

PRODUKSI MONOSEKS GUPPY (*Poecilia reticulata*) JANTAN DENGAN PERENDAMAN INDUK BUNTING DAN LARVA DALAM PROPOLIS BERBAGAI ARAS DOSIS

Munti Sarida, Dieswan Dwi Putra, Heronimus Sandi Yudhistira Marsewi

Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian
Universitas Lampung, Bandar Lampung 35145, Indonesia
Email: muntisrd@yahoo.com

ABSTRAK

Sarida, M., D.D. Putra & H.S.Y. Marsewi. 2011. Produksi monoseks guppy (*Poecilia reticulata*) jantan dengan perendaman induk bunting dan larva dalam propolis berbagai aras dosis. *Zoo Indonesia* 20(2), 1-10. Produksi populasi monoseks guppy (*Poecilia reticulata* Peters, 1859) sebagai solusi untuk mengatasi masalah fekunditas rendah dan mempermudah pemasaran benih sebagai salah satu ikan hias. Tujuan penelitian untuk mencari perlakuan terbaik untuk memproduksi populasi jantan guppy dengan merendam induk bunting dan larva umur 2 hari setelah menetas dalam propolis dan 17α -metiltestosteron (MT). Rancangan percobaan yang digunakan adalah perlakuan dosis propolis (50, 100, dan 150 μ L/L), dosis MT 2000 μ L/L, dan kontrol (tanpa penambahan propolis atau MT), dengan pengulangan 3 kali. Percobaan perendaman induk bunting dan larva umur dua hari dalam setiap perlakuan selama 24 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan perendaman induk bunting dan larva umur dua hari setelah lahir dalam larutan propolis memberikan pengaruh terhadap persentasi populasi jantan guppy dibandingkan dengan kontrol ($P<0,05$). Persentase populasi jantan guppy relatif lebih tinggi pada perlakuan perendaman larva sebesar 67,13% dibandingkan dengan perlakuan induk bunting 64,88%; keduanya dicapai pada dosis 100 μ L/L. Persentase interseks lebih tinggi dicapai pada perlakuan menggunakan MT (20,19% dan 10,12%) dibandingkan perlakuan menggunakan propolis (16,74 % dan 8,42%), pada perendaman larva dan induk bunting berturut-turut. Propolis memiliki kemampuan yang sama baiknya dengan metiltestosteron untuk memproduksi populasi jantan guppy.

Kata kunci: Guppy (*Poecilia reticulata*), hormonal sex reversal, propolis, 17α -metiltestosteron, interseks

ABSTRACT

Sarida, M., D.D. Putra & H.S.Y. Marsewi. 2011. The production of monosex male Guppy (*Poecilia reticulata*) with the immersion of pregnant female and larvae in some propolis limited doses. *Zoo Indonesia* 20(2), 1-10. Monosex population can solve the problem of reproductive pattern and can produce male guppy (*Poecilia reticulata* Peters, 1859) population as a potential ornamental fish species. In this case, viviparous pattern can give the result of different respons on the sex reversal using androgen. In this research, we investigated the effective treatment of propolis to produce monosex male guppy population. We conducted two immersion experiments using pregnant female and two days old of fry for 24 hours. Both of them used completely randomize design with five treatments and three replications. Treatments were dose (50, 100, 150 μ L) of propolis, 2000 μ L MT, and control. The results showed both of experiment gave significant different in producing male populations of guppy ($P<0.05$). Percentage of male guppy populations was relatively higher in the fry immersion treatment for 67.13% compared to pregnant female immersion 64.88%; both of them achieved at a dose of 100 mL/L. An intersex population was higher in the treatment using MT (20.19% and 10.12%) compared to treatment using propolis (16.74% and 8.42%), the immersion of fry and pregnant female, respectively. Propolis has the same ability as good as methyltestosterone to produce male guppy populations.

Keywords: Guppy (*Poecilia reticulata*), hormonal sex reversal, propolis, 17α -methyltestosterone, intersex

PENDAHULUAN

Guppy (*Poecilia reticulata* Peters, 1859) merupakan salah satu ikan gonokhoris, ikan jantan

memiliki morfologi yang lebih menarik daripada ikan betina seperti bentuk tubuh, corak warna tubuh dan sirip. Ikan guppy merupakan ikan hias yang

memiliki nilai komersil tinggi baik untuk pasar dalam negeri maupun luar negeri. Berdasarkan data profil perikanan budidaya, perkembangan ekspor ikan hias di Indonesia cenderung meningkat dengan pertumbuhan rata-rata 64,8% per tahun dalam volume (Putro *et al.* 2002; Gustiano *et al.* 2006; Huwoyon *et al.* 2008). Perkembangan jumlah ekspor mendorong peningkatan produksi guppy jantan guna memenuhi permintaan pasar. Fekunditas yang rendah (ukuran induk kecil) mempengaruhi biaya produksi dan melimpahnya jumlah anakan betina menjadi kendala dalam pemasaran ikan guppy. Memproduksi ikan dengan populasi jantan adalah salah satu strategi potensial untuk meningkatkan produksi dan keuntungan pada usaha budidaya ikan (Strussmann & Nakamura 2002).

Selama ini, produksi ikan dengan populasi jantan digunakan teknologi *hormonal sex reversal*, dengan memanfaatkan fase diferensiasi kelamin. Pada fase tersebut, gonad masih bipotensial, dan dapat diarahkan menjadi jantan atau betina (plastisitas kelamin). Plastisitas kelamin pada golongan teleostei dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan bahan kimia endokrin-aktif eksogen, selain dari faktor genetik (Blazquez *et al.* 1995; Kitano *et al.* 2000; Bertolla-Afonso *et al.* 2001; Galbreath *et al.* 2003). Bahan kimia endokrin aktif eksogen berupa 17 alpha metiltestosteron (MT) adalah bahan yang paling banyak digunakan untuk memproduksi ikan populasi jantan. Penggunaan MT akhir – akhir ini menimbulkan kritik dikarenakan MT berpotensi mengganggu sistem endokrin, hypoksia pada manusia, ikan dan hewan lain yang terdedah baik secara langsung maupun tidak langsung (Contreras-Sánchez 2000; Lagana *et al.* 2001; Vick & Hayton 2001). Oleh karena itu perlu dilakukan pencarian bahan alternatif untuk dapat memproduksi ikan populasi jantan seperti propolis. Propolis adalah bahan alami yang dikumpulkan oleh lebah madu dari tumbuh-tumbuhan yang dicampur dengan lilin yang terdapat di sarang lebah madu (Gambelunghe *et al.*

2003; Ozbilge *et al.* 2010). Di dalam propolis terdapat senyawa *flavonoid* berupa *chrysin* yang memiliki fungsi serupa aromatase inhibitor (Kellis & Vickery 1984; Ibrahim & Abul-Hajj 1990; Dhawan *et al.* 2002; Dean 2004; Jana *et al.* 2008). Inhibitor aromatase merupakan penghambat dari reaksi enzim aromatase sehingga tidak terjadi biosintesa estrogen, akibatnya hanya akan muncul efek maskulinisasi (Davis *et al.* 1990; Callard *et al.* 1990; Brodie *et al.* 1999; Sever *et al.* 1999; Dhawan *et al.* 2002; Young *et al.* 2005). Aromatase telah ditemukan pada beberapa spesies ikan (mas koki, medaka, *bitterling*, sidat, arwana, dan mas) yang eksperesinya dominan pada otak, pituitari, dan gonad (Sudrajat 2000). Pada ikan penghambatan terhadap aktivitas enzim aromatase secara fisik (suhu) dan kimia (*fradozole*, *imidazole*) menyebabkan efek maskulinisasi yang sama dengan yang ditimbulkan oleh androgen pada beberapa spesies ikan (Piferrer *et al.* 1994; Bhandari *et al.* 2003; Lee *et al.* 2003).

Penggunaan bahan yang mengandung senyawa *chrysin* seperti madu dan propolis telah dilakukan oleh Martati (2006) dan Sarida *et al.* (2010). Hasil penelitian mereka telah berhasil mengarahkan kelamin ikan guppy menjadi jantan melalui perendaman induk menggunakan madu dengan persentase jantan masing-masing 59,5% (dosis 6×10^4 ppm selama 10 jam) dan 64,07% (dosis 5×10^4 ppm selama 15 jam). Selain itu, penggunaan propolis yang diberikan lewat pakan dengan dosis 60 $\mu\text{L}/\text{kg}$ pakan dapat menghasilkan persentase ikan guppy jantan sebesar 55,17%. Selain untuk mencari bahan alternatif untuk memproduksi populasi populasi jantan, menariknya pola reproduksi pada ikan memiliki respon yang berbeda pada keberhasilan pengarahan kelamin. Pada jenis ikan ovipar pemberian hormon methyltestosteron lewat pakan atau perendaman pada fase larva sangat efektif untuk meningkatkan perolehan persentase ikan jantan hingga mencapai 100% (Hunter & Donaldson 1983; Yamazaki 1983;

Pandian & Sheela 1995; Arslan & Phelps 2003). Selain itu dilaporkan bahwa pemberian hormon methyltestosteron pada induk guppy dapat melahirkan anak jantan sebesar 100% (Takahashi 1975; Zairin *et al.* 2002). Sehingga pada penelitian ini dilakukan percobaan pada stadia induk dan larva dengan tujuan untuk mengembangkan strategi untuk produksi populasi jantan guppy melalui perendaman induk yang sedang bunting dan larva guppy dalam larutan propolis dengan berbagai aras dosis. Selain itu, karena minimnya informasi tentang penggunaan propolis dalam *sex reversal* maka perlu diteliti pengaruh dan dosis yang terbaik untuk memproduksi populasi jantan guppy.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2010 sampai Januari 2011, di Laboratorium Basah Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Induk guppy jantan dan betina diperoleh dari pembudidaya guppy di Natar, Lampung Selatan dengan bobot rata - rata $5,2 \text{ g} \pm 6,8$ dan $3,8 \text{ g} \pm 5,2$. Percobaan ini dilakukan dengan merendam induk yang sedang bunting dan larva umur 2 hari setelah lahir dengan beberapa tahapan yaitu:

Persiapan: Pada semua percobaan, induk diaklimatasi dalam wadah akuarium $50 \times 40 \times 40 \text{ cm}^3$ yang terpisah antara jantan dan betina masing-masing 50 ekor dalam 10 liter dan 120 ekor dalam 20 liter selama 4 hari dengan pemberian pellet P0 (kadar protein 45%) secara *ad libitum* sebanyak 3 kali sehari (cacing sutera dua kali sehari, dan *Daphnia* satu kali sehari di pagi hari). Selanjutnya induk jantan dan betina dipasangkan dalam wadah akuarium berukuran $30 \times 20 \times 30 \text{ cm}^3$ selama lebih kurang 10 hari dengan rasio jantan dan betina 2:3. Kemudian dilakukan pembuatan larutan propolis stok dengan cara melarutkan propolis sebanyak 50, 100, 150 $\mu\text{l/l}$ ke dalam 1 ml ethanol 95%; dan larutan MT dengan melarutkan 2 mg MT dalam 1 ml ethanol 95%

(Arslan & Phelps 2003), lalu dilarutkan dalam 1 liter air dalam toples perendaman untuk masing-masing perlakuan.

Perendaman dalam larutan Propolis: Perendaman untuk percobaan induk bunting dilakukan pada hari ke tujuh setelah pemijahan sedangkan perendaman larva dilakukan pada larva umur dua hari pada masing-masing perlakuan selama 24 jam. Dosis yang diujikan adalah propolis (50, 100, dan 150 $\mu\text{l/L}$), MT (2000 $\mu\text{l/L}$), dan tanpa penambahan propolis atau MT, dan diulang sebanyak 3 kali. Dengan kepadatan induk betina 3 ekor / liter dan larva 30 ekor / liter.

Pemeliharaan: Setelah induk diberi perlakuan kemudian ikan dipelihara dalam wadah akuarium $30 \times 20 \times 30 \text{ cm}^3$ sampai melahirkan kurang lebih 3 sampai 5 hari setelah perendaman. Selanjutnya larva diberi kuning telur sampai hari ke tiga dan dilanjutkan dengan pemberian *Daphnia* sampai berumur satu minggu dan dilanjutkan dengan kombinasi cacing beku dan pellet P0 dengan kadar protein kasar 45%. Begitu juga dengan larva setelah diberi perlakuan, dipindahkan ke wadah pemeliharaan berupa akuarium dengan dimensi $30 \times 20 \times 30 \text{ cm}^3$. Larva diberi kuning telur sampai hari ke tiga dan dilanjutkan dengan pemberian *Daphnia* sampai berumur satu minggu dan dilanjutkan dengan kombinasi cacing beku dan pellet P0 dengan kadar protein kasar 45%. Pemberian pakan pada larva guppy dilakukan secara *ad libitum* sebanyak 3 kali sehari. Pembuangan kotoran pada dasar akuarium (penyifonan) dengan menggunakan selang dilakukan sekali setiap hari. Pergantian air dilakukan setiap hari sebanyak 20 - 30% dari volume awal dan diberikan aerasi yang cukup.

Tahap Pengamatan: penentuan individu jantan, betina dan intersex dilakukan setelah tiga bulan pemeliharaan dengan panjang ikan sekitar 3 – 6 cm, sampel diambil acak 15 ekor untuk setiap akuarium. Lalu diamati secara morfologi dan histologi. Pengamatan morfologi untuk membedakan antara ikan

jantan dan betina dengan keberadaan gono-podium pada ikan jantan, penampakan warna dan bentuk sirip ekor yang lebar. Pengamatan histologi gonad dilakukan dengan pewarnaan asetokarmin dimana gonad diamati di bawah mikroskop binokuler menggunakan metode *squash* (Guerrero & Shelton 1974).

Tahap Ekstraksi dan Penyiapan Propolis:

a. Ekstraksi dan penyiapan sampel

Sampel propolis diekstraksi dengan etanol 70% kemudian senyawa propolis hasil ekstraksi di-analisis GC-MS baik secara langsung atau setelah *derivatisation* dengan TMS.

b. Analisis GC-MS

Analisis GC-MS dilakukan dengan menggunakan metode pemrograman suhu. Dimana kolom suhu awal pada oven sebesar 80 °C ditahan selama 5 menit, kemudian dinaikkan menjadi 305 °C dengan rata-rata peningkatan suhu 10 °C/menit, lalu ditahan selama 55 menit. Total jangka waktu adalah 82,5 menit. Suhu dari *port injector* dan *interface* ditetapkan pada suhu 250 °C dan 310 °C. Laju alir gas pembawa (helium) 0,5 ml/menit, dengan energi ionisasi yang ditetapkan sebesar 70 eV. Spektrum massa dikumpulkan melalui *scanning* dari 28 m/z sampai 600 m/z dengan interval 0,5 detik.

c. Identifikasi senyawa

Identifikasi senyawa dalam propolis dilakukan menggunakan Kromatografi Gas-Spektrometer Massa.

Analisis data: Data dianalisis dengan SAS versi 6.12 software (SAS Institute, Cary, NC, USA), uji Levine, uji Duncan test (Steel & Torrie 1993). Pengaruh perlakuan propolis dan MT terhadap rerata persentase jantan, tingkat kelulusan hidup, intersex dianalisis menggunakan ANOVA dengan rancangan acak lengkap dengan lima perlakuan dan empat ulangan. Jika perlakuan memberikan pengaruh nyata ($\alpha = 0,05$), dilanjutkan dengan uji Duncan's menggunakan nilai tengah perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tingkat keberhasilan pengarahan kelamin yang dilakukan dengan merendam induk bunting dan larva berumur 2 hari dalam larutan propolis berbagai aras dosis selama 24 jam mampu menghasilkan guppy jantan relatif lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol ($P<0,05$), dan relatif sama dengan penggunaan MT ($P>0,05$). Rata-rata persentase jantan tertinggi pada kedua percobaan pada dosis perlakuan 100 $\mu\text{l/L}$ yaitu sebesar $64,88\pm3,98\%$; $67,13\pm3,48$ dan persentase jantan terendah pada kontrol sebesar $36,10\pm4,77\%$; $34,69\pm3,10$ (Tabel 1). Hal ini membuktikan bahwa propolis berperan dalam pembentukan guppy jantan dan membuktikan bahwa proses seks diferensiasi pada guppy ini dapat terjadi pada saat induk bunting dan larva umur 2 hari. Pada penelitian ini, propolis menghasilkan populasi jantan sama tingginya dengan penggunaan MT sebesar $63,33\pm4,10\%$ dan $62,70\pm6,63\%$ (Tabel 1). Walaupun belum bisa sampai 100% seperti yang pernah dilaporkan pada penelitian yang dilakukan oleh Arfah tahun 1997 yang mampu menghasilkan 100% jantan pada temperatur 26°C melalui metode perendaman induk yang sedang bunting dengan menggunakan MT, namun penggunaan propolis memberikan peluang untuk tersedianya bahan alternatif untuk memproduksi populasi jantan.

Beberapa faktor yang mempengaruhi keberhasilan pengarahan jenis kelamin adalah jenis ikan, jenis hormon, dosis hormon, lama perlakuan, waktu dimulainya perlakuan dan suhu air (Hunter and Donaldson 1983; Piferrer 2001; Strussmann *et al.* 2005). Berdasarkan hasil penelitian tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara perendaman induk yang sedang bunting maupun larva dalam memproduksi populasi jantan guppy, namun waktu awal pemberian pada induk yang bunting menyulitkan untuk mengestimasi umur kebuntingan dibandingkan dengan perendaman larva yang jelas umurnya. Hal ini terkait dengan salah satu faktor

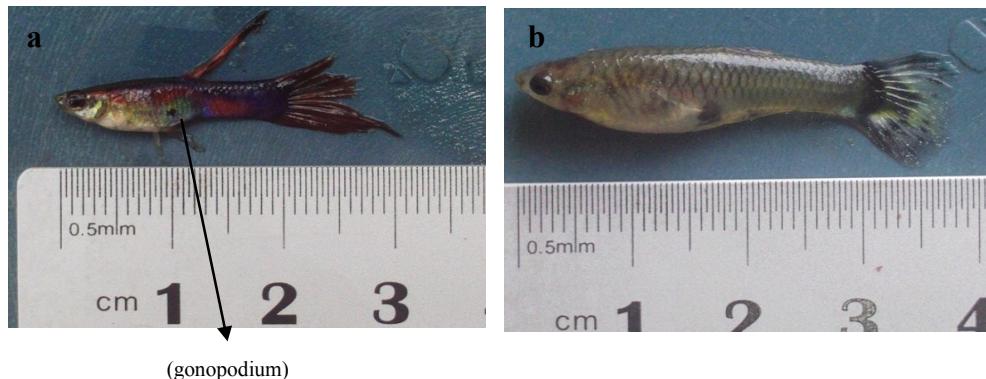
Tabel 1. Hasil perlakuan perendaman induk bunting dan larva guppy dalam larutan propolis berbagai aras dosis, 17 α -metiltestosteron dalam produksi guppy (*Poecilia reticulata*) jantan terhadap beberapa parameter

Stadia Parameter	A	B	C	D	E	Perlakuan ($\mu\text{L/L}$)
Induk bunting						
Persentase Jantan	36.10 \pm 4.77 ^c	63.33 \pm 4.10 ^{ab}	57.51 \pm 2.30 ^{ab}	64.88 \pm 3.98 ^a	55.91 \pm 6.98 ^b	
Intersex	0 \pm 0 ^c	10.12 \pm 3.72 ^{ab}	0 \pm 0 ^c	8.42 \pm 4.72 ^{ab}	6.21 \pm 2.59 ^b	
Survival Rate	63.42 \pm 5.28 ^a	68.67 \pm 10.75 ^a	70.16 \pm 7.29 ^a	78.88 \pm 10.99 ^a	60.79 \pm 3.87 ^a	
Larva						
Persentase Jantan	34.69 \pm 3.10 ^a	62.70 \pm 6.63 ^c	54.18 \pm 3.23 ^b	67.13 \pm 3.48 ^c	54.68 \pm 4.88 ^b	
Intersex	0 \pm 0 ^a	20.19 \pm 7.54 ^b	0 \pm 0 ^s	16.74 \pm 7.56 ^b	12.42 \pm 5.94 ^b	
Survival Rate	58.00 \pm 5.16 ^a	58.00 \pm 6.93 ^a	61.00 \pm 3.83 ^a	57.50 \pm 6.87 ^a	55.00 \pm 3.83 ^a	

*huruf *superscript* yang sama menunjukkan bahwa perlakuan tidak berbeda nyata pada selang kepercayaan 95% pada uji lanjut Duncan

Keterangan:

- A : 0 (Tanpa penambahan MT atau propolis)
- B : MT 2000 $\mu\text{L/L}$
- C, D, E : Propolis 50 , 100, dan 150 $\mu\text{L/L}$



Gambar 1. Guppy jantan (a) dan guppy betina (b)

yang mempengaruhi pengarahan kelamin pada induk bunting adalah waktu awal pemberian. Keberhasilan perubahan fenotipik kelamin dengan pemberian hormon steroid membutuhkan waktu dimulainya pemberian hormon sebelum diferensiasi seks gonad (Yamamoto 1969). Menurut penelitian sebelumnya dilaporkan bahwa guppy memiliki waktu mulai diferensiasi kelamin pada saat embriogenesis dan larva (Arfah 1997; Piferrer 2001), bahkan sampai larva berumur 12 hari (Arfah 1997). Hal serupa juga dinyatakan oleh Hunter & Donaldson (1983), bahwa diferensiasi testis pada ikan guppy terjadi

sekitar 8 hari sebelum dilahirkan. Dalam penelitian ini dilakukan perendaman induk yang sedang bunting (hari ke tujuh setelah pemijahan) dan larva umur 2 hari dalam larutan propolis dengan berbagai aras dosis, dengan pertimbangan periode labil untuk terbentuknya diferensiasi kelamin pada guppy, dan terbukti memberikan hasil populasi jantan yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol.

Dosis dan lama perendaman berperan dalam pengarahan kelamin guppy jantan, seperti yang dilaporkan oleh Sarida *et al.* 2010 bahwa penggunaan madu dosis 50 ml/l selama 15 jam pe-

rendaman induk bunting menghasilkan persentase jantan 64,07%. Pada penelitian ini percobaan propolis dosis 100 $\mu\text{l/L}$ dengan lama perendaman selama 24 jam pada induk bunting dan larva umur 2 hari mampu untuk menghasilkan individu jantan sebesar 64,88% dan 67,13%. Hal ini menunjukkan bahwa madu dan propolis, memiliki tingkat kemampuan yang relatif sama dalam memproduksi populasi jantan guppy. Menariknya, penggunaan madu dalam jumlah yang cukup tinggi (mL) dengan lama perendaman kurang dari 24 jam, sedangkan penggunaan propolis dalam jumlah sangat sedikit (μL) dengan waktu perendaman 24 jam. Hal ini diduga kandungan bahan aktif berupa chrysin berperan dalam pengarahan kelamin jantan pada guppy dimana kandungan *chrysin* pada madu lebih rendah dibandingkan pada propolis. Dari hasil analisis GC-MS diperoleh kandungan *chrysin* dalam propolis sebesar 7,22% dengan kode C₁₅ H₁₀ O₄. Hasil ini lebih rendah dibandingkan hasil yang diperoleh Siliqi & Koc (2006) sebesar 10,62%. Namun, dengan kadar *chrysin* sebesar 7,22 %, propolis yang kami gunakan sudah mampu menghasilkan populasi jantan guppy sebesar 64,88% lebih tinggi, dibandingkan dengan penggunaan MT yang dilaporkan oleh Huwoyon *et al.* (2008), yang hanya menghasilkan 58,41% populasi jantan guppy.

Metode pemberian hormon juga memberikan pengaruh yang berbeda terhadap keberhasilan pengarahan kelamin, seperti yang dilaporkan oleh Sarida *et al.* 2010, bahwa induk bunting guppy yang direndam selama 15 jam dalam larutan madu dengan dosis 25, 50, 75 ml/l menghasilkan populasi ikan jantan yang bervariasi (54,29 – 64,07%). Selain itu, perlakuan lewat pakan menggunakan propolis diberikan pada larva ikan guppy diperoleh persentase jantan tertinggi pada dosis propolis 60 $\mu\text{l/kg}$ pakan yaitu sebesar 55,17% (Ukhroy 2008). Hasil penelitian lain yang juga merendam larva dengan MT dilaporkan oleh Huwoyon

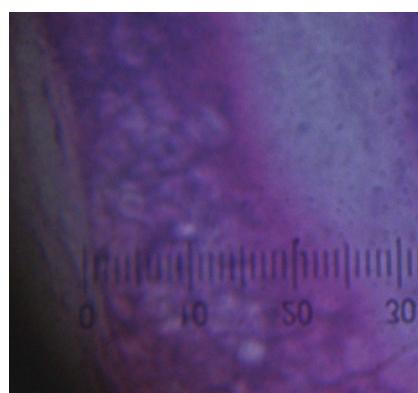
et al. (2008) bahwa percobaan dengan dosis 5 – 20 ppm tidak memberikan perbedaan yang nyata terhadap pembentukan individu jantan dan menghasilkan persentase guppy jantan tertinggi pada 10 ppm sebesar 58,41%. Hal ini membuktikan bahwa metode perendaman menggunakan induk yang sedang bunting maupun larva memberikan hasil individu jantan relatif lebih tinggi daripada lewat pakan. Hal ini diduga perlakuan lewat pakan ada proses “leaching” dimana terjadi pencucian bahan aktif di dalam air sehingga mengurangi efektivitas bahan yang diberikan selain kemungkinan degradasi oleh enzim pencernaan sehingga rusak sebelum bekerja (Zairin *et al.* 2002).

17 α -metiltestosteron (MT) adalah salah satu androgen sintetis yang memiliki kemampuan men-garomatisasi (aromatizable) menjadi estrogen (Crim *et al.* 1981). Pada beberapa spesies, penggunaan MT pada dosis tinggi dalam waktu yang singkat, dapat menyebabkan ikan steril (Hunter & Donaldson 1983; Pandian & Sheela 1995; Arslan & Phelps 2004). Selain itu, penggunaan MT dalam dosis tinggi atau perlakuan yang diberikan dalam jangka panjang menghasilkan proporsi betina lebih tinggi pada ikan (Piferrer & Donaldson 1991; Piferrer *et al.* 1994; Li *et al.* 2006). Diduga MT dapat mengaromatisasi androgen menjadi estrogen, dan meng-hambat sintesa androgen dari dalam ikan yang secara genetik jantan (Lin *et al.* 2006). Pada penelitian ini tidak ditemukan adanya peningkatan signifikan dalam jumlah betina ataupun ikan steril. Persentase individu intersex relatif lebih banyak dihasilkan pada penggunaan MT dibandingkan propolis, lalu perlakuan menggunakan larva juga memiliki persentase yang lebih tinggi dibandingkan dengan menggunakan induk bunting. Hal ini diduga pada saat embriogenesis tingkat sensitifitas pengara-han kelamin masih sangat tinggi dibandingkan dengan larva yang sudah mendekati fase gonad definitif terkait dengan pembentukan bakal gonad

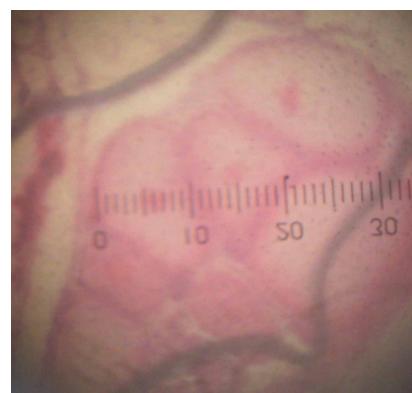
yang sudah dimulai waktu embriogenesis. Munculnya individu interseks disebabkan beberapa hal diantaranya adalah periode waktu yang telah lanjut, ikan sudah mulai terdiferensiasi sehingga chrysin dalam propolis menjadi kurang efektif dan juga kurang optimalnya dosis propolis yang digunakan, akibatnya chrysin tidak sempurna dalam memacu dan mengontrol kelamin. Gonad individu jantan, betina dan intersex dapat teramati dengan jelas setelah dilakukan histologi (Gambar 2).

Tingkat kelangsungan hidup ikan guppy terhadap perendaman induk yang sedang bunting dan larva berumur 2 hari dalam larutan propolis selama 24 jam memberikan pengaruh yang sama ($P>0,05$). Hal ini diduga propolis tidak mengganggu kelangsungan hidup larva selama penelitian dan ini relatif aman. Suhu selama penelitian berlangsung berkisar antara $25,9^{\circ}\text{C}$ sampai $28,3^{\circ}\text{C}$ sehingga hal

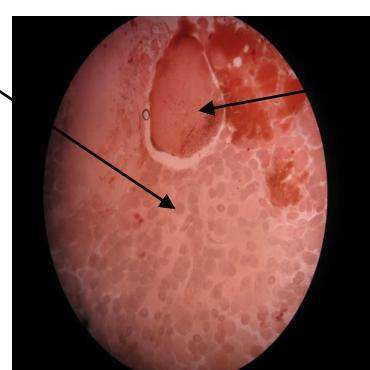
ini diduga tidak memberikan pengaruh terhadap pengarahan kelamin jantan. Oksigen terlarut DO (*dissolved oxygen*) merupakan kadar oksigen yang terlarut di dalam air. Selama penelitian DO berkisar antara $4,12\text{ mg/l}$ sampai $5,77\text{ mg/l}$. Kadar DO yang baik untuk menunjang kehidupan ikan harus lebih dari 2 mg/l . Apabila kurang dari 2 mg/l tidak boleh terpapar melebihi waktu 8 jam dari 24 jam. Kadar DO $0,3$ sampai 1 mg/l akan mengakibatkan kematian pada ikan bila terpapar dalam waktu lama (Effendi 2003). Nilai pH selama penelitian berada dalam kisaran $6 - 7$ masih termasuk dalam kisaran pH $6,5 - 9$ yang baik untuk pertumbuhan dan reproduksi ikan (Boyd 1990). Kandungan pH yang ideal bagi produktivitas perairan adalah $5,5 - 6,5$ sedangkan kisaran pH yang baik untuk pemeliharaan ikan adalah $7 - 8,5$ (Effendi 2003).



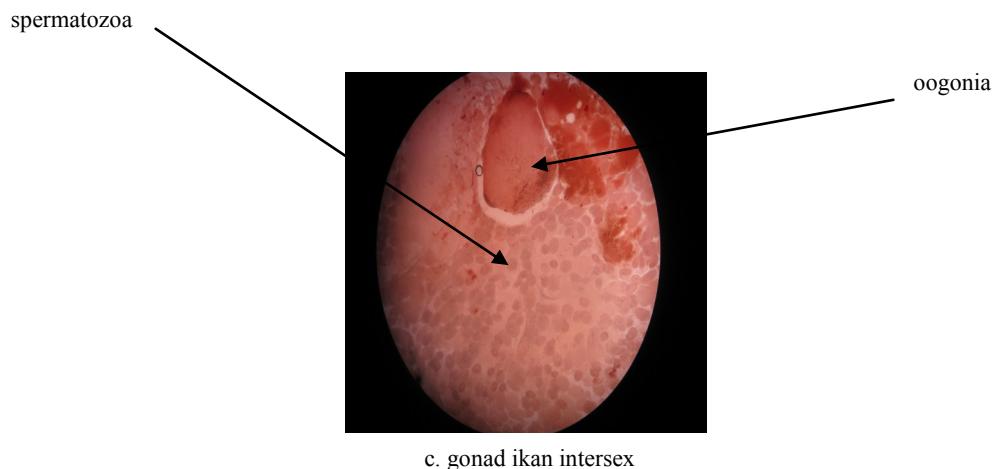
a. gonad jantan



b. gonad ikan betina



c. gonad ikan intersex



Gambar 2. Histologi Gonad dengan asetokarmin (a) jantan, (b) betina, (c) intersex. Perbesaran $40\times$

KESIMPULAN DAN SARAN

Perlakuan perendaman induk bunting dan larva umur dua hari dalam propolis berbagai aras dosis memberikan pengaruh nyata terhadap produksi populasi jantan guppy ($P < 0,05$). Dosis terbaik untuk kedua percobaan fase perendaman adalah 100 $\mu\text{l/L}$ propolis, dengan persentase populasi jantan guppy relatif sama tinggi yaitu 67,13% pada perendaman larva, sedangkan pada perendaman induk sebesar 64,88%. Propolis dapat dijadikan alternatif untuk memproduksi populasi jantan guppy.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Bapak Supaya (Staf Laboratorium Kimia Organik, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta) atas bantuannya dalam membaca analisis GCMS.

DAFTAR PUSTAKA

- Arfah, H. 1997. Efektifitas hormon 17α -metiltestosteron dengan metode perendaman induk terhadap nisbah kelamin dan fertilitas keturunan ikan guppy (*Poecilia reticulata*) (Tesis). Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Arslan, T., R.P. Phelps. 2003. Masculinization of *bluegill leporinus macrochirus* by multiple androgen immersion and effect of percutaneous permeation enhancers. Journal World Aquaculture Society, 34: 403–411.
- Arslan, T., R.P. Phelps. 2004. Production of mono-sex male black crappie, *Pomoxis nigromaculatus*, populations by multiple androgen immersion. Journal Aquaculture, 234: 561–573.
- Bertolla-Afonso, L.O., G.J. Wassermans, R. Teresina. 2001. Sex reversal in nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) using a nonsteroidal aromatase inhibitor. Journal of Experimental Zoology, 290: 177 -181.
- Bhandari, R.K., M. Higa, H. Komuro, S. Nakamura, M. Nakamura. 2003. Treatment with an aromatase inhibitor induces complete sex change in the protogynous honeycomb grouper (*Epinephelus merra*). Fish Physiology and Biochemistry, 28: 141-142.
- Blazquez, M. F. Piferrer, S. Zanuy, M. Carillo, E.M. Donaldson. 1995. Development of sex control techniques for European sea bass (*Dicentrarchus labrax L.*): aquaculture: effect of dietary 17- methyltestosterone prior to sex differentiation. Journal Aquaculture, 135: 329– 342.
- Boyd, C.E. 1990. Water quality management for pond fish culture. Elsevier Scientific Publishing Company. Amsterdam. 318 p.
- Brodie, A., Q. Lu, B. Long. 1999. Aromatase and its inhibitors. Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 69: 205-210.
- Callard, G., B. Schlinger, M. Pasmanik. 1990. Non-mammalian vertebrate models in studies of brain-steroid interaction. Journal of Experimental Zoology, 4: 6-16.
- Contreras-Sánchez, W.M., M.S. Fitzpatrick, C.B. Schreck. 2000. Masculinization of nile tilapia by immersion in *trenbolone acetate*. World Aquaculture Society, New Orleans, LA, p. 65.
- Crim, L.W., R.E. Peter, R. Billard. 1981. Onset of gonadotropin hormone accumulation in immature trout pituitary gland in response to estrogen or aromatizable androgen steroid hormones. Journal General Comparative Endocrinology, 44: 374–381.
- Davis, R.B., B.A. Simco, C.A. Groudie, N.C. Parker, W. Couldwell, P. Snellgrove. 1990. Hormonal sex manipulation and evidence for female in *Channel catfish*. General and Comparative Endocrinology, 78 (2): 218-223.
- Dean, W. 2004. Chrysin: is it an effective aromatase inhibitor? Vitamin Research News, 18(4). <http://www.vrp.com/articles.aspx?page=LIST&ProdID=1208&qid=&zTYPE=2>
- Dhawan, K., S. Kumar, A. Sharma. 2002. Beneficial effects of chrysin and benzoflavone on virility in 2-year-old male rats. Journal of Medicinal Food, 5: 43–48.
- Effendi, H. 2003. Telaah kualitas air bagi pengelolaan sumber daya dan lingkungan perairan. Kanisius. Yogyakarta.
- Galbreath, P.F., Adams, N.D., Sherrill, L.W., III. 2003. Successful sex reversal of brook trout with 17α -methylhydroxytestosterone treatments. North American Journal of Aquaculture, 65: 235-239.
- Gambelunghe, C., R. Rossi, M. Sommavilla, C. Ferranti, R. Rossi, C. Ciculi, S. Gizzi, A. Micheliotti, S. Rufini. 2003. Effects of chrysin on urinary testosterone levels in human males. Journal of Medicinal Food, 6: 387-390.
- Guerrero, R.D., W.L. Shelton. 1974. An acetocarmine squash method for sexing juvenile fishes. The Prog. Fish-Cult. p. 36, 56.
- Gustiano, R., Y. Suryanti, E. Kusrini. 2006. Perbaikan kualitas dan pengembangan ikan hias air tawar. Jurnal Media Akuakultur, 1: 59-63.
- Hunter, G.A., E.M. Donaldson. 1983. Hormonal sex control and its application to fish culture. In: Hoar, W.S., Randall, D.J., Donaldson, E.M. (eds.). Fish Physiology, vol. 9, Part B. Academic Press. New York. pp. 223- 291.

- Huwoyon, G. H., Rustidja, G. Rudhy. 2008. Pengaruh pemberian hormon methyltestosterone pada larva guppy (*Poecilia reticulata*) terhadap perubahan jenis kelamin. Jurnal Zoo Indonesia, 17(2): 49-54.
- Ibrahim, A.R., Y.J. Abul-Hajj. 1990. Aromatase inhibition by flavonoids. Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 37: 257-260.
- Jana, K., Y. Xiangling, B.S. Randolph, C. Jau-Jiin, K.P. Akhilesh, M.S. Douglas, G. Paula, W. XingJia. 2008. Chrysin, a natural flavonoid enhances steroidogenesis and steroidogenic acute regulatory protein gene expression in mouse Leydig cells. Journal of Endocrinology, 197: 315–323 DOI: 10.1677/JOE-07-0282 0022-0795/08/0197-315
- Kellis, J.T.Jr., L.E. Vickery. 1984. Inhibition of human estrogen synthetase (aromatase) by flavones. Journal Science, 225: 1032–1034.
- Kitano, T., K. Takamune., Y. Nagahama, S.Abe. 2000. Aromatase inhibitor and 17 alpha -methyltestosterone cause sex-reversal from genetical females to phenotypic males and suppression of P450 aromatase gene expression in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). Journal Molecular Reproduction and Development, 56: 1-5.
- Lagana, A., G. Fago, A. Marino, D. Santarelli. 2001. Liquid chromatography tandem mass spectrophotometry applied to the analysis of natural and synthetic steroids in environmental waters. Journal Analytical Letters, 34: 913 – 926.
- Lee, P.S., H.R. King, N.W. Pankhurst. 2003. A comparison of aromatase inhibitors for the sex reversal of female Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Fish Physiology and Biochemistry, 28: 159-160.
- Li, G.L., X.C. Liu, Y. Zhang, H.R. Lin. 2006. Effect of aromatizable and nonaromatizable androgens on the sex inversion of red-spotted grouper (*Epinephelus akaara*). Fish Physiology and Biochemistry, 32: 25-33
- Martati, E. 2006. Efektivitas madu terhadap nisbah kelamin ikan gapi (*Poecilia reticulata* Peters) (Skripsi). Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Ozbilge, H., E.G. Kaya, S. Albayrak, S. Silici. 2010. Anti- leishmanial activities of ethanolic extract of kayseri propolis. African Journal of Microbiology Research, 4(7): 556-560. <http://www.academicjournals.org/ajmr>.
- Pandian, T.J., S.G. Sheela. 1995. Hormonal induction of sex reversal in fish. Journal Aquaculture, 138: 1-22.
- Piferrer, F. & E.M. Donaldson. 1991. Dosage-dependent differences in the effect of aromatizable and nonaromatizable androgens on the resulting phenotype of coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Fish Physiol. Biochem, 9: 145-150.
- Piferrer, F., S. Zanuy, M. Carrillo, I.I. Solar, R.H. Devlin, E.M. Donaldson. 1994. Brief treatment with an aromatase inhibitor during sex differentiation causes cromosomally female salmon to develop as normal, functional males. Journal of Experimental Zoology, 270: 255-262.
- Piferrer, F. 2001. Endocrine sex control strategies for feminization of teleost fish. Journal Aquaculture, 197: 229- 281.
- Putro, S., A. Purnomo, S. Muhdi, E. Setiabudi, Isjaturradhijah, D. Hertanto, U.S. Dahlia. 2002. Direktori Ikan Hias. Ditjen PK2P, Departemen Kelautan dan Perikanan.
- Strussmann, C. A., M. Karube, L.A. Miranda. 2005. Methods of sex control in fishes and an overview of novel hypotheses concerning the mechanisms of sex differentiation. In: Pandian, T.J., Strussmann, C.A, Marian, M.P. (eds.). Fish Genetics and Aquaculture Biotechnology. pp. 65-79.
- Strussmann, C. A., M. Nakamura. 2002. Morphology, endocrinology, and environmental modulation of gonadal sex differentiation in teleost fishes. Fish Physiology Biochemical, 26:13– 29.
- Sarida, M., Tarsim, E. Barades. 2010. Penggunaan madu dalam produksi ikan guppy jantan (*Poecilia reticulata*). Prosiding Forum Inovasi teknologi Akuakultur. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan Budidaya, Badan Penelitian dan Pengembangan Kelautan dan Perikanan, Departemen Kelautan dan Perikanan Indonesia. Buku 2: 831-836.
- Sudrajat, A. O. 2000. Molecular Biological Studies on Cytochrome P-450 Aromatase in Fishes (Disertation). Dept. Of Aquatic Bioscience. University of Tokyo. Tokyo. 100p.
- Sever, D.M., T. Halliday, V. Waight, J. Brown, H.A. Davies, E.C. Monarty. 1999. Sperm-storage in females of the smooth newt (*Triturus V. vulgaris* L.). I. Ultrastructure of the spermathecal during the breeding season. Journal of Experimental Zoology, 283: 51- 70.
- Silici, S., A.N. Koc. 2006. Comparative study of in vitro methods to analyse the antifungal activity of propolis against yeasts isolated from patients with superficial mycoses. Journal Letter Applied Microbiology, 43: 318-24.
- Steel, R.G., J.H. Torrie. 1993. Prinsip dan prosedur statistika suatu pendekatan biometrik. PT. Gramedia Pustaka. Jakarta. 168 hal.
- Takahashi, H. 1975. Functional feminization of female guppy (*Poecilia reticulata*) influenced by methyltestosterone before birth. Bulletin Japanese Society of Science Fisheries, 41: 499-526.

- Ukhroy, N.U. 2008. Efektivitas propolis terhadap nisbah kelamin guppy *Poecilia reticulata* (Skripsi). Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Vick, A.M., W.L. Hayton. 2001. Methyltestosterone pharmacokinetics and oral bioavailability in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal Aquatic Ecotoxicology, 52: 177 – 188.
- Yamamoto, T. 1969. Sex differentiation. In: Hoar WS, Randall, D.J. (eds): Fish physiology. Academic Press. New York. pp. 117–175.
- Yamazaki, F. 1983. Sex control and manipulation in fish. Laboratory of Embryology and Genetics, Faculty of Fisheries, Hokkaido University. Hakodate.
- Young, G., M. Kusakabe, N. Ikumi. 2005. Gonadal steroidogenesis in teleost fish. In: Philipa M. and Nancy S. (eds). Hormones and their receptors in fish reproduction. Molecular Aspects of Fish and Marine Biology, 4: 155-223.
- Zairin, M. Jr., A. Yunianti, R.R.S.P.S. Dewi, K. Sumantadinata. 2002. Pengaruh lama waktu perendaman induk di dalam larutan hormon 17α methyltestoteron terhadap nisbah kelamin ikan gupi (*Poecilia reticulata* Peters). Jurnal Akuakultur Indonesia 1:47-54.