

**PERKEMBANGAN OVARIUM IKAN WADER PARI (*Rasbora lateristriata*
Bleeker, 1854): PENDEKATAN HISTOLOGI**

**THE DEVELOPMENT OF OVARIAN WADER PARI FISH (*Rasbora lateristriata*
Bleeker, 1854): HISTOLOGICAL APPROACH**

Zulfadhli¹ Nastiti Wijayanti² Bambang Retnoaji²

¹Program Studi Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Teuku Umar, Aceh Barat

²Program Studi Biologi, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

Korespondensi : bambang.retnoaji@ugm.ac.id

Abstract

This study was to determine the development of ovarian wader pari fish (*Rasbora lateristriata*) as part of the process of reproduction, which is the basic for information to *R. lateristriata* management. This study was done in October 2014 - April 2015 at Histology and Embryology Animal Laboratory of Gadjah Mada University. The object of the research was larva *R. lateristriata* with average weight of 0.02 grams. They were kept during 3 months. The result data of histology were analyzed and observed descriptively. The results of observation showed that ovarian *R. lateristriata* indicated asynchronous development patterns. The development of ovarian in the 1st month was at the chromatin nucleolar phase, while perinucleolar phase appeared in the 2nd and 3rd month.

Keywords: *Rasbora lateristriata*, development, ovarian, histology

I. Pendahuluan

Ikan wader pari (*Rasbora lateristriata*) merupakan ikan air tawar, yang hidup di alam liar seperti sungai atau sawah. Penyebaran ikan wader di Indonesia sangat luas, antara lain Sumatra, Jawa, Kalimantan, Bali, Nusa Tenggara, dan Sulawesi (Budiharjo, 2002). Ikan wader bisa dijadikan alternatif bahan pangan baru yang penting bagi masyarakat sebagai ikan konsumsi dengan cita rasa daging yang lezat, sehingga dinilai sebagai ikan “liar” yang mempunyai potensi ekonomi tinggi. Tingginya permintaan pasar menjadikan eksploitasi ikan wader sangat tinggi, sehingga dikhawatirkan ikan ini terancam keberadaannya di alam. Salah satu cara untuk mengatasi hal tersebut dengan usaha domestikasi dan budidaya intensif ikan wader, dengan harapan kedepannya para penjual ikan tidak lagi menangkap di habitat alami yang menyebabkan ikan wader terancam keberadaannya. Di sisi lain, informasi penting dan mendasar biologi ikan seperti perkembangan gonad yang merupakan bagian dari proses reproduksi belum tersedia.

Ovarium merupakan organ reproduksi pada ikan betina. Proses perkembangan gonad betina pada ikan teleostei dipengaruhi oleh faktor internal dan eksternal. Faktor internal seperti kinerja hormon dan faktor eksternal dapat berupa kondisi lingkungan dan asupan makanan (Norris, 2007). Pengamatan tahap perkembangan gonad dapat dilakukan secara mikroskopis (histologi). Keunggulan pengamatan secara histologi dapat memberikan informasi yang akurat dan mendetail di tingkat jaringan. Kajian yang berhubungan dengan perkembangan ovarium ikan yang pengamatannya dilakukan

secara histologi sudah banyak dilakukan oleh peneliti, seperti pada *Zebrafish* (Clelland et al., 2009); *Cyprinus carpio* (Shabanipour & Hossayni, 2010); *Melichthys niger* (Branco et al., 2013).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perkembangan ovarium ikan wader pari sebagai bagian dari proses reproduksi, yang merupakan informasi dasar dalam pengelolaan ikan wader pari. Dengan harapan memberikan informasi berupa pola/tipe perkembangan ovarium dan fase perkembangannya.

II. Metode Penelitian

2.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan oktober 2014 sampai april 2015 bertempat di Laboratorium Histologi dan Embriologi Hewan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada.

2.2. Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan wader pari (*Rasbora Lateristriata*) sebagai hewan uji. Bahan-bahan pembuatan preparat histologi (larutan Bouin, Alkohol (30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 96%, absolut), Akuades, Toluol, Parafin, Xylo, Mayer albumin, Ehrlich hematoxylin, Eosin Y, larutan Acid fuchsin 0,1%, larutan PMA 1%, larutan Mallory, Entelan, kertas label, kertas penghisap, dan pakan ikan.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah akuarium sebagai wadah, serok, selang, aerasi, ember, dissecting set, cawan petri, timbangan analitik, silet, botol flakon, oven, mikrotom putar (RMT-20), pisau mikrotom, holder kayu, kuas, pisau scalpel, kaca benda, cover gelas, hot plate, pipet, layar LCD (Philips 191EL 19”), mikroskop cahaya dan kamera (Canon Eos 1100d).

2.3. Prosedur Penelitian

2.3.1. Pemeliharaan ikan

Pemeliharaan ikan selama penelitian dalam akuarium dengan ukuran 30x20x15cm yang diisi air sebanyak 70%. Air yang digunakan berasal dari PDAM dan telah diendapkan selama 2 hari. Aerasi dipasangkan pada setiap akuarium untuk menyuplai oksigen terlarut. Ikan yang digunakan merupakan larva wader pari (*Rasbora Lateristriata*) dengan berat rata-rata 0,02 gram. Sampel ikan uji diaklimasi dalam wadah pemeliharaan terlebih dahulu. Pemeliharaan ikan dalam akuarium dilakukan selama 3 bulan. Frekuensi pemberian pakan sebanyak 3 kali sehari (pagi hari pukul 07.00-07.30 wib, siang hari pukul 12.00-12.30, sore hari pukul 17.00-17.30 wib) secara ad libitum. Pakan yang diberikan berupa pelet merek takari, dengan kandungan nutrisi yaitu: protein 30 %, lemak 3 %, serat 4 %, abu 12 %, kadar air 12 %. Pengelolaan kualitas air dilakukan dengan penyifonan dan pergantian air. Penyifonan dilakukan untuk membuang kotoran didasar akuarium menggunakan selang kecil, dilakukan sebelum pemberian pakan. Pergantian air 1-2 hari sekali sebanyak 25% dari total volume air.

2.3.2. Pembuatan Preparat Histologi

Perkembangan ovarium diamati dengan pembuatan preparat histologis menggunakan metode parafin. Pewarnaan menggunakan Hematoxylin Eosin (HE). Pengambilan data dengan pengamatan fase perkembangan, perhitungan proporsi dan diameter folikel ovarium.

Prosedur pembuatan preparat histologis adalah :

1. Jaringan target (ovarium)
Secara serial, bagian badan ikan yang digunakan untuk pembuatan preparat, bagian kepala dan ekor dibuang.
2. Fiksasi
Upaya mempertahankan struktur jaringan sampel. Menggunakan bouin, fiksatif selama ± 24 jam.
3. Pencucian (washing)
Menggunakan alkohol 70% sampai warna kuning berkurang.
4. Dehidrasi
Menggunakan alkohol bertingkat, yaitu:
 - Alkohol 70% : 4x30 menit
 - Alkohol 80% : 2x30 menit
 - Alkohol 90% : 2x30 menit
 - Alkohol 96% : 1x30 menit
 - Alkohol absolut : 1x30 menit
5. Clearing (dealkoholisasi)
Penarikan alkohol dari jaringan dengan toluol. Sebelum ke toluol jaringan dari alkohol absolut diletakan dulu dikertas hisap. Clearing di toluol selama ± 12 jam.
6. Infiltrasi
Upaya menyusupkan parafin ke dalam jaringan sampel. Prosesnya dalam oven (inkubator) dengan temperatur 55° - 60°C .
 - Campuran toluol parafin (1:1) :30 menit
 - Parafin I : 50 menit
 - Parafin II : 50 menit
 - Parafin III : 50 menit
7. Embedding
Penanam jaringan dalam parafin padat. Buat kotak-kotak kecil dari karton, tuang parafin murni cair ke dalam kotak tersebut, dengan cepat pindahkan jaringan yang telah diinfiltrasi tadi kedalam kotak yang berisi parafin cair tersebut, atur letak preparat sesuai potongan.
8. Sectioning
Iris blok parafin dengan scalpel, permukaan yang akan diiris dengan pisau mikrotom berbentuk segi empat teratur. Tempelkan blok parafin pada holder kayu. Pasang holder dengan blok parafin tersebut pada mikrotom.

Persiapkan sebelum section : kotak tempat pita preparat, kuas untuk mengambil coupes dari pisau mikrotom, pisau scalpel, kapas yang dicelup xylol untuk membersihkan pisau mikrotom. Selanjutnya atur ketebalan irisan (6 mikron) lalu mulai section.

9. Afiksing

Penempelan jaringan hasil irisan (coupes) pada gelas benda dengan mayer albumin, dengan cara: kaca benda yang telah dioles mayer albumin, ditetesi aquadest secukupnya, letakkan sejumlah coupes diatas aquadest tersebut. Kaca benda kemudian diletakkan diatas hot plate dengan suhu 40⁰C - 45⁰C. Letak coupes diatur, sisa aquadest dihisap dengan pipet, biarkan sampai kering, baru disimpan dalam map preparat, pewarnaan dilaksanakan sebaiknya sesudah 24 jam.

10. Staining

Deparafinasi dengan mencelupkan kaca benda yang telah ada coupes tersebut dalam xylol minimal selama 10 menit untuk menghilangkan parafin.

Pewarnaan Ehrlich Hematoxylin – Eosin (HE) : Kaca beda dari xilol dihisap xilolnya dengan kertas filter. Lalu celupkan ke dalam alkohol 96%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30% dan akuades. Selanjutnya masukan ke Ehrlich Hematoxylin selama 3-7 detik. Cuci dengan air mengalir selama 10 menit, celup ke dalam aquadest, alkohol 30%, 40%, 50%, 60% 70%, lalu masukan kedalam Eosin selama 1-2 menit. Selanjutnya celupkan ke alkohol 70%, 80%, 90%, 96% lalu pel diantara kertas filter, kemudian masukan ke xilol minimal 10 menit.

11. Mounting

Merupakan proses penutupan sediaan dengan cover gelas. Sediaan dari xilol ditetesi entelan kemudian ditutup dengan cover gelas. Tunggu sampai kering.

12. Pembacaan sediaan

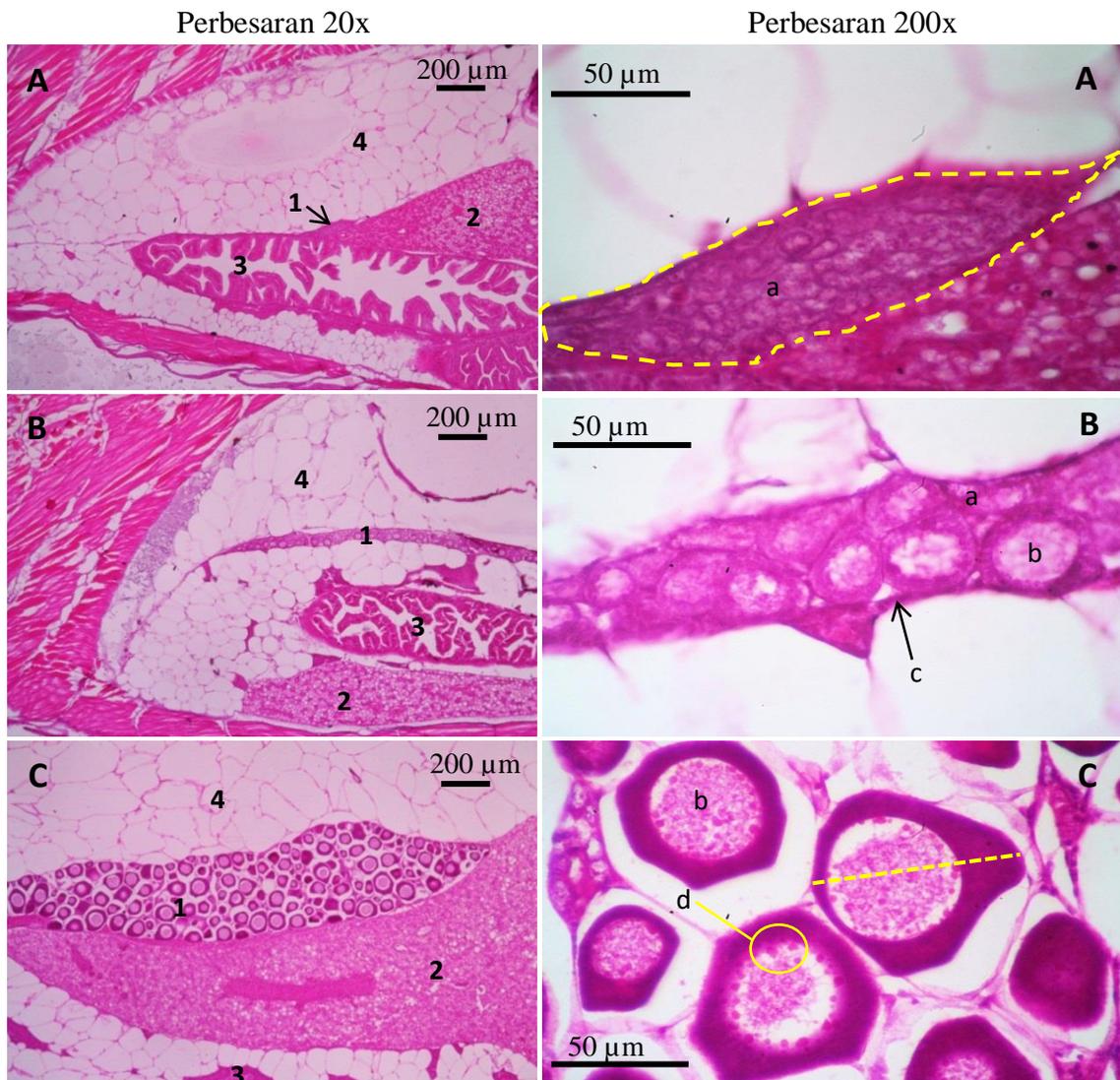
Menggunakan mikroskop.

2.4. Analisis Data

Data histologi ovarium ikan wader pari (*Rasbora lateristriata*) dianalisis dan dibahas secara deskriptif.

III. Hasil dan Pembahasan

Ovarium ikan wader pari merupakan organ reproduksi yang terletak di lateral saluran pencernaan dan tepat di dekat *pneumatocyst*. Ovarium pada ikan wader pari berjumlah sepasang dan pada saat kondisi matang ovarium akan memanjang dan memenuhi rongga abdomen. Perkembangan ovarium ikan wader pari dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Perkembangan ovarium ikan wader pari (*Rasbora lateristriata*) A=bulan pertama, B=bulan kedua, C=bulan ketiga. 1=ovarium, 2=liver, 3=usus, 4=gelembung renang. a= fase kromatin nukleolar, b= fase perinuklear, c= tunika albuginea, d= nukleolus. Pewarnaan Hematoxilin Eosin (HE).

Berdasarkan hasil penelitian, ovarium ikan wader pari setiap bulan mengalami perkembangan dari bulan pertama sampai bulan ketiga. Pengamatan perkembangan ovarium ikan wader pari dilakukan dengan pengamatan struktur histologis, diameter dan jumlah persentase folikel ovarium. Pengamatan struktur histologis ovarium ikan wader pari pada bulan pertama menunjukkan fase perkembangan yang sama, yaitu fase I, sedangkan pada bulan kedua dan ketiga menunjukkan pola asinkronous. Pola asinkronous merupakan pola perkembangan folikel telur dalam satu ovarium berada pada fase yang berbeda pada waktu yang bersamaan (Tyler & Sumpter, 1996). Hal ini sama seperti pada ikan zebra dewasa yang memiliki pola ovarium asinkronous. Ovarium

ikan zebra mulai berkembang pada umur 10 hari setelah menetas dan ikan menjadi matang secara seksual pada umur 3 bulan (Clelland *et al.*, 2009).

Pada bagian luar ovarium ikan wader pari terdapat selaput pembungkus yang sangat tipis disebut tunika albuginea. Rahmawati (2014) dalam penelitiannya menyebutkan bahwa tunika albuginea pada ikan wader pari tersusun oleh sel pipih berlapis. Menurut Clelland *et al.*, (2009) ovarium ikan zebra terdiri dari epitel tipis, oogonium dan folikel yang mengandung oosit dikelilingi oleh sel-sel somatik dan jaringan interstitial (stroma).

Berdasarkan hasil pengamatan struktur histologis ovarium, terdapat dua fase perkembangan ovarium ikan wader pari dalam penelitian ini. Pertama fase kromatin nukleolar dan kedua fase perinuklear (Gambar 1). Fase kromatin nukleolar dicirikan dengan ukuran sel kecil dengan kisaran diameter berkisar 6-25 μm . Ovum terlihat bergerombol dan inti mendominasi bagian sel dengan sitoplasma sedikit. Sel bersifat basofilik dan bagian inti selnya terlihat lebih gelap dibandingkan sitoplasmanya. Bagian inti terdapat kromatin dalam jumlah banyak sehingga terpulas lebih gelap. Sedangkan fase perinuklear merupakan fase perkembangan selanjutnya dari fase kromatin nukleolar. Pada fase ini diameter sel berkisar antara 22-114 μm . Ovum berbentuk polihedral dengan inti sel membulat atau oval. Sitoplasma sel bersifat basofilik sedangkan bagian inti sel bersifat kurang basofilik. Pada fase ini dijumpai adanya vesikula germinalis, yaitu nukleoli yang berjumlah banyak dan terletak di tepi inti. Perkembangan folikel ovarium bulan pertama berada pada fase kromatin nukleolar, sedangkan fase perinuklear mulai terlihat pada pemeliharaan bulan 2 dan bulan 3 (Gambar 1).

Persentase jumlah folikel ovarium bulan pertama 100% di dominasi oleh sel muda atau fase kromatin nukleolar, selanjutnya pada bulan kedua jumlah folikel lebih banyak didominasi oleh fase kromatin nukleolar (fase 1= 63,21% : fase 2= 36,79%), sedangkan pada bulan ketiga lebih banyak didominasi oleh fase perinuklear (fase 1= 48,52% : fase 2= 51,48%). Hasil pengukuran diameter folikel ikan wader pari secara keseluruhan fase I berkisar 6-25 μm dan fase II berkisar 22-114 μm . Diameter oosit ikan wader pari berbeda bila dibandingkan dengan diameter oosit pada ikan mas (*Cyprinus carpio*) dan ikan trigger hitam (*Melichthys niger*). Menurut Shabanipour & Hossayni (2010) diameter oosit ikan mas (*Cyprinus carpio*) fase I: diameter rata-rata sekitar 60 μm sedangkan fase II diameter rata-rata oosit sekitar 160 μm . Pada ikan trigger hitam (*Melichthys niger*) fase I: diameter berkisar 6-23 μm sedangkan fase II: diameter berkisar 24-83 μm (Branco *et al.*, 2013). Menurut Shinozaki, 2008 dalam Branco (2013) setiap spesies tampaknya memiliki karakteristik diameter oosit tersendiri. Abascal & Madinah (2005) menambahkan bahwa terminologi dan fitur yang digunakan untuk membedakan dan mengidentifikasi tahap yang berbeda dari formasi oosit dapat bervariasi menurut penulis dan spesies yang dipelajari.

Menurut Clelland *et al.*, (2009) diferensiasi ovarium, proses perkembangan folikel, pematangan oosit dan ovulasi adalah peristiwa kompleks yang memerlukan koordinasi. Proses perkembangan gonad betina pada teleostei dipengaruhi oleh faktor

internal dan eksternal. Faktor internal seperti kinerja hormon dan faktor eksternal dapat berupa kondisi lingkungan dan asupan makanan. Mekanisme hormonal pada perkembangan ovarium yaitu: Otak memproduksi GnRH (*Gonadotropin Releasing Hormone*) yang bekerja di hipofisis untuk menstimulasi sekresi LH (*Luteinizing Hormone*) dan FSH (*Follicle Stimulating Hormone*). Gonadotropin, selanjutnya meregulasi folikulogenesis. Tahap pertumbuhan terjadi di bawah kendali FSH sementara fase maturasi terjadi di bawah pengaruh LH (Patino *et al.*, 2001). Selanjutnya Norris (2007) menambahkan bahwa FSH merupakan hormon yang berperan dalam mesintesis estrogen selama masa perkembangan folikel.

IV. Kesimpulan

4.1. Kesimpulan

Simpulan yang dapat diambil dari hasil kajian “Perkembangan ovarium ikan wader pari (*R. lateristriata*): pendekatan histologi” adalah perkembangan ovarium ikan wader pari menunjukkan pola/tipe perkembangan ovarium Asinkronous. Perkembangan ovarium pada pemeliharaan bulan pertama berada pada fase kromatin nukleolar, sedangkan fase perinuklear mulai terlihat pada pemeliharaan bulan 2 dan bulan 3.

4.2. Saran

Perlu adanya penelitian lanjutan tentang perkembangan ovarium ikan wader pari yang pemeliharaannya lebih dari 3 bulan sampai ovarium matang seksual.

Daftar Pustaka

- Abascal, F. J. and Medina A. 2005. Ultrastructure of oogenesis in the bluefin tuna, *Thunnus thynnus*. *Journal of Morphology*. 264: 149-160.
- Budiharjo, A. 2002. Seleksi dan potensi budidaya jenis-jenis ikan wader dari genus *Rasbora*. *Biodiversitas*. 3 (2): 225-230.
- Branco, I.S.L., Viana, D.L., Felix, R.T.S., Veras, D.P., and Hazin, F.H.V. 2013. Oocyte development and ovarian maturation of the black triggerfish, *Melichthys niger* (Actinopterygii: Balistidae) in Sao Pedro e Sao Paulo Archipelago, Brazil. *Neotropical Ichthyology*. 11(3): 597-606.
- Clelland, E. and Peng, C. 2009. Endocrine/paracrine control of zebrafish ovarian development. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 312: 42–52.
- Norris, D.O. 2007. *Vertebrate Endocrinology*. 4th ed. Elsevier. USA. pp: 372-391
- Patino, R., Yoshizaki, G., Thomas, P., and Kagawa, H., 2001. Gonadotropic control of ovarian follicle maturation: the two-stage concept and its mechanisms. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. 129: 427–439.
- Rahmawati, S. 2014. *Indeks Gonadosomatik Dan Struktur Histologi Gonad Ikan Wader Pari (*Rasbora lateristriata* Bleeker, 1854) Pada Tahap Perkembangan Pra Dewasa dan Dewasa*. Skripsi. Fakultas Biologi. UGM. Yogyakarta.
- Shabanipour, N., and Hossayni, S.N. 2010. Histological and ultrastructural study of Zona Radiata in oocyte of common carp *Cyprinus carpio* (Linnaeus 1758). *Micron*. 41: 877–881.

Tyler, C.R. and J.P. Sumpter. 1996. Oocyte Growth and Development In Teleost. Rev. *Fish Biology and Fisheries*. 6: 287-318.