2 bulan berakhir, sebanyak 20 ekor (10%) dari masing-masing ulangan untuk menentukan nisbah kelamin. Pemeriksaan kelamin ini dilakukan dengan cara membedah dan mengambil gonadnya. Gonad yang diambil diletakkan di atas gelas obyek kemudian dicacah dan ditetesi pewarna asetokarmin setelah itu ditutup dengan *cover glass* kemudian diamati dengan mikroskop. Pada gonad betina terlihat sel telur berbentuk bulat dan didalamnya terdapat inti sel berwarna pudar yang dikelilingi sitoplasma berwarna merah. Pada gonad jantan terlihat sel spermatozoa berbentuk titik halus menyebar berwarna merah.

Parameter utama yang diamati dalam percobaan ini adalah persentase ikan berkelamin jantan dan ikan berkelamin betina, kelangsungan hidup larva, pertumbuhan ikan uji, serta kualitas air media percobaan sebagai data pendukung. Suhu air media percobaan diukur setiap hari, sedangkan pH, DO dan CO₂ dilakukan pada awal, pertengahan dan akhir

percobaan. Data dianalisis dengan sidik ragam, dan apabila hasil uji menunjukkan perbedaan antar perlakuan, maka pengujian dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Hasil dan Pembahasan

Hasil pengamatan secara histologis, jumlah individu betina dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Persentase (%) ikan betina hasil pengalihan kelamin dengan pengamatan histologis

Perlakuan	Persentase ikan betina (%)
A	73,3 ± 5,8 ^b
B	73,3 ± 14,4 ^b
C	86,7 ± 10,4 ^c
D	75,0 ± 13,2 ^b
K	51,7 ± 10,4 ^a

Angka yang diikuti huruf superskrip yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($P>0,05$).

Berdasarkan Tabel 1 terlihat bahwa persentase rata-rata jenis kelamin betina tertinggi pada perlakuan C (estradiol 17-β dengan dosis 100 mg/kg pakan) sebesar 86,6%, diikuti perlakuan D (estradiol 120 mg/kg pakan) sebesar 75%. Pada perlakuan A dan B (estradiol 17-β dosis 60 dan 80 mg/kg pakan), persentase rata-rata betina yang dihasilkan bernilai sama yaitu sebesar 73,3 %, sedangkan pada perlakuan K dengan pemberian pakan tanpa hormon diperoleh persentase rata-rata betina terendah sebesar 51,7%.

Hasil analisis ragam pada taraf kepercayaan 95% menunjukkan bahwa pemberian pakan yang dicampur estradiol 17-β memberikan pengaruh yang nyata terhadap persentase ikan betina yang dihasilkan. Hasil uji lanjut Beda Nyata Terkecil (BNT) menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata antara perlakuan pakan berhormon dengan perlakuan K (kontrol). Kontrol berbeda nyata dengan perlakuan A, B, dan D, dan sangat berbeda nyata dengan perlakuan C.

Sedangkan antar perlakuan A, B, dan D berbeda nyata dengan perlakuan C.

Dosis yang digunakan dalam penelitian ini sangat berpengaruh terhadap keberhasilan proses pengalihan kelamin. Menurut Yamamoto (1969), dosis yang tepat sangat berpengaruh pada tingkat keberhasilan pengalihan kelamin, demikian juga dengan jenis steroid. Dosis yang diberikan dalam penelitian ini secara statistik berpengaruh nyata terhadap tingkat keberhasilan pengalihan kelamin ke arah betina. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian hormon telah berhasil merubah kelamin menjadi betina secara signifikan. Semakin tinggi dosis yang diberikan, persentase kelamin ikan yang diharapkan akan meningkat, namun bila dosis yang diberikan terlalu tinggi maka proporsi ikan mandul akan tinggi. Hal ini sesuai dengan Eickstein & Spira (1965) yang berpendapat bahwa pada dosis estrogen yang ekstrem, efek penghambatan gonadogenesis semakin kuat, sehingga menghasilkan kasus kemandulan total dan mortalitas yang tinggi.

Rata-rata persentase ikan berkelamin betina hasil perlakuan hormon lebih tinggi dibandingkan dengan ikan berkelamin betina pada kontrol. Namun demikian nilai rata-rata ikan betina masih lebih besar dibandingkan jantan pada kontrol (51,7:48,3), yang diduga disebabkan faktor penentu kelamin betina lebih dominan dari faktor penentu kelamin jantan. Keadaan ini menurut Yamamoto (1969) kemungkinan disebabkan sifat genetik penentu jenis kelamin yang tidak seimbang yaitu antara faktor penentu gen jantan dan gen betina. Perbandingan kelamin alamiah antara jantan dan betina tidak selalu sama (tidak selalu menunjukkan perbandingan 1:1 (Zairin, 2002).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian hormon pada percobaan ini telah dilakukan pada saat yang tepat yaitu sebelum periode diferensiasi kelamin berakhir dan dilakukan selama kurun waktu yang cukup. Carlon & Erickson *cit.* Hunter & Donaldson (1983) menyatakan

perubahan jenis kelamin dapat dilakukan sebelum pembentukan gonad terjadi, dan perubahan gonad tersebut dapat diarahkan dengan menggunakan hormon steroid.

Pandian & Sheela (1995) menyatakan bahwa secara genetis jenis kelamin suatu individu ikan sudah ditetapkan pada saat pembuahan, tetapi pada masa embrio, menjelang terjadinya proses diferensiasi, jaringan bakal gonad masih berada dalam masa *indifferent* serta proses penentuan kearah jantan atau betina masih sangat labil, sehingga dapat diarahkan menjadi gonad jantan atau betina secara fungsional melalui rangsangan dari luar.

Eickstein & Spira *cit.* Jensen & Shelton (1979) melaporkan bahwa masa perkembangan gonad pada nila dimulai ketika telur menetas sampai larva memiliki panjang 18-22 mm atau berumur 49 hari. Sedangkan menurut Nakamura (1984), *Oreochromis mosambicus* fase awal labil kelaminnya pada 8-10 hari setelah menetas dan pada *Tilapia zilli* fase awal labil kelaminnya pada 10-15 hari setelah menetas.

Pemberian hormon pada larva melalui pakan (secara oral) tidak berpengaruh terhadap kelangsungan hidup ikan selama penelitian (Tabel 2). Kelangsungan hidup (SR) rata-rata setelah perlakuan pada dosis 60, 80, 100, dan 120 mg/kg pakan serta kontrol berturut-turut sebesar 96,7; 97,7; 94; dan 96,5 serta 96%. Analisis ragam kelangsungan hidup pada taraf kepercayaan 95% menunjukkan nilai yang tidak berbeda nyata antara perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa hormon yang diberikan secara oral melalui pakan tidak memberikan pengaruh yang negatif terhadap kelangsungan hidup nila.

Tabel 2. Kelangsungan hidup (%) benih nila GIFT selama proses pengalihan kelamin (21 hari)

Perlakuan	Kelangsungan hidup (%)
A	96,7 ± 2,5 ^a
B	97,7 ± 2,5 ^a
C	94 ± 5,3 ^a
D	96,5 ± 2,7 ^a
K	96 ± 3,6 ^a

Angka yang diikuti huruf superskrip yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata ($P>0,05$).

Pertambahan panjang tubuh pada setiap perlakuan dan kontrol, didapatkan nilai yang berbeda. Perlakuan 60, 80, 100, dan 120 mg/kg pakan dan kontrol didapatkan pertumbuhan rata-rata secara berturut-turut sebesar 13,32; 13,27; 12,56; 10,22; dan 10,08 mm. Hasil analisis ragam menyatakan bahwa pemberian estradiol 17- β tidak memberikan pengaruh nyata terhadap pertambahan panjang tubuh ($P>0,05$) (Tabel 3).

Tabel 3. Pertambahan panjang mutlak tubuh nila (mm) selama 21 hari perlakuan

Perlakuan	Pertambahan panjang mutlak (mm)
A	13,32 ± 1,87 ^a
B	13,27 ± 2,29 ^a
C	12,56 ± 1,14 ^a
D	10,22 ± 1,07 ^a
K	10,08 ± 1,14 ^a

Angka yang diikuti huruf superskrip yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata ($P>0,05$).

Kualitas air media pemeliharaan selama penelitian berlangsung berada dalam kisaran optimal yang dapat mendukung kehidupan larva (Tabel 4).

Tabel 4. Kualitas air media pemeliharaan nila GIFT (*Oreochromis sp*) selama perlakuan

Parameter	Kisaran Nilai
Suhu ($^{\circ}$ C)	25 - 28
pH	7,1 - 7,3
DO (mg/l)	6,2-7,5
CO ₂ (mg/l)	3,2-3,9
Alkalinitas/ CaCO ₃ (mg/l)	22,2 - 40,2
Kalsium (Ca) (mg/l)	14,0 - 16,5

Pada percobaan ini, suhu air berkisar antara 24,5-28 $^{\circ}$ C. Suhu air tersebut mendukung proses pengubahan jenis kelamin secara tidak langsung. Pada kisaran tersebut nafsu makan ikan cukup tinggi sehingga jumlah pakan berhormon yang dimakan cukup tinggi. Hal ini sesuai dengan penelitian Caulton (1982) bahwa jumlah pakan yang dimakan anak nila terus meningkat dengan peningkatan suhu dari 18-30 $^{\circ}$ C. Semakin banyak pakan yang dikonsumsi akan semakin banyak pula akumulasi hormon yang masuk ke dalam saluran pencernaan ikan sehingga pengubahan jenis kelamin dapat berjalan dengan sempurna.

Kesimpulan

1. Teknik pengalihan kelamin (*sex reversal*) ke arah pembentukan kelamin betina berhasil dilakukan dengan menggunakan hormon estradiol 17- β .
2. Persentase rata-rata betina tertinggi diperoleh dari perlakuan pemberian hormon 100 mg/kg pakan sebesar 86,6%, sementara itu rata-rata terendah terdapat pada perlakuan kontrol sebesar 51,7%. Pemberian hormon melalui pakan tidak berpengaruh negatif terhadap kelangsungan hidup dan pertumbuhan nila.

Saran

Penelitian lanjutan masih diperlukan agar dapat menghasilkan 100% betina dengan pemberian dosis antara 60-120 mg/kg pakan. Selain itu perlu mengaplikasikan teknologi analisis kromosom, yang mampu mendeteksi keberadaan betina fungsional XY, XY, atau XX normal.

Daftar Pustaka

- Caulton, M.S. 1982. Feeding metabolism and growth of tilapias: some quantitative considerations. *In: The biology and culture of tilapias*. R.S.V. Pullin and R.H. Lowe Mc. Connell (Eds.). ICLARM Conference Proceedings 7. International Center for Living Aquatic Resources Management. Manila. Philippines: 157-180.
- Eckstein, B. and M. Spira. 1965. Effect of sex hormones on the gonadal differentiation in a cichlid, *Tilapia aurea*. *Biol. Bull. Mar. Biol. Lab Woods Hole*. 129: 482-489.
- Gordon, D.M., Maskur, and H. Sofi. 1995. Genetic improvement of red *Tilapia* assessing the potential for proceedings YY males. CUSO Cooperant Project. Balai Budidaya Air Tawar. Direktorat Jendral Perikanan. Departemen Pertanian Indonesia. 15 p.
- Guerrero, R.D. and W.L. Shelton. 1974. An aceto-carmin squash method for sexing juvenile fishes. *The Progressive Fish Culturist*. 42 (4): 36-56.
- Hunter, G.A. and E.M. Donaldson. 1983. Hormonal sex control and its application to fish culture. *In: Fish physiology*. Vol IX-B. W.S. Hoar, D.J. Randal, and E.M. Donaldson (Eds.). Academic Press. New York: 223-303.
- Jangkaru, Z., M. Sulhi, dan Sidi Asih. 1988. Pembesaran ikan nila jantan yang dipelihara secara tunggal kelamin dan campuran dalam kolam tanah. *Buletin Penelitian Perikanan Darat*. VII (1): 53-58.
- Jensen, G.L. and W.L. Shelton. 1979. Effects of estrogens on *Tilapia aurea*: implications for production of mono-sex genetic male tilapia. *Aquaculture*. 16: 233-242.
- Kristianto. 1997. Pengaruh lama pemberian hormon estron secara oral terhadap diferensiasi kelamin ikan nila merah (*Oreochromis sp*). Skripsi. Fakultas Perikanan. Institut Pertanian Bogor. 34 p.
- Kurniasih, T. 2004. Produksi ikan nila jantan homogamet (YY supermale) untuk meningkatkan produksi nila. *Warta Penelitian Perikanan Indonesia Edisi Akuakultur*. 10 (3): 20-23.
- Nakamura, M. 1984. Effect of estradiol 17 β on gonad sex differentiation in two species of salmonids, the masu salmon, *Onchorhyncus masou* and the chum salmon, *Onchorhyncus keta*. *Aquaculture*. 43: 83-90.
- Pandian, T.J. and S.G. Sheela. 1995. Hormonal induction sex reversal in fish. *Aquaculture*. 138: 1-22.
- Rahman, L.O.A. 1997. Pengaruh pemberian pakan berhormon estron dengan dosis berbeda terhadap nisbah kelamin ikan nila merah (*Oreochromis sp*). Skripsi. Program Studi Budidaya Perairan. Fakultas Perikanan. Institut Pertanian Bogor. 28 p.
- Scott, A.G., D.J. Penman, J.A. Beardmore, and D.O.F. Skibinski. 1989. The 'YY' supermale in *Oreochromis niloticus* (L.) and its potential. *Aquaculture*. 78: 237-251.
- Yamamoto, T. 1961. Progenies of induced sex-reversal females mated with induced sex-reversal males in the medaka, *Oryzias latipes*. *J. Exp. Zool*. 146: 163-179.
- Yamamoto, T. 1963. Induction of reversal in sex differentiation of YY zygotes in the medaka, *Oryzias latipes*. *Genetics*. 50: 45-58.

Yamamoto, T. 1969. Sex differentiation.
In: Fish physiology III. W.S. Hoar, D.J.
Randal, and E.M. Donaldson.
Academic Press. New York. 485 p.

Zairin, M. 2002. Sex reversal memproduksi benih ikan jantan atau betina.
Penebar Swadaya. Jakarta.