

## **Perkembangan ovarium induk kepiting bakau *Scylla serrata* yang disuplementasi kolesterol dan disuntik serotonin**

### **Ovarian development of female mud crab, *Scylla serrata* supplemented with cholesterol and injected with serotonin**

**B.J. Pattiasina<sup>1</sup>, M. Zairin Jr.<sup>2</sup>, I. Mokoginta<sup>2</sup>, R. Affandi<sup>3</sup>, W. Manalu<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> Program Studi. Budidaya Perairan, FPIK-UNPATTI, Jl. Mr. Chr. Soplanit, Kampus Poka-Ambon Telp. / Faks: (0911) 379196 / (0911) 379859. e-mail: [bpattiasina@yahoo.com](mailto:bpattiasina@yahoo.com)

<sup>2</sup> Departemen Budidaya Perairan, FPIK-IPB, Jl. Agatis, Kampus IPB Darmaga Bogor 16680. Telp./faks: (0251) 8628755 / (0251) 8622941.

<sup>3</sup> Departemen Manajemen Sumberdaya Perairan, FPIK-IPB, Jl. Agatis, Kampus IPB Darmaga Bogor 16680.

<sup>4</sup> Departemen Anatomi, Fisiologi & Farmakologi, FKH-IPB, Jl. Agatis, Kampus IPB Darmaga Bogor 16680. Telp. /faks: (0251) 8629470. Ext.257 / (0251) 8629459.

#### **ABSTRACT**

Cholesterol is known to play an important role in nutrition of crustacean and function as a precursor for steroids synthesis, while neurohormone of serotonin could induce ovarian maturation in crustacean. Ovarian development of adult females *Scylla serrata* was induced by adding cholesterol in the diet and serotonin injection. This research was designed to study the effectiveness of cholesterol supplementation and serotonin injection in ovarian development. Broodstocks were stocked in nine experimental units in three fiber tanks. The fiber tank was equipped with sands substrate and flow through seawater system. The experimental crabs were assigned into a completely randomized design with a 3 x 3 factorial arrangement. The first factor was cholesterol supplementation in the diet with 3 levels (0, 0,5 and 1,0%). The second factor was serotonin injection with 3 levels (0, 5 and 10 µg/g BW). Samples of broodstock were taken every four days to evaluate the stages of ovarian maturity and parameters were used to evaluate the ovarian maturation stage are gonad index (GI) and oocyte diameter, concentration of estradiol 17β, yolk protein concentrations, and fecundity. Results showed that female crabs supplemented with 0,5% cholesterol and a combination of cholesterol 0,5% supplementation and injection serotonin with a dose of 10 µg/g BW had better reproduction development. It is concluded that ovarian development of *Scylla serrata* could be improved by cholesterol supplementation and serotonin injection.

Key words: Cholesterol, serotonin, ovarian development, *Scylla serrata*

#### **ABSTRAK**

Kolesterol diketahui merupakan nutrisi spesifik yang berperan dalam sintesis hormon steroid dan mengontrol reproduksi, sementara serotonin merupakan salah satu neurohormon yang dilaporkan dapat merangsang pematangan ovarium dan pemijahan pada krustase. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh tingkat pemberian kolesterol yang optimal dalam pakan buatan, serta dosis penyuntikan serotonin yang efektif untuk mempercepat proses perkembangan dan pematangan ovarium induk kepiting bakau *Scylla serrata*. Pemeliharaan induk dilakukan dengan menggunakan tiga buah bak fiber. Bak pemeliharaan dilengkapi dengan substrat pasir dan sistem air laut mengalir. Eksperimen menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola faktorial, dengan 9 satuan percobaan. Faktor pertama, suplemen kolesterol didalam pakan dengan 3 tingkat dosis (0; 0,5; dan 1%) dan faktor kedua, injeksi serotonin dengan 3 tingkat dosis (0, 5, dan 10 µg/g bobot tubuh). Pengamatan terhadap tingkat kematangan ovarium dilakukan setiap 4 hari sekali. Parameter pengambilan sampel meliputi tingkat kematangan ovarium, indeks gonad dan diameter oosit, konsentrasi estradiol 17β, konsentrasi protein yolk, dan fekunditas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa induk kepiting yang disuplementasi dengan dosis kolesterol 0,5% dan induk kepiting yang mendapat perlakuan kombinasi, suplementasi kolesterol 0,5% dan injeksi serotonin dosis 10 µg/g bobot tubuh dapat menghasilkan perkembangan ovarium yang terbaik. Jadi kolesterol dan serotonin dapat digunakan untuk meningkatkan perkembangan ovarium.

Kata-kata kunci: Kolesterol, serotonin, perkembangan ovarium, *Scylla serrata*

## PENDAHULUAN

Perkembangan tingkat kematangan ovarium induk kepiting bakau *Scylla serrata* bergantung pada sumber-sumber eksogen maupun endogen. Salah satu sumber eksogen yang sangat berperan dalam proses reproduksi ialah pakan dan sumber nutrisi spesifik yang dikandungnya. Sumber nutrisi spesifik merupakan faktor penting dalam menentukan kuantitas maupun kualitas reproduksi. Diketahui bahwa kolesterol tidak dapat disintesis *de novo* oleh krustase. Kolesterol merupakan sterol penting yang tersedia sebagai prekursor bagi banyak komponen fisiologis, seperti hormon steroid dan hormon moulting, kortikoid adrenal, asam-asam empedu, dan vitamin D (Sheen, 2000). Kolesterol dibutuhkan untuk memenuhi beberapa fungsi endokrin, yaitu sebagai prekursor hormon steroid, untuk proses gonadogenesis, pematangan ovarium, dan perkembangan larva (Wouters *et al.*, 2001).

Beberapa studi tentang kebutuhan kuantitatif kolesterol dalam pakan formulasi bagi krustase telah dilakukan sebelumnya, terutama pada juvenil. Estimasi kebutuhan kolesterol berkisar 0,1-1,4% pada juvenil *Penaeus japonicus*. Hasil penelitian oleh Sheen (2000) pada juvenil *Scylla serrata* yang diberi pakan dengan kandungan kolesterol 0,5% dan 0,79% menunjukkan penambahan bobot yang signifikan, sedangkan pakan dengan kandungan kolesterol lebih besar dari 1,12% menunjukkan pengaruh yang sebaliknya. Estimasi kebutuhan kolesterol berkisar dari 0,1-1,4% pada juvenil *Penaeus japonicus*, kemudian dari 0% dan 0,12-0,5% pada juvenil dan lobster dewasa *Homarus* sp. serta antara 0,23% dan 0,42% pada udang *Penaeus vannamei* (Holme, 2006). Walaupun demikian, belum banyak laporan tentang studi nutrisi pakan menggunakan kolesterol terutama pada perkembangan ovarium induk kepiting bakau *S. serrata*.

Selain sumber nutrisi spesifik, faktor neuroendokrin juga berperan dalam proses reproduksi krustase. Sejauh ini, organ pericardial yang berhubungan dengan ganglion toraks di sistem saraf pusat, diketahui banyak mengandung dan

melepaskan hormon-hormon, termasuk di antaranya biogenik amin, ke dalam sirkulasi umum. Salah satu biogenik amin ialah serotonin atau 5-hydroxytryptamine (5-HT), yang merupakan neurohormon yang memainkan peranan penting dalam mengatur proses reproduksi. Pada sistem saraf pusat, serotonin tampaknya berfungsi sebagai neurotransmitter yang dapat merangsang pelepasan *ovary stimulating hormone* (OSH) pada kepiting *Procambarus clarkii* (Kulkarni *et al.*, 1992). Peranan serotonin dalam proses reproduksi krustase ditunjukkan melalui pengaruh perangsangannya dalam proses pematangan ovarium dan pemijahan pada kepiting *Procambarus Clarkii* (Sarojini *et al.*, 1995), udang *Penaeus vanammei* (Vaca dan Alfaro, 2000), *P. monodon* (Wongprasert *et al.*, 2006), serta pematangan ovarium udang air tawar *Macrobrachium rosenbergii* (Meeratanana *et al.* 2006). Jadi, serotonin dapat berperan secara tidak langsung di dalam sistem saraf pusat, yakni otak dan ganglion toraks, untuk merangsang sekresi *gonad stimulating hormone* (GSH) atau melalui aksi serotonin di dalam lobus optik tangkai mata untuk menghambat sekresi *gonad inhibiting hormone* (GIH). Namun saat ini belum ada informasi sampai sejauh mana pengaruh serotonin pada perkembangan ovarium induk kepiting bakau *S. serrata*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh tingkat pemberian kolesterol yang optimal dalam pakan buatan, dan dosis penyuntikan serotonin yang efektif dalam mempercepat proses perkembangan dan pematangan ovarium induk kepiting bakau.

## BAHAN DAN METODE

### Waktu dan tempat

Penelitian ini dilakukan di Balai Budidaya Laut Waiheru–Ambon, berlangsung dari bulan September 2008 hingga Maret 2009.

### Pemeliharaan hewan uji

Kepiting bakau betina dewasa jenis *S. serrata* merupakan hewan uji yang diperoleh dari alam melalui pedagang pengumpul dengan ovarium yang belum berkembang. Ukuran lebar karapaksnya berkisar 11,1–13,7 cm dan bobot tubuh awal berkisar 288–482 g. Sebagai wadah pemeliharaan adalah bak

fiberglas yang disekat-sekat sehingga membentuk kotak-kotak kecil yang berukuran 30 x 40 cm. Bak diberi substrat pasir setebal sekitar  $\pm 15$  cm dan menggunakan air laut dengan sistem air mengalir. Tinggi air konstan dalam bak ialah 25 cm. Dalam tiap kotak ditempatkan satu induk kepiting yang sebelumnya telah didesinfeksi dengan larutan  $\text{KMnO}_4$  berkonsentrasi 0,37 ppm selama 20 menit, kemudian diaklimatisasikan selama  $\pm 4$  hari. Pada masa ini kepiting diberi pakan ikan segar 2-3%/g bobot tubuh dan kemudian diadaptasikan dengan pakan uji. Masa pemeliharaan hewan uji masing-masing perlakuan, sesuai dengan waktu pengambilan sampel saat ovarium induk kepiting mencapai tahap menjelang matang dan tahap matang ovarium.

### Pakan uji

Pakan uji yang digunakan berupa pakan buatan yang dibuat dengan ukuran panjang dan diameter 1 cm. Pakan ini mengandung protein sebesar 45,76 dan lemak 6,67%. Pakan diberikan sebanyak 10% dari bobot tubuh, satu kali sehari yakni pada sore hari.

### Disain penelitian dan pengumpulan data

Penelitian dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola faktorial. Percobaan terdiri atas dua faktor. *Faktor pertama* ialah pemberian kolesterol dengan dosis 0; 0,5; dan 1,0%. *Faktor kedua* ialah penyuntikan serotonin dengan dosis 0, 5, dan 10  $\mu\text{g/g}$  bobot tubuh induk. Serotonin (*5-hydroxytryptamine creatinine sulfate complex*, produksi Sigma, USA) dilarutkan dalam 0,2 ml larutan fisiologis (NaCl 9%). Penyuntikan dilakukan pada pangkal coxa (kaki jalan ke-3) sebanyak 3 kali, yakni pada hari pertama dan kemudian selang waktu 5 hari berturut-turut. Sebagai kontrol ialah kepiting yang diberi pakan tanpa tambahan kolesterol dan tanpa penyuntikan serotonin. Keseluruhan perlakuan terdiri atas 9 satuan percobaan sebagai berikut: Kontrol (K0); Suplementasi kolesterol 0,5% (K05); Suplementasi kolesterol 1,0% (K1); Penyuntikan serotonin 5  $\mu\text{g/g}$  bobot tubuh (S5); Penyuntikan serotonin 10  $\mu\text{g/g}$  bobot tubuh (S10); Kombinasi suplementasi kolesterol 0,5% dan penyuntikan serotonin 5  $\mu\text{g/g}$  bobot tubuh (K05-S5); Kombinasi

suplementasi kolesterol 0,5% dan penyuntikan serotonin 10  $\mu\text{g/g}$  bobot tubuh (K05-S10); Kombinasi suplementasi kolesterol 1,0% dan penyuntikan serotonin 5  $\mu\text{g/g}$  bobot tubuh (K1-S5); dan Kombinasi suplementasi kolesterol 1,0% dan penyuntikan serotonin 10  $\mu\text{g/g}$  bobot tubuh (K1-S10).

Pengamatan tingkat kematangan ovarium (TKO) dilakukan setiap 4 hari dengan berpedoman pada John dan Sivadas (1978). Tiap perlakuan menggunakan 6 individu sebagai ulangan. Pengambilan sampel jaringan ovarium dilakukan sesuai dengan tingkat kematangan ovarium (TKO) yang meliputi tahap menjelang matang (TKO II) dan tahap matang (TKO III), masing-masing sebanyak 3 individu. Untuk memudahkan pengukuran diameter oosit dan penghitungan telur, sampel ovarium direndam dalam larutan Gilson 100% untuk memisahkan oosit satu dengan lainnya. Jaringan ovarium segar disimpan dalam *freezer* untuk keperluan analisis konsentrasi hormon estradiol  $17\beta$  dan konsentrasi protein terlarut kuning telur (*yolk*).

Parameter kualitas air yang diukur meliputi suhu ( $28,8\text{--}31^{\circ}\text{C}$ ), salinitas (25-34 ppt), oksigen (5,2-6,96 ppm), dan pH (7,2-7,95).

### Metode analisis

#### Tingkat kematangan ovarium (TKO)

Untuk memastikan status TKO kepiting bakau, maka pengamatan morfologi ovarium dilakukan secara eksternal. Penentuan fase perkembangan ovarium secara morfologis dilakukan berdasarkan pengamatan pemuhan sel-sel telur di bagian dorso-ventral yang diamati melalui pertautan karapaks bawah dan ruas abdomen pertama. Perubahan yang diamati meliputi bentuk dan warna jaringan ovarium yang mengindikasikan proliferasi sel-sel telur seiring dengan perkembangan ovarium.

Deskripsi tentang pemenuhan penampang jaringan ovarium oleh sel-sel telur menggambarkan perkembangan TKO secara kualitatif. Hasil pengamatan kemudian diberi nilai skala sesuai tingkat kematangannya sehingga diperoleh nilai kuantitatif yang menentukan kategori TKO. Pada kategori

TKO belum matang (nilai skala 1-2) tampak jaringan ovarium dengan warna transparan, putih susu hingga kuning muda. Pada kategori TKO menjelang matang dan matang ovarium tahap awal (nilai skala 3 dan 4) yang membedakan keduanya ialah posisi sel-sel telur pada jaringan ovarium menjelang matang masih terlihat kecil di bagian tengah karapaks, namun sudah berwarna kuning tua. Kategori jaringan ovarium matang tahap awal, sel-sel telur terlihat sudah memenuhi sebagian penampang jaringan ovarium. Pada kategori jaringan ovarium matang, sel-sel telur hampir memenuhi seluruh penampang jaringan ovarium (nilai skala 5) dan sudah memenuhi seluruh penampang jaringan ovarium hingga terlihat menggembung (nilai skala 6). Hasil pengamatan divisualisasikan dalam bentuk grafik selama 5 periode atau 20 hari pengamatan

#### Lama waktu matang ovarium

Pengamatan lama waktu matang ovarium yang dibutuhkan kepiting uji untuk mencapai tingkat kematangan ovarium (TKO) II yakni menjelang matang dan matang (TKO III) dari keadaan ovarium yang belum berkembang didasarkan pada pengamatan faktual.

#### Pengukuran indeks gonad (IG) dan diameter oosit

Indeks gonad diperoleh dari hasil pembagian bobot gonad (ovarium) dalam keadaan basah dengan bobot tubuh dikalikan 100. Data diameter oosit diperoleh melalui

pengukuran terhadap 100 butir oosit, menggunakan mikroskop yang dilengkapi mikrometer okuler.

#### Pengukuran konsentrasi hormon estradiol 17 $\beta$

Konsentrasi hormon estradiol 17 $\beta$  ( $\mu\text{g/ml}$ ) dalam sampel ovarium ditentukan dengan menggunakan metode ekstraksi dan metode *enzym immunoassay* (estradiol 17 $\beta$ - ELISA test kit).

#### Pengukuran konsentrasi protein terlarut kuning telur (*yolk*)

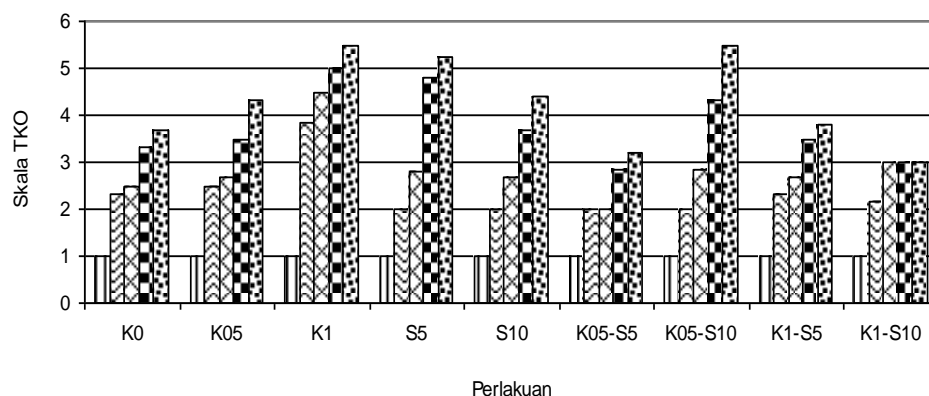
Kandungan protein terlarut kuning telur ( $\text{mg/ml}$ ) diukur dengan menggunakan metode pengendapan dan metode elektroforesis.

#### Fekunditas

Penentuan fekunditas (butir) pada induk kepiting tahap matang ovarium (TKO III), dilakukan secara gravimetrik yakni menghitung jumlah oosit pada contoh gonad (ovarium) dikalikan dengan bobot total ovarium, dan dibagi dengan bobot contoh ovarium.

#### Analisis statistik

Pengaruh perlakuan pada perkembangan ovarium yang meliputi parameter tingkat kematangan ovarium (TKO) disajikan secara deskriptif. Analisis lama waktu matang ovarium, indeks gonad dan diameter oosit, konsentrasi estradiol 17 $\beta$ , konsentrasi protein terlarut *yolk*, serta fekunditas dengan sidik ragam ANOVA dan uji BNJ untuk perbedaan perlakuan. Analisis menggunakan *software* SPSS (versi 17.0)



Gambar 1. Perkembangan tingkat kematangan ovarium (TKO) induk kepiting bakau *S. serrata* yang disuplementasi kolesterol 0.5 dan 1.0% serta disuntik serotonin 5 dan 10  $\mu\text{g/g}$  bobot tubuh selama periode pengamatan (P) dengan selang waktu 4 hari (■ P1; ▣ P2; ▢ P3; ▤ P4; dan ▥ P5).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Tingkat kematangan ovarium (TKO) dan lama waktu matang gonad

Kepiting yang memiliki nilai skala TKO lebih tinggi ialah kepiting yang disuplementasi kolesterol 1% (K1), dan yang disuntik serotonin dosis 5 µg (S5), serta kepiting yang disuplementasi kolesterol 0,5% dan yang disuntik serotonin 10 µg (K05-S10). Hal ini berarti bahwa induk kepiting dari ketiga perlakuan tersebut lebih cepat mengalami perubahan pada jaringan ovarium. Umumnya, induk kepiting mulai mengalami perubahan morfologi jaringan ovarium pada periode pengamatan ke-2 (P2) yaitu hari ke-8. Berkaitan dengan hasil pengamatan yang didasarkan pada deskripsi TKO dan nilai skala, maka kepiting yang disuplementasi kolesterol 1% (K1) dapat mencapai tahap menjelang matang (TKO II) dalam waktu tersingkat ( $13,00 \pm 1,73$  hari) dibandingkan dengan kepiting perlakuan lainnya ( $p < 0,05$ ). Untuk mencapai tahap matang (TKO III) maka kepiting yang disuplementasi kolesterol 1% ini membutuhkan waktu  $18,33 \pm 2,31$  hari, relatif tidak berbeda dengan kepiting yang disuntik serotonin dosis 5 µg/g bobot tubuh (S5) yaitu dalam waktu  $18,33 \pm 3,06$  hari ( $p > 0,05$ ) dan merupakan waktu matang ovarium tersingkat dibandingkan dengan kepiting perlakuan lainnya. Hasil pengamatan secara kualitatif terhadap tingkat kematangan ovarium (TKO) dari setiap perlakuan yang diperoleh sesuai dengan nilai skala, disajikan pada Gambar 1.

Di antara kelompok kepiting yang mendapat perlakuan kombinasi yaitu suplementasi kolesterol dan penyuntikan serotonin, maka kepiting yang disuplementasi kolesterol 0,5% dan disuntik serotonin 10 µg/g bobot tubuh (K05-S10) membutuhkan waktu untuk mencapai matang ovarium relatif lebih singkat, yakni tahap TKO II dicapai dalam waktu  $18,33 \pm 1,15$  hari, dan TKO III dalam waktu  $21,00 \pm 1,73$  hari. Kepiting yang diberi pakan dengan kolesterol 1% dan disuntik serotonin 10 µg/g bobot tubuh (K1-S10) membutuhkan waktu untuk mencapai matang ovarium (TKO III) terlama yaitu  $31,33 \pm 8,39$  hari ( $p < 0,05$ ). Hampir

sebanding dengan hasil penelitian Hatta (1998), yang menambahkan kolesterol 1% didalam pakan dan penyuntikan dengan hormon 20 hidroksi-ekdisteroide (20-HE) bagi pe-matangan ovarium *S. serrata* yang membutuhkan waktu tersingkat diantara perlakuan lainnya, yaitu 27 hari. Dengan demikian induk kepiting yang disuplementasi kolesterol 0,5% dan penyuntikan serotonin dosis 10 µg/g bobot tubuh (K05-S10), lebih efektif mempercepat proses perkembangan ovarium secara morfologis.

### Indeks gonad (IG) dan diameter oosit

Umumnya nilai indeks gonad (IG) dan diameter oosit yang dimiliki kepiting pada tahap ovarium menjelang matang (TKO II) lebih rendah dari tahap matang (TKO III). Dosis kolesterol dalam pakan dan dosis penyuntikan serotonin tidak mempengaruhi nilai IG dan diameter oosit kepiting pada tahap TKO II, namun pada tahap TKO III menunjukkan peningkatan nilai ( $P < 0,05$ ). Kepiting yang disuplementasi kolesterol dosis 0,5 % (K05) mempunyai nilai indeks gonad (IG) tergolong rendah ( $0,85 \pm 0,10\%$ ) pada tahap TKO II, namun pada tahap TKO III memiliki nilai IG tertinggi ( $7,38 \pm 0,50\%$ ). Selain itu, kepiting dengan perlakuan yang sama, juga mempunyai ukuran diameter oosit tertinggi ( $278 \pm 27,5$  µm). Hal ini berarti bahwa induk kepiting yang disuplementasi dengan kolesterol 0,5% memberi pengaruh optimal pada perkembangan ovarium untuk mencapai tahap matang (TKO III) dibandingkan dengan kepiting perlakuan lainnya. Penyuntikan serotonin dosis 5 µg/g bobot tubuh (S5) menghasilkan nilai IG lebih rendah ( $2,42 \pm 0,45\%$ ) pada tahap matang ovarium (TKO III) dibandingkan dengan kepiting perlakuan lainnya. Walaupun kepiting yang mendapat perlakuan S5 lebih cepat mencapai tahap matang ovarium secara morfologi dengan lama waktu tersingkat, tidak diikuti dengan penambahan bobot ovarium. Demikian juga dengan ukuran diameter oosit yang tergolong rendah ( $190 \pm 19,5$  µm). Nilai IG dan diameter oosit diperlihatkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Indeks gonad (IG) dan diameter oosit pada tingkat kematangan ovarium (TKO) II dan III dari induk kepiting bakau *Scylla serrata*.

Perlakuan	TKO II		TKO III	
	IG	Diameter oosit	IG	Diameter oosit
K0	1,13 ± 0,20 <sup>tn</sup>	141 ± 20,1 <sup>tn</sup>	4,07 ± 2,58 <sup>ab</sup>	259 ± 62,5 <sup>bc</sup>
K05	0,85 ± 0,10 <sup>tn</sup>	128 ± 26,2 <sup>tn</sup>	7,38 ± 0,50 <sup>b</sup>	278 ± 27,5 <sup>c</sup>
K1	1,31 ± 0,41 <sup>tn</sup>	130 ± 14,0 <sup>tn</sup>	4,13 ± 1,53 <sup>ab</sup>	216 ± 33,5 <sup>abc</sup>
S5	1,02 ± 0,11 <sup>tn</sup>	117 ± 10,7 <sup>tn</sup>	2,42 ± 0,45 <sup>a</sup>	190 ± 19,5 <sup>ab</sup>
S10	1,95 ± 0,99 <sup>tn</sup>	135 ± 40,6 <sup>tn</sup>	2,64 ± 0,57 <sup>a</sup>	193 ± 25,4 <sup>ab</sup>
K05-S5	1,46 ± 0,69 <sup>tn</sup>	147 ± 35,8 <sup>tn</sup>	2,76 ± 0,16 <sup>a</sup>	168 ± 15,6 <sup>a</sup>
K05-S10	1,07 ± 0,51 <sup>tn</sup>	128 ± 24,1 <sup>tn</sup>	4,56 ± 1,83 <sup>ab</sup>	258 ± 34,1 <sup>bc</sup>
K1-S5	0,80 ± 0,34 <sup>tn</sup>	95 ± 19,6 <sup>tn</sup>	3,70 ± 0,20 <sup>a</sup>	229 ± 26,3 <sup>abc</sup>
K1-S10	0,77 ± 0,18 <sup>tn</sup>	100 ± 22,1 <sup>tn</sup>	5,30 ± 0,75 <sup>ab</sup>	272 ± 53,8 <sup>bc</sup>

Keterangan: Huruf cetak atas yang sama pada kolom yang sama, serta tn menunjukkan tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ).

Induk *S. Serrata* tahap matang (TKO III) yang dihasilkan dari perlakuan ablasi, dan diberi pakan segar relatif mempunyai diameter oosit hampir sama dengan induk yang disuntik serotonin yaitu 0,19 mm, sedangkan diameter oosit induk yang tidak diablasi lebih rendah yaitu 0,15 mm (Siahainenia 2007). Hasil penelitian yang dilaporkan oleh Meeratana *et al.*, (2006), menunjukkan bahwa induk udang air tawar *Macrobrachium rosenbergii* yang tidak disuntik serotonin mempunyai indeks gonad lebih rendah ( $1,59 \pm 0,3\%$ ), jika dibandingkan dengan induk udang yang disuntik serotonin dengan dosis rendah 1  $\mu\text{g/g}$  bobot tubuh ( $5,79 \pm 0,9\%$ ). Namun demikian kelompok induk udang yang disuntik serotonin dengan dosis yang semakin tinggi (5, 10, 20, dan 50  $\mu\text{g/g}$  bobot tubuh) mempunyai nilai IG terendah.

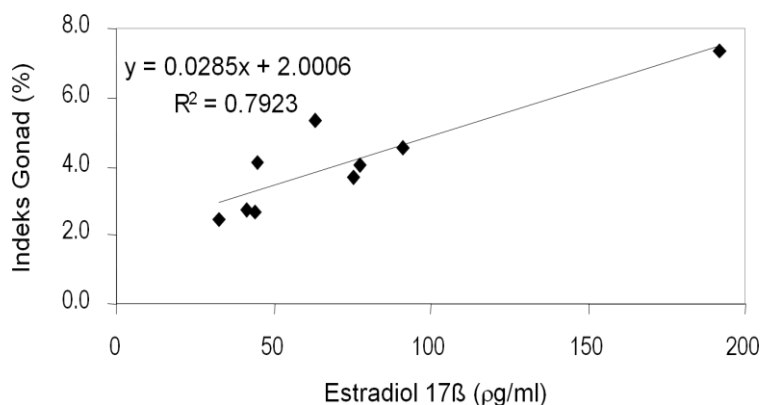
Diantara kelompok kepiting yang diberi perlakuan kombinasi yaitu suplementasi kolesterol dan disuntik serotonin, maka kepiting yang disuplementasi kolesterol 1% dan disuntik serotonin 10  $\mu\text{g/g}$  bobot tubuh (K1-S10), memiliki nilai IG lebih tinggi ( $5,30 \pm 0,75\%$ ), diikuti dengan ukuran diameter oosit yang tergolong tinggi ( $272 \pm 53,8 \mu\text{m}$ ), tetapi membutuhkan waktu terlalu lama ( $31,33 \pm 8,39$  hari) untuk mencapai matang ovarium (TKO III). Hal ini dapat diartikan bahwa seiring dengan lamanya waktu mencapai kematangan, memberi peluang terutama bagi peningkatan sintesis komponen nutrisi bagi proses perkembangan ovarium.

Selain itu, kepiting yang disuplementasi kolesterol 0,5% dan disuntik serotonin 10  $\mu\text{g/g}$  bobot tubuh (K05-S10) memiliki nilai IG cukup tinggi ( $4,56 \pm 1,83\%$ ), demikian juga dengan ukuran diameter oosit ( $258 \pm 34,1 \mu\text{m}$ ) dan membutuhkan waktu cukup singkat ( $21,00 \pm 1,73$  hari) untuk mencapai tahap matang. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa induk kepiting yang mendapat penambahan kolesterol 0,5% dan penyuntikan serotonin 10  $\mu\text{g/g}$  bobot tubuh memberi pengaruh yang cukup efektif pada perkembangan dan pematangan ovarium.

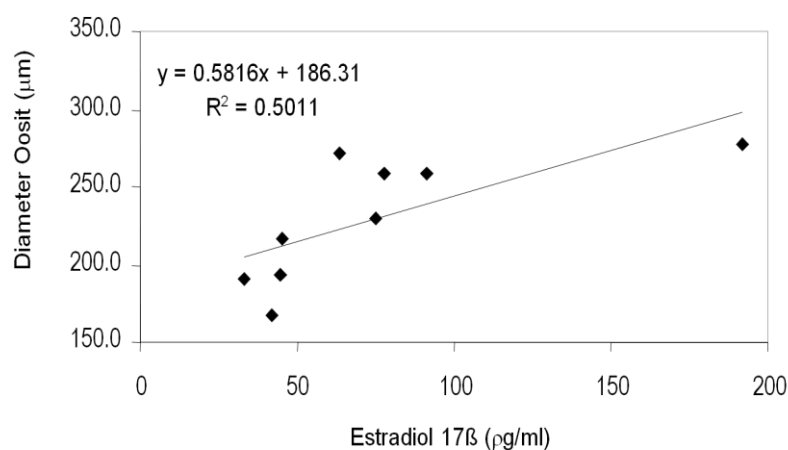
Hasil analisis regresi menunjukkan korelasi yang kuat antara keberadaan konsentrasi estradiol 17 $\beta$  dengan nilai indeks gonad (Gambar 2). Indeks gonad meningkat sejalan dengan peningkatan konsentrasi estradiol 17 $\beta$  di ovarium. Hal ini ditunjukkan dengan persamaan  $Y = 0,0285X + 2,0006$  dan koefisien korelasinya ( $R^2$ ) 0,7923 atau ( $r$ ) 0,89.

Hubungan antara peningkatan konsentrasi estradiol 17 $\beta$  ukuran diameter oosit pada tahap ovarium matang (TKO III) memperlihatkan korelasi yang cukup kuat. Hal ini ditunjukkan dengan persamaan  $Y = 0,5816X + 186,31$ , dan koefisien korelasinya ( $R^2$ ) 0,5011 atau ( $r$ ) 0,71 (Gambar 3).

Hasil ini memperlihatkan bahwa peningkatan konsentrasi estradiol 17 $\beta$  meningkatkan nilai indeks gonad (IG) maupun ukuran diameter oosit. Proses oogenesis merupakan proses reproduksi energetik yang mahal.



Gambar 2. Hubungan antara indeks gonad dengan konsentrasi estradiol 17 $\beta$  pada tahap matang (TKO III) dari induk kepiting bakau *Scylla serrata* yang disuplementasi kolesterol dosis 0,5 dan 1,0% serta disuntik serotonin 5 dan 10  $\mu$ g/g bobot tubuh.

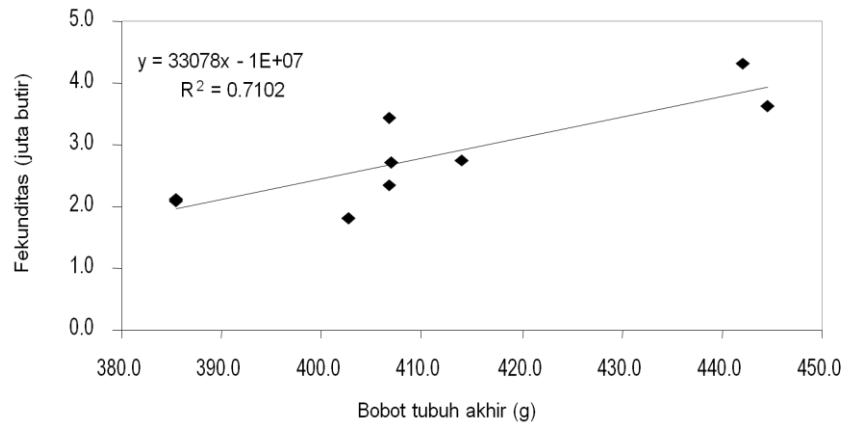


Gambar 3. Hubungan antara ukuran diameter oosit dengan konsentrasi estradiol 17 $\beta$  pada tahap matang (TKO III) dari induk kepiting bakau *Scylla serrata* yang disuplementasi kolesterol dosis 0,5 dan 1,0% serta disuntik serotonin 5 dan 10  $\mu$ g/g bobot tubuh.

Tabel 2. Konsentrasi protein terlarut *yolk* pada tingkat kematangan ovarium (TKO) II dan III dari induk kepiting bakau *Scylla serrata*.

Perlakuan	Protein <i>yolk</i> (mg/ml)	
	TKO II	TKO III
K0	3,64 $\pm$ 0,52 <sup>tn</sup>	3,70 $\pm$ 0,22 <sup>tn</sup>
K05	3,25 $\pm$ 0,01 <sup>tn</sup>	3,52 $\pm$ 0,18 <sup>tn</sup>
K1	3,05 $\pm$ 0,20 <sup>tn</sup>	3,45 $\pm$ 0,22 <sup>tn</sup>
S5	3,06 $\pm$ 0,01 <sup>tn</sup>	3,43 $\pm$ 0,02 <sup>tn</sup>
S10	3,33 $\pm$ 0,16 <sup>tn</sup>	3,33 $\pm$ 0,03 <sup>tn</sup>
K05-S5	3,23 $\pm$ 0,12 <sup>tn</sup>	3,49 $\pm$ 0,23 <sup>tn</sup>
K05-S10	3,23 $\pm$ 0,12 <sup>tn</sup>	3,63 $\pm$ 0,16 <sup>tn</sup>
K1-S5	3,15 $\pm$ 0,29 <sup>tn</sup>	3,24 $\pm$ 0,13 <sup>tn</sup>
K1-S10	3,22 $\pm$ 0,13 <sup>tn</sup>	3,32 $\pm$ 0,08 <sup>tn</sup>

Keterangan: tn, menunjukkan tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ )



Gambar 4. Hubungan antara fekunditas dan bobot tubuh induk kepiting bakau *Scylla serrata* pada tahap matang (TKO) III yang disuplementasi kolesterol dosis 0,5 dan 1,0% serta disuntik serotonin 5 dan 10  $\mu\text{g/g}$  bobot tubuh.

Fase terakhir oogenesis merupakan periode yang ditandai dengan akumulasi protein *yolk* dalam pertumbuhan oosit dan menyebabkan peningkatan diameter oosit. Hal ini merupakan perubahan fisiologis yang dramatis akibat mekanisme hormonal. Keberadaan protein *yolk* sering digunakan untuk studi keterlibatan hormon dalam mengontrol reproduksi betina (Warrier *et al.*, 2001).

#### Protein terlarut kuning telur (*yolk*)

Konsentrasi protein *yolk* yang diperoleh tidak menunjukkan perbedaan diantara perlakuan ( $p > 0,05$ ). Walaupun demikian, induk kepiting yang diberi pakan tanpa tambahan kolesterol dan tanpa penyuntikan serotonin (K0) menunjukkan nilai konsentrasi protein *yolk* tertinggi yakni  $3,70 \pm 0,22$  mg/ml (Tabel 2). Hal ini diduga bahwa kandungan protein *yolk* berkaitan dengan kandungan nutrisi pakan uji (protein 45,76 dan lemak 6,67%) yang sudah cukup memenuhi kebutuhan induk untuk sintesis protein kuning telur bagi pematangan ovarium. Pada udang maupun kepiting, hepatopankreas merupakan tempat sintesis vitelogenin yang diperoleh dari lemak pakan, kemudian disirkulasikan kedalam hemolimf dan diakumulasi sebagai butir kuning telur (*yolk globule*).

Selain itu, kepiting yang mendapat perlakuan kombinasi yaitu suplementasi kolesterol 5% dan penyuntikan serotonin 10  $\mu\text{g/g}$  bobot tubuh (K05-S10), menghasilkan konsentrasi protein *yolk* yang juga cukup besar ( $3,63 \pm 0,16$  mg/ml). Diasumsikan

bahwa vitelogenin yang ditranspor melalui hemolimf sebagai sumber vitelin dari luar ovarium atau sekresi aktif di dalam ovarium sendiri dapat berlangsung secara bergantian selama perkembangan ovarium. Vitelogenin kemudian diambil dan dimodifikasi dengan penambahan polisakarida dan lemak menjadi vitelin. Oleh karena itu, vitelogenin merupakan molekul prekursor bagi pembentukan vitelin dan perkembangan oosit (Tsukimura, 2001).

#### Fekunditas

Fekunditas merupakan jumlah telur yang dihasilkan oleh seekor induk dan pada krustase sangat bervariasi. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa induk kepiting mempunyai fekunditas yang tidak berbeda ( $P > 0,05$ ). Ukuran induk mempengaruhi fekunditas, frekuensi pemijahan, dan derajat fertilisasi (Racotta *et al.*, 2003). Selain itu, fekunditas juga berhubungan dengan indeks kematangan gonad dan diameter oosit. Berkaitan dengan ukuran bobot tubuh, maka kepiting tanpa penambahan kolesterol dan penyuntikan serotonin (K0) mempunyai fekunditas tertinggi ( $4,298,987 \pm 3,522$  butir telur). Hal ini diduga karena kelompok kepiting ini memiliki bobot tubuh cukup besar ( $442 \pm 13,75$  g). Sama halnya dengan induk kepiting yang disuntik serotonin 5  $\mu\text{g/g}$  bobot tubuh (S5), juga menghasilkan fekunditas cukup tinggi ( $3,614,587 \pm 3,756$  butir telur) dan memiliki bobot tubuh yaitu  $445 \pm 30,57$  g. Bobot tubuh induk antara 200-300 g menghasilkan fekunditas berkisar antara 2,7 juta hingga 3,3



juta butir telur (Djunaidah, 2004). Di Filipina, induk *S. serrata* dengan bobot tubuh 350-400 g memiliki fekunditas berkisar 1,2 juta hingga 1,6 juta butir telur (Millamena dan Bangcaya, 2001).

Selanjutnya analisis regresi menunjukkan bahwa terdapat hubungan antara jumlah fekunditas dengan bobot tubuh akhir dari induk kepiting yang disuplementasi dengan dosis kolesterol 0,5 dan 1,0% dan disuntik serotonin 5 dan 10 µg/g bobot tubuh. Korelasinya ditunjukkan dengan persamaan  $Y=33,078X-10^7$ , dan nilai koefisien korelasinya ( $R^2$ ) 0,7102 atau ( $r$ ) 0,84. Hal ini menggambarkan bahwa secara keseluruhan terdapat korelasi yang kuat, dimana fekunditas yang dihasilkan meningkat sesuai dengan bobot tubuh akhir induk kepiting bakau pada tahap matang ovari (TKO III), seperti yang diperlihatkan pada Gambar 4.

### KESIMPULAN

Induk kepiting bakau *Scylla serrata* yang disuplementasi dengan kolesterol 0,5% lebih efektif mempengaruhi kecepatan perkembangan dan pematangan ovari. Demikian juga dengan induk kepiting yang disuplementasi dengan kolesterol dosis 0,5% dan penyuntikan serotonin 10 µg/g bobot tubuh.

### DAFTAR PUSTAKA

- Djunaidah, I.S., 2004. Kajian pola pemijahan kepiting bakau (*Scylla paramamosain* Estampador) dan peningkatan penampilan reproduksinya melalui perbaikan kualitas pakan dalam substrat pemeliharaan teruji. [Disertasi]. Bogor: IPB.
- Holme, H., 2006. An assessment of the dietary cholesterol requirement of *Scylla serrata* megalopae using semi-purified diets. *Aquaculture* 261, 1328-1334.
- John, S, Sivadas, P., 1978. Morphological changes in the development of the ovary in the eyestalk ablated estuarine crab, *Scylla serrata* (Forsk.). *Mahasagar* 11(1&2), 57-62.
- Kulkarni, G.K., Nagabushanam, R., Amaldoss, G., Jaiswal, R.G., Fingerman M., 1992. In vivo stimulation of ovarian development in the red swamp crayfish, *Procambarus clarkii* (Girard), by 5-hydroxytryptamine. *Invert. Reprod. Dev.* 21, 231-240.
- Meeratanaa, P., Withyachumnarnkul, B., Damrongpholc, P., Wongprasertb, K., Suseangthamb, A., Sobhonb, P., 2006. Serotonin induces ovarian maturation in giant freshwater prawn broodstock, *Macrobrachium rosenbergii* de Man. *Aquaculture* 260, 315-325.
- Millamena, O.M., Bangcaya, J.P., 2001. Reproductive performance and larval quality of pond raised *Scylla serrata* females fed various broodstock diets. *In Proceeding of the international forum on the culture of Portunid Crabs.* *Asian Fisheries Science* 14, 153-159.
- Racotta, I.S., Palacios, E., Ibarra, A.M., 2003. Shrimp larval quality relation to broodstock condition. *Aquaculture* 227, 107-130.
- Sarojini, R., Nagabushanam, R., Fingerman, M., 1995. Mode of action of the neurotransmit 5-Hydroxytryptamine in stimulating ovarian maturation in the red swamp crayfish (*Procambarus clarkia*): an *in vivo* and *in vitro* study. *J Exp. Zool.* 271, 395-400.
- Sheen, S.S., 2000. Dietary cholesterol requirement of juvenile mud crab (*Scylla serrata*). *Aquaculture* 189, 277-285.
- Siahainenia, L., 2007. Studi aspek bioekologi kepiting bakau (*Scylla* spp.) di wilayah perairan mangrove Kabupten Subang Jawa Barat. [Disertasi]. Bogor: IPB.
- Tsukimura, B., 2001. Crustacean vitellogenesis: Its role in oocyte development. *Amer. Zool* 41, 465-476.
- Vaca, A.A., Alfaro, J., 2000. Ovarian maturation and spawning in the white shrimp, *Penaeus vannamei*, by serotonin injection. *Aquaculture* 182 (3-4), 373-385.
- Warrier, S. R., Tirumalai, R., Subramoniam, T., 2001. Occurrence of vertebrate steroids, estradiol 17β and progesterone in the reproducing females of the mud crab (*Scylla serrata*). *Comp. Biochem. Physiol.* 130A, 283-294.
- Wongprasert, K., Asuvapongpatana, S., Poltana, P., Tiensuwan, M., Withyachumnarnkul, B., 2006. Serotonin

- stimulates ovarian and spawning in the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture* 261, 1447-1454
- Wouters, R., Piguave, X., Bastidas, L., Calderon, J., Sorgeloos, P., 2001. Ovarian maturation and hemolymphatic vitellogenin concentration of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei* (Boone)) fed increasing levels of total dietary lipids and HUFA. *Aquaculture Research* 32, 573-582.