

PENGARUH HORMON HIPOFISA DAN OVAPRIM TERHADAP OVULASI KATAK SERTA PERBEDAAN PAKAN TERHADAP PERTUMBUHAN BERUDU KATAK *Fejervarya cancrivora*

Ardyah Ramdhina Irsanti Putri¹⁾, Nia Kurniawan¹⁾, Agung Pramana Warih Marhendra¹⁾

¹⁾ Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang

ir.dhien@gmail.com, wawanunibraw@yahoo.com,

ABSTRAK

Katak *Fejervarya cancrivora* merupakan kelompok dari kelas amfibi yang habitatnya sangat dipengaruhi oleh perubahan kondisi habitat dan aktivitas manusia. Salah satu upaya untuk mempertahankan keanekaragaman hayati yaitu memanfaatkan teknologi reproduksi buatan dengan melakukan induksi pematangan gonad menggunakan hormon hipofisa dan ovaprim. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian hormon hipofisa dan ovaprim terhadap pematangan gonad dan keberhasilan fertilisasi pada katak *Fejervarya cancrivora*, serta mengetahui pengaruh perbedaan pemberian pakan pada pertumbuhan berudu katak *Fejervarya cancrivora*. Injeksi dilakukan pada katak betina yang hampir matang gonad dengan total dosis injeksi 250 µl secara intraperitoneal. Setelah dipijahkan dan difertilisasi, telur dipelihara sampai menetas dan diberikan dua perlakuan pakan, yaitu pakan bayam rebus (P1) serta pakan bayam rebus dan kuning telur rebus (P2). Hasil penelitian menunjukkan pada perlakuan injeksi hipofisa dihasilkan telur 632 butir sel telur dan berhasil menetas 65,67% dan perlakuan injeksi ovaprim sebanyak 108 butir sel telur dan dapat menetas 75,92%. Hasil perlakuan P1 dan P2 pada kedua jenis injeksi tidak terdapat perbedaan panjang ($p > 0,05$) namun terdapat perbedaan berat ($p < 0,05$) pada perlakuan selama masa metamorfosis. Persentase jumlah berudu yang berhasil bermetamorfosis sempurna pada perlakuan injeksi hipofisa sebanyak 41,12%, sedangkan pada perlakuan injeksi ovaprim sebanyak 31,67%.

Kata kunci : *Fejervarya cancrivora*, hipofisa, ovaprim, pakan, pertumbuhan

ABSTRACT

Fejervarya cancrivora is an amphibian which its habitat is strongly influenced by the conditions of the habitat and human activities. One of the efforts to maintain the biodiversity is using artificial reproduction technologies by pituitary hormones and ovaprim injection to induce gonadal maturation. The purpose of this study was to determine the effect of pituitary hormones (Hip) and ovaprim (Ova) on gonadal maturation and fertilization success in *Fejervarya cancrivora*, and to understand the effect of different feeding on the growth of tadpoles. Injections were performed on early mature gonads female frogs with a total dose of 250 µl, using intraperitoneal injection. After spawned and fertilized, the eggs reared until hatched and given with two different feed treatments such as, feed boiled spinach (P1) and boiled spinach with boiled egg yolk (P2). Results showed the treatment pituitary can lying 632 eggs cells (100%) and only 65.67% hatched, treatment ovaprim lying 108 egg cells (100%) and only 75.92% of eggs can hatched. The results of P1 and P2 treatment of pituitary and ovaprim injection that there were no length difference ($p > 0.05$) but it has weight difference ($p < 0.05$) during its metamorphosis. Percentage of tadpoles that successfully metamorphosed by pituitary treatment is 41.12% and ovaprim treatment is 31.67%.

Key words: *Fejervarya cancrivora*, feed, growth, pituitary, ovaprim

PENDAHULUAN

Fejervarya cancrivora Gravenhorst 1829, merupakan kelompok dari kelas amfibi yang habitatnya sangat dipengaruhi oleh perubahan kondisi habitat dan aktivitas manusia. Aplikasi teknologi reproduksi buatan dalam penelitian ini untuk menginduksi pematangan gonad dengan injeksi hormon hipofisa dan

hormon dari ovaprim untuk mempercepat waktu ovulasi sehingga dapat segera dipijahkan. Sel telur yang telah difertilisasi akan menetas dan mengalami pertumbuhan dan perkembangan, keduanya sangat dipengaruhi dari jenis pakan yang diberikan. Umumnya berudu adalah herbivora^[6], penelitian ini menggunakan dua jenis variasi, yaitu antara pakan bayam rebus dan pakan bayam dengan tambahan kuning telur.

Pertumbuhan dan perkembangannya diamati sampai metamorfosis sempurna. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian hormon hipofisa dan ovaprim terhadap pematangan gonad dan keberhasilan fertilisasi pada katak *Fejervarya cancrivora*, serta mengetahui pengaruh perbedaan pemberian pakan pada pertumbuhan berudu katak *Fejervarya cancrivora*. Harapan kedepan dalam penelitian ini adalah memberikan informasi mengenai efek pemberian hormon terhadap kematangan gonad katak serta pengaruh pemberian pakan terhadap selama masa pertumbuhan berudu katak *Fejervarya cancrivora*.

METODE PENELITIAN

Injeksi hormon hipofisa dan ovaprim.

Teknologi reproduksi buatan dengan injeksi hormon menggunakan lima ekor katak *Fejervarya cancrivora* betina yang diperoleh dari area persawahan di Kecamatan Blimbing, Kota Malang digunakan dalam penelitian. Tiga ekor untuk diinjeksi hormon hipofisa dan dua ekor untuk injeksi ovaprim. Kelenjar hipofisa diperoleh dari hipofisa katak *Fejervarya* sp. dan ovaprim merk Syndel diperoleh dari unit penyedia komersil. Digunakan satu buah hipofisa per ekor katak betina dengan penambahan *Phospat buffer saline* (PBS) sebagai pelarut, sedangkan dosis injeksi ovaprim sebesar 1 ml/kg dengan penambahan NaCl Fisiologis 0,9% sebagai pelarut. Injeksi dilakukan secara intraperitoneal dengan total dosis masing-masing hormon sebesar 250µl per ekor.

Fertilisasi *in vitro*

Fertilisasi dilakukan sesaat setelah katak betina dapat dipijahkan dan ditambahkan larutan sperma. Pemijahan dilakukan 14 sampai 16 jam setelah injeksi, dengan cara melakukan *stripping* di bagian dorsal menuju kloaka, sedangkan sperma diperoleh dari sepasang testis katak *Fejervarya cancrivora* jantan untuk masing-masing katak betina yang dapat dipijah. Hasil koleksi testis diletakkan dalam cawan petri dan ditambahkan NaCl Fisiologis 0,9% dan dipotong-potong dengan gunting bedah, kemudian dilakukan konfirmasi kualitas sperma meliputi motilitas, konsentrasi sperma, dan viabilitas. Fertilisasi dilakukan dalam bak plastik steril, sepuluh menit setelah fertilisasi, bak dialiri dengan *dechlorinated water* untuk pemeliharaan embrio hingga menetas.

Pemberian pakan dan pemeliharaan

Berudu dipelihara dalam bak plastik dengan kedalaman air 15 cm dan dikuras tiap tiga hari sekali. Air yang digunakan merupakan air yang bebas kandungan kaporit (*dechlorinated water*) dengan cara menambahkan 4 gram sodium thiosulfat ke dalam 100 liter air tap. Berudu pada fase *feeding tadpole* diberikan dua jenis perlakuan pakan, pertama pakan bayam rebus setiap hari (P1), kedua pakan bayam rebus setiap hari kecuali dan kuning telur rebus tiap tiga hari sekali (P2). Setelah kaki depan dan belakang sudah tampak, pemeliharaan dilakukan dalam bak pada kemiringan 10° sehingga terdapat daerah yang tergenang air dan daerah yang kering serta diberikan tempat pijakan^[5] serta diberi *Salvinia* sp. atau tanaman yang tumbuh di perairan sawah. Pengamatan dilakukan pada setiap fase secara bertahap sampai perkembangan katak sempurna dan didokumentasikan menggunakan kamera digital.

Analisa data

Parameter untuk mengetahui tingkat keberhasilan reproduksi katak mencakup persentase jumlah sel telur yang dapat dipijahkan, persentase sel telur yang berhasil terfertilisasi, persentase jumlah sel telur yang *hatching* (menetas), persentase jumlah *tadpole* yang bertahan hidup sampai terjadi metamorfosis menjadi katak sempurna pada masing-masing perlakuan pakan. Selain itu diamati pertumbuhan berdasarkan panjang dan berat berudu pada masing-masing perlakuan. Data dianalisis dengan menggunakan *software Microsoft Excel* dan *software SPSS 16.0 for windows* dengan *independent t-test*.

.HASIL DAN PEMBAHASAN

Efek injeksi hormon hipofisa dan ovaprim

Peran hormon hipofisa dalam injeksi khususnya terletak pada kandungan LH untuk induksi ovulasi, sebab kondisi fisiologis sel telur katak telah melalui tahapan pematangan sel folikel oleh FSH sehingga upaya pemberian injeksi hipofisa dalam penelitian ini meningkatkan jumlah LH yang menyebabkan sintesis progesteron yang berada di sel-sel folikel yang mengelilingi oosit, sehingga progesteron dapat berikatan pada reseptor oosit untuk menginduksi terjadinya ovulasi^[8]. Kelebihan penggunaan ovaprim yaitu terdapat kandungan anti-dopamin yang berfungsi untuk menghambat sintesis dopamin, sehingga sekresi gonadotropin

tidak terhambat. Sekresi gonadotropin yang terhambat akan berimbas pada berkurangnya hormon LH dan FSH di dalam tubuh sehingga proses pematangan gonad akan ikut menurun dan terhenti^[1]. Setelah injeksi, efek pemberian hormon hipofisa diketahui secara morfologi pada bagian abdomen menjadi lebih gelap dalam waktu dua jam. Hasil dari tiga ekor katak betina yang telah diinjeksi hipofisa, hanya satu ekor katak betina yang dapat dipijahkan, sedangkan dua ekor yang lain tidak bertelur. Hasil injeksi ovaprim, dua ekor katak betina, satu ekor mati dan satu ekor berhasil dipijahkan. Jumlah sel telur yang dihasilkan pada injeksi ovaprim lebih sedikit bila dibandingkan dengan hasil injeksi hipofisa. Hal ini dimungkinkan dapat terjadi sebab lokasi target dari injeksi ovaprim adalah untuk menginduksi kelenjar pituitari, sedangkan injeksi hipofisa untuk menstimulasi reseptor di sel telur, sehingga untuk mencapai sel target pada injeksi ovaprim membutuhkan waktu yang lebih lama dan kompleks.

Hasil fertilisasi dan pertumbuhan embrio

Hasil pengamatan motilitas sperma katak berdasarkan kriteria penilaian gerak massa termasuk dalam kategori sangat baik (Susilawati, 2011), yaitu geraknya sangat cepat dan menyeluruh di semua bidang pandang bila dibandingkan dengan individu yang tidak bergerak atau mati. Sedangkan pada motilitas individu, beberapa terlihat bergerak memutar, gerakan maju dan beberapa tidak bergerak atau mati. Gerakan maju yang kuat pada spermatozoa merupakan indeks daya hidup yang penting bagi spermatozoa. Jumlah konsentrasi sperma hasil pengamatan sebanyak $2,3 \times 10^6$. Uji viabilitas menunjukkan tingkat hidup sperma yang lebih tinggi dibandingkan jumlah yang mati sebab setelah penambahan eosin negrosin tidak ada zat pewarna yang menembus membran spermatozoa.

Fase pembelahan sel telur katak berlangsung selama tiga setengah jam setelah terfertilisasi. Tahapan pembelahan sel telur dimulai sesaat setelah sperma membuahi sel telur, sel telur akan terbungkus oleh dua layer yang disebut zona pelusida dan membran vitelin. Pembelahan pertama disebut *cleavage*, 64 sel hingga 128 sel disebut blastula, kemudian dilanjutkan dengan tahap gastrulasi yang merupakan pembentukan tiga lapisan yaitu ektoderm, mesoderm, dan endoderm sebagai fase awal terjadinya diferensiasi sel.

Telur akan menetas 30-35 jam setelah fertilisasi, berdasarkan jumlah perhitungan larva

yang menetas, perlakuan injeksi hipofisa sebanyak 414 ekor dan perlakuan injeksi ovaprim sebanyak 82 ekor. Kurang lebih 60 jam setelah fertilisasi, selanjutnya diikuti oleh perkembangan tutup insang yang disebut *operculum* akan terbentuk sempurna setelah 96 jam (empat hari) setelah fertilisasi^[10]. Pertumbuhan telur katak menjadi katak muda terbagi menjadi tiga fase utama, yaitu fase perkembangan sel telur, fase larva, dan fase metamorfosis berudu katak.

Awal metamorfosis berudu katak nampak oleh munculnya kaki belakang (*hind limb*) pada minggu kedua yaitu antara hari ke 14 sampai hari ke 16. Hasil Hip-P1 dan Hip-P2 menunjukkan perbandingan persentase sebesar 19,69% dan 19,22% dengan jumlah individu Hip-P1 sebanyak 171 ekor dan Hip-P2 sebanyak 162 ekor. Perkembangan selanjutnya sampai tahap munculnya kaki depan (*fore limb*) perbandingan persentase P1 sebesar 17,04% dan P2 sebesar 16% dengan jumlah individu Hip-P1 sebanyak 120 dan individu Hip-P2 sebanyak 100 ekor. Fase berudu (*feeding tadpole*) menunjukkan persentase berudu katak sebanyak 37,96% pada masing-masing perlakuan Ova-P1 dan Ova-P2. Fase pertumbuhan kaki belakang (*hind limb*) pada perlakuan Ova-P1 sebanyak 26,7% berudu katak dan Ova-P2 sebanyak 23,9% berudu katak. Memasuki fase pertumbuhan kaki depan (*fore limb*) sebanyak 24,25% berudu katak pada perlakuan Ova-P1 dan 19,33% berudu katak pada perlakuan Ova-P2 (Tabel 1).

Tabel 1. Persentase kemampuan perkembangan berudu *Fejervarya cancrivora* perlakuan hipofisa dan ovaprim

Perlakuan injeksi	Parameter					
	Telur (%)	Menetas (%)	Berudu (%)	Hind limb (%)	Fore limb (%)	Katak (%)
Hipofisa	632 (100)	414 (65,67)	207 (32,835)*	171 (19,69) *	120 (17,04) *	105 (16,26)*
			207 (32,835)*	162 (19,2) *	100 (16)**	89 (15,43)**
			41 (37,96)*	35 (26,7)*	28 (24,25) *	23 (22,49)*
Ovaprim	108 (100)	82 (75,92)	41 (37,96)**	27 (23,9)*	14 (19,3)*	12 (18,6)**

* = P1, ** = P2

Pertumbuhan berudu

Berdasarkan hasil penelitian, Hip-P2 dan Ova-P2 selesai bermetamorfosis pada hari ke 44, sedangkan perlakuan Hip-P1 dan Ova-P1 baru berakhir pada hari ke 46. Pengaruh pakan pada perlakuan injeksi hipofisa P1 dan P2 diketahui

terjadi perbedaan berat harian yang signifikan pada hari ke 22, 26, dan hari ke 28. Rata-rata setelah hari ke 14, terjadi peningkatan penambahan berat Hip-P2 bila dibandingkan dengan perlakuan Hip-P1. Sedangkan pada pertumbuhan panjang, perlakuan Hip-P2 dan cenderung lebih panjang pada hari ke 18, 26, 28, dan puncak panjang maksimal pada hari ke 32. Namun setelah hari ke 32, panjang rata-rata berudu Hip-P2 menurun lebih cepat dibandingkan perlakuan Hip-P1 (Gambar 1). Hasil uji statistik dari kedua perlakuan P1 dan P2 pada injeksi hipofisa tidak terdapat perbedaan panjang yang signifikan selama masa metamorfosis yaitu sebesar 0,36 ($p>0,05$). Namun berat pada perlakuan P1 dan P2 pada injeksi hipofisa sampai metamorfosis berakhir terdapat perbedaan yang signifikan yaitu sebesar 0,03 ($p<0,05$).

Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan pada berudu antara lain kondisi air, jumlah asupan pakan, dan tingkat kerapatan individu dalam wadah

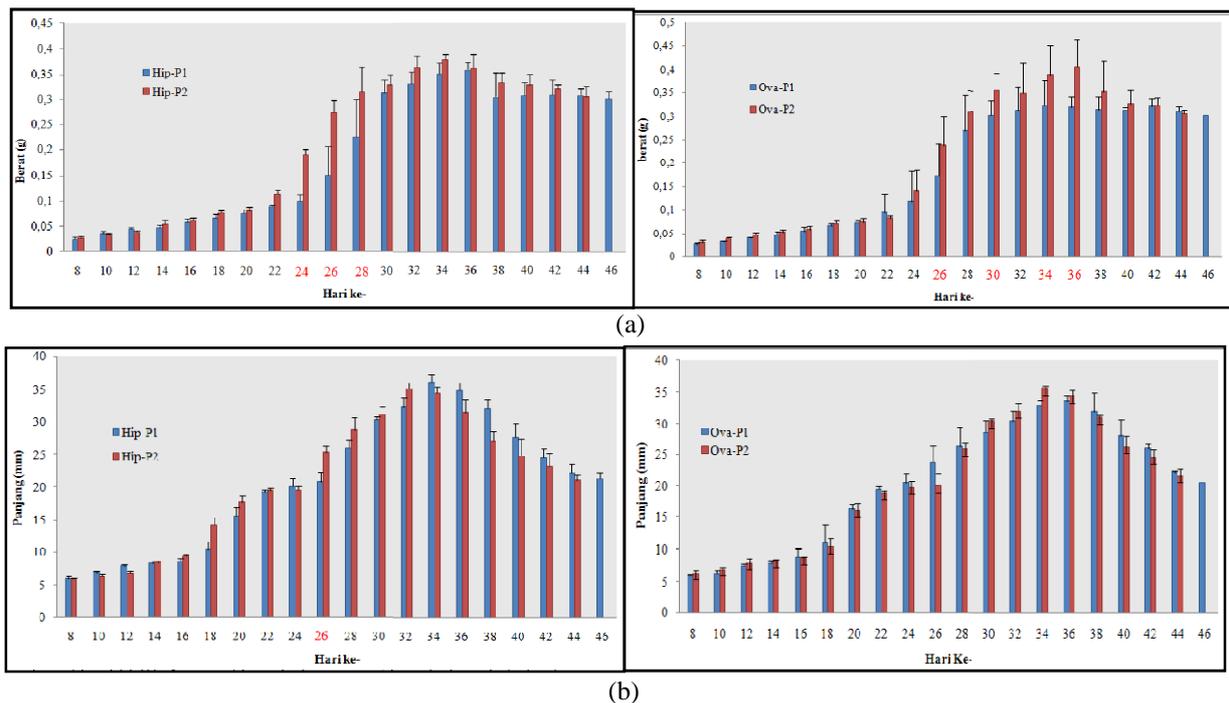
setelah menyelesaikan fase metamorfosis ditemukan kandungan kalsium oksalat yang cukup tinggi dalam ginjal katak tersebut^[7].

Tabel 2. Perbandingan kandungan gizi pada kedua jenis pakan

No.	Kandungan gizi	Jenis Pakan	
		Bayam rebus Dalam 100 gram	Sebutir kuning telur rebus
1	Kalori	36 kal	55 kal
2	Karbohidrat	6,5 gram	0,61 gram
3	Lemak	0,5 gram	4,49 gram
4	Protein;		
	Nabati	3,5 gram	-
5	Hewani	-	2,69 gram
	Makromineral;		
6	Kalsium	265 mg	2%
	Fosfor	67 mg	-
	Zat besi	3,9 mg	3%
	Vitamin;		
6	A	60 mg	-
	B	0,08 mg	-
	C	80 mg	-

Sumber: Depkes Direktorat Gizi Depkes RI

Protein, lemak, dan karbohidrat merupakan sumber yang paling penting untuk



Gambar 1. Perubahan (a) berat dan (b) panjang berudu *Fejervarya cancrivora* selama masa pertumbuhan pada dua jenis injeksi dan perlakuan pakan

pemeliharaan^[4]. Pemberian pakan konvensional dapat menyebabkan kondisi lingkungan air kotor dan mudah terkontaminasi, hal ini dapat memengaruhi tingkat *survival rate* selama masa pertumbuhan. Bayam rebus menyebabkan air menjadi mudah keruh dan nutrisi yang dikandung bayam rebus tidak dapat memenuhi kebutuhan selama fase metamorfosis, selain itu

pembentukan energi atau ATP yang digunakan dalam aktivitas metabolisme di dalam tubuh berudu. Khususnya protein yang merupakan kunci untuk menstimulasi terjadinya metamorfosis^[2]. Pemberian pakan tambahan bisa menjadi salah satu solusi untuk memperkaya nutrisi yang dibutuhkan berudu selama masa metamorfosis^[3]. Jumlah berudu yang bertahan

hidup pada perlakuan pakan bayam rebus (P1) lebih tinggi bila dibandingkan dengan perlakuan pakan bayam rebus dengan penambahan kuning telur rebus (P2). Penambahan kuning telur sangat dibutuhkan untuk memberikan variasi sumber nutrisi yang tidak hanya berasal dari tumbuhan saja, sebab nutrisi yang kompleks yang diperoleh dari pemberian dua jenis pakan mampu memberikan masa metamorfosis yang cenderung lebih cepat, sebab nutrisi yang dikandung bayam rebus belum memenuhi kebutuhan selama fase metamorfosis^[7].

Penambahan berat pada berudu merupakan akibat dari konsumsi pakan dengan kandungan lipid sehingga terjadi penimbunan lemak di dalam tubuh. Asam lemak esensial, menyediakan prekursor yang diperlukan untuk regulasi metabolisme lokal di banyak jaringan pada berudu, untuk mengatur metabolisme lipid seluler, yaitu kerja enzim lipase. Jumlah dan jenis lipid yang dikonsumsi dapat menyebabkan efek yang berbeda pada tubuh berudu pada berudu, misalnya kegemukan^[2]. Pemberian pakan dihentikan saat kaki depan tumbuh, yaitu antara hari ke 34 sampai ekor memendek kurang lebih seperempat bagian, sebab pada kondisi berudu mengalami pemendekan ekor, berudu tidak mengkonsumsi apapun. Nutrisi yang diperoleh berudu pada kondisi ini berasal dari protein dan lipid pada ekor yang memendek di dalam tubuh berudu. Setelah ekor memendek kira-kira tigaperempat bagian katak diberikan pakan lagi hingga menjadi katak sempurna untuk pertumbuhan dan perkembangan lebih lanjut.

KESIMPULAN

Hormon hipofisa maupun ovaprim mempengaruhi kecepatan pematangan gonad, diketahui dari jumlah sel telur yang berhasil dipijahkan dan kualitas sel telur diketahui dari jumlah sel telur yang berhasil menetas. Jumlah telur yang dapat dipijahkan serta yang berhasil menetas pada injeksi hipofisa lebih banyak daripada hasil injeksi ovaprim. Selain itu Pemberian pakan bayam rebus dan kuning telur rebus selama pemeliharaan mempengaruhi berat secara signifikan dan mempercepat masa metamorfosis

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Bapak Mulyadi dan seluruh anggota laboratorium serta teman-teman yang mendukung penuh untuk keberhasilan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Browne, R.K. 2009(a). Amphibian Hormone Cycle. Amphibian Ark Research Officer, Royal Zoological Society of Antwerp, Belgium.
- [2] Browne, R.K. 2009(b). Amphibian Diet and Nutrition. Amphibian Ark Research Officer, Royal Zoological Society of Antwerp, Belgium.
- [3] Carmona O. C., Miguel A., Olvera N., Miguel R., Alejandro F.N. 1995. Estimation of the protein requirement for bullfrog (*Rana cutesbeiana*) tadpoles, and its effect on metamorphosis ratio. Elsevier. *Aquaculture*. 141:223-231
- [4] Hofer, R., dan Lackner R. 2006. Nutritional Status of Tadpole Populations of *Rana temporaria* in the Central Alps (Austria). *Verein Innsbruck*, 93:147-159
- [5] Kurniawan, N., Daicus M. M., H. S. Yong, dan M. Sumida. 2009. Conservation of *Fejervarya cancrivora* by Artificial Reproduction. *Prosiding Bioteknologi*. 14:474-486
- [6] Lynch, J.D. 2006. The tadpoles of frogs and toads found in the lowlands of northern Colombia. *Review Academy Colombia Science*. 30(116): 443-457,
- [7] McDiarmid R.W. dan R. Altig. 1999. Tadpole, the Biology Of Anuran Larvae. The University of Chicago. USA. ISBN: 0-226-55762-6
- [8] Norris, D.O. 2007. Vertebrate Endocrinology, 4th Edition. Elsevier Incorporation. London.
- [9] Susilawati, T. 2011. Spermatologi. Universitas Brawijaya Press.
- [10] Uchiyama, M., Toshiki M., dan Hideki Y. 1990. Notes on the Development of the Crab-Eating Frog, *Rana cancrivora*. *Zoological Science*. 7:73-78