

## **Profil Gonad Kodok Lembu Betina yang Diberi *Human Chorionic Gonadotropin* dan Ekstrak Hipofisis Kodok Lokal**

(*PROFILE OF GONAD OF FEMALE BULLFROG TO HUMAN CHORIONIC  
GONADOTROPIN AND HIPOFISE OF LOCAL FROG*)

**I Ketut Mudite Adnyane<sup>1\*</sup>, Sevy Tiara Ilham<sup>1</sup>, Muhammad Agil<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorium Histologi, Departemen Anatomi, Fisiologi dan Farmakologi,

<sup>2</sup>Laboratorium Kemajiran dan Kebidanan, Departemen Klinik, Reproduksi dan Patologi  
Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor

Jl. Agatis Kampus IPB Dramaga Bogor 16680; Telp. 0251-8626064 Fax. 0251-8629464;

\*E-mail: *adnyane@gmail.com*

### **ABSTRAK**

Kodok lembu (*Rana catesbeiana*) secara alami mencapai dewasa kelamin pada umur 3 tahun setelah metamorfosis. Penelitian ini bertujuan mempelajari perkembangan gonad betina kodok lembu yang diberikan *human Chorionic Gonadotropin* (hCG) dan ekstrak hipofisis kodok lokal guna mempercepat dewasa kelamin. Sebanyak 40 ekor kodok lembu betina yang digunakan dalam penelitian ini dibagi menjadi empat kelompok perlakuan dan satu kontrol. Perlakuan berupa suntikan hormon hCG 150 IU, 200 IU, 8 hipofisis, 16 hipofisis dan kontrol. Penyuntikan dilakukan sebulan sekali selama empat bulan. Setiap bulan setelah suntikan pertama, dua kodok dari setiap kelompok diukur bobot badan dan gonadnya, di samping itu tahap perkembangan ovarium juga diamati secara makroskopis dan mikroskopis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok perlakuan hCG memberikan hasil lebih baik dibandingkan dengan perlakuan hipofisis kodok lokal. Penyuntikan 200 IU hCG memberikan hasil yang paling baik terhadap indek kematangan gonad (IKG) yaitu 4,9%, dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya. Pemberian hCG dosis 200 IU dan 16 hipofisis kodok lokal dapat digunakan untuk mempercepat dewasa kelamin kodok lembu betina.

**Kata kunci:** kodok lembu, gonad, hCG, hipofisis.

### **ABSTRACT**

Bullfrog (*Rana catesbeiana*) are naturally reach sexual maturity at the age of 3 years after metamorphosis. This research aims to study the gonad growth of female bullfrog. given *human chorionic gonadotropin* (hCG) and hipofise extract of local frog in order to accelerate the maturity. There were 40 female bullfrog used in this study and divided into four treatment groups and one control. The treatments were injections of 150 IU hCG, 200 IU hCG, 8 hipofise, 16 extract of hipofise and controls. The injections were conducted once a month for four months. Every month after the first injection, two of bullfrogs from each group were measured their body and gonad weight, in addition, the stage of ovary was also observed either in macroscopically and microscopically. The results showed that hCG treatment group gave better results compared with the treatment of hipofise extract of local frog. The injection of 200 IU hCG gave the best result of gonad maturity index (IKG) 4.9%, compared with other treatment groups. Giving a dose of 200 IU hCG and 16 hipofise extract of local frog can be used to accelerate the maturity of female bullfrog.

**Keywords:** bullfrog, gonad, hCG, hipofise.

## PENDAHULUAN

Kodok lembu atau yang dikenal dengan nama *Bullfrog* di Amerika Serikat, termasuk dalam famili *Ranidae*, spesies *Rana catesbeiana* (Casper dan Hendricks, 2005). Kodok dewasa bisa mencapai ukuran panjang 20 cm dan berat 750 gram (IUCN, 2006). Kodok sangat bermanfaat dan secara ekonomi penting bagi kehidupan manusia, di antaranya sebagai kontrol hama serangga dan hewan laboratorium dalam penelitian bidang kedokteran. Hal ini berdasarkan struktur tulang, otot, saluran pencernaan, dan sistem saraf kodok yang mirip dengan hewan tingkat tinggi. Pemilihan kodok sebagai hewan laboratorium ini karena beberapa faktor, di antaranya mudah didapat dan murah (Mazzoni, 1999). Kodok lembu juga mempunyai daya adaptasi yang tinggi dan dapat hidup sampai 9 tahun setelah metamorfosis (Bruneau dan Magnin, 1980; Babbitt, 2005; Spear *et al.*, 2009). Kodok merupakan salah satu sumber protein hewani, karena memiliki kandungan gizi yang tinggi. Selain itu limbah kodok dapat dipakai untuk ransum ternak itik dan ayam. Kelenjar hipofisis yang terdapat dalam kepala kodok dapat digunakan sebagai perangsang kodok untuk melakukan pembuahan (Susanto, 2003).

Kodok sudah lama menjadi komoditas ekspor yang potensial. Sejak tahun 1969, Indonesia mengeksport paha kodok ke berbagai negara Eropa. Kodok lembu ini merupakan salah satu kodok yang diperjualbelikan untuk dikonsumsi. Peternakan kodok lembu di Indonesia telah berkembang secara intensif sejak tahun 1981 dan terus berkembang sampai sekarang. Provinsi Jawa Timur merupakan salah satu daerah peternakan kodok lembu paling maju. Kemudahannya beradaptasi di alam dan dapat memakan berbagai jenis pakan yang disodorkan kepadanya merupakan modal utama untuk berkembang pesat. Sampai saat ini masih ada kendala yang dihadapi, di antaranya dalam mendapatkan induk potensial fertil dalam waktu yang tepat (10 sampai 12 bulan setelah metamorfosis) karena di alam kodok ini baru dewasa kelamin setelah 3 tahun (Pancharatna dan Saidapuri, 1985; Susanto, 2003).

Salah satu cara memijahkan kodok dapat dilakukan dengan kawin suntik (*induce breeding*). Sistem kawin suntik pada kodok biasanya menggunakan ekstrak kelenjar hipofisis untuk merangsang kodok yang telah

dewasa kelamin untuk mengadakan ovulasi (Pancharatna dan Saidapuri, 1985). Sistem yang juga dikenal dengan hipofisasi ini, mulai dilaksanakan pertama kali pada tahun 1962. Hipofisasi pada kodok mula pertama dilakukan di Taiwan, Malaysia, dan Singapura (Susanto, 2003). Selain penggunaan ekstrak kelenjar hipofisis dapat juga digunakan hormon gonadotropin (Joy dan Tharakan, 1999; Canosa dan Ceballos, 2002; Singh dan Joy, 2009). Tetapi upaya menggunakan hormon gonadotropin eksogen dalam pembudidayaan kodok di Indonesia masih jarang dilakukan. Hal tersebut karena harga hormon yang relatif lebih mahal dibandingkan dengan kelenjar hipofisis kodok lokal.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas penggunaan *human Chorionic Gonadotropin* (hCG) dan ekstrak hipofisis kodok lokal dalam mempercepat dewasa kelamin, ditinjau dari perkembangan gonadnya.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan kodok lembu (*R. catesbeiana*) yang berumur 4 bulan (setelah metamorfosis) berjumlah 40 ekor yang dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan dan 1 kontrol. Perlakuan I (hCG 150 IU), II (hCG 200 IU), III (8 hipofisis), IV (16 hipofisis) dan V (kelompok kontrol). Dosis yang digunakan berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Henri (1994) pada kodok raksasa (*Rana blythi* Boulenger).

Ekstrak hipofisis kodok lokal dibuat dengan cara mengeringkan hipofisis kodok lokal dengan aseton. Setelah kering digerus dengan mortar, kemudian dilarutkan dalam air suling bebas hama. Hasil yang didapat dikenal dengan istilah hipofisis kering aseton (HKA).

Penyuntikan secara intraperitoneal dilakukan sebulan sekali selama empat bulan. Tiap akhir bulan selama penyuntikan diambil 2 ekor kodok lembu dari masing-masing kelompok kemudian dikorbankan dengan cara dibius menggunakan eter. Kemudian dilakukan pembedahan untuk pengambilan gonad dan diamati secara makroskopis. Pengukuran indek kematangan gonad (IKG) dilakukan dengan rumus: bobot gonad dibagi bobot badan kemudian dikalikan 100% (Effendie, 1979).

Selanjutnya dilakukan proses untuk pengamatan secara mikroskopis. Gonad dicuci dengan larutan *Sodium Chlorida* (NaCl)

fisiologis dan kemudian diawetkan dalam larutan Bouin's selama 24 jam. Setelah 24 jam, gonad dipindahkan ke dalam larutan alkohol 70% sampai proses selanjutnya.

Sampel gonad dimasukkan ke dalam alkohol dengan konsentrasi bertingkat mulai 80%, 90%, 95% masing-masing selama 1 hari dan alkohol 100% (absolut) I, II dan III masing-masing selama satu jam. Selanjutnya dilakukan penjernihan (*clearing*) dengan menggunakan larutan silol I, II, dan III masing-masing selama 30 menit, *embedding* dengan parafin I, II, dan III masing-masing selama satu jam sampai pembuatan blok parafin. Setelah itu blok parafin dipotong menggunakan mikrotom (*Rotary microtome* Yamatokoki, Japan) pada ketebalan 4 µm. Sebelum diwarnai, preparat diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam agar merekat kuat pada gelas objek.

Sediaan kemudian diwarnai dengan hematoxilin eosin (HE), untuk melihat struktur umum jaringan (Kiernan, 1993). Sediaan diamati menggunakan mikroskop cahaya yang dilengkapi dengan kamera (Nikon Eclipse 600, Japan).

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Pengamatan Makroskopis**

Dalam rongga perut, dapat diamati situs organ pencernaan (traktus digestivus) yang tampak menutupi organ reproduksi. Pada kodok betina, setelah traktus digestivus dikuakkan, terlihat badan lemak yang menutupi organ reproduksi. Ovarium berjumlah sepasang dengan bentuk berlobus-lobus. Ukuran ovarium kodok betina bervariasi dari tiap-tiap kelompok,

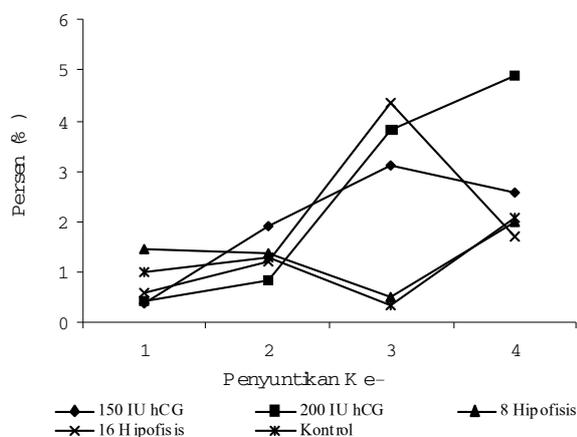
begitu pula dengan stadium ovariumnya. Di lateral tiap ovarium terdapat oviduk yang tergantung pada dinding dorsal tubuh dan tampak berkelok-kelok. Di ujung anterior oviduk terdapat celah seperti infundibulum atau disebut tuba ostium. Di bagian posterior setiap oviduk ukurannya membesar dengan struktur seperti uterus yang berfungsi sebagai tempat penyimpanan telur sementara. Bagian akhir oviduk dilanjutkan ke bagian kloaka yang merupakan permuaraan untuk traktus digestivus dan traktus urogenitalis.

Hasil pengamatan secara makroskopis dengan menggunakan IKG pada kodok betina setiap kelompok ditampilkan pada Gambar 1.

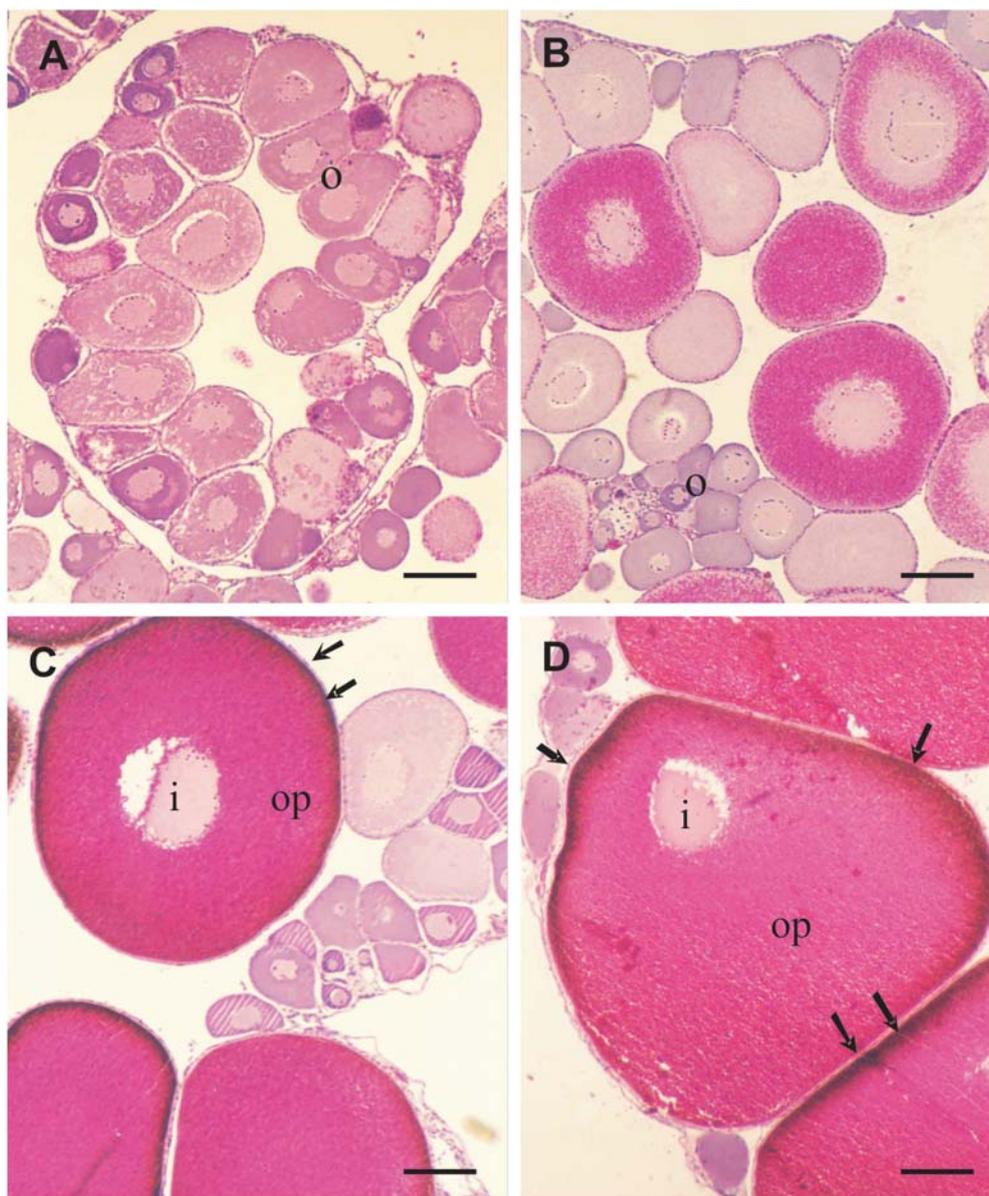
Pada Gambar 1 diperlihatkan bahwa pada kelompok kodok lembu betina yang mendapat perlakuan injeksi 200 IU hCG mengalami peningkatan IKG mencapai 4.9% dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang lainnya dan kelompok kontrol. Hal tersebut menggambarkan bahwa pada kelompok perlakuan II memberikan pengaruh yang lebih baik dari kelompok yang lainnya. Pemberian hCG memperlihatkan hasil yang lebih konsisten dalam peningkatan IKG dibandingkan dengan pemberian ekstrak hipofisis kodok lokal. Selain itu teramati pertambahan bobot badan yang sejalan dengan perkembangan yang terjadi pada gonad.

Secara makroskopis perbedaan dari setiap stadium kematangan gonad pada kodok lembu betina dapat dilihat dari morfologi, perbedaan ukuran telur, dan adanya pigmentasi pada permukaan telur. Semakin tinggi stadium gonad yang dicapai (telur menjadi matang) maka semakin tinggi pula pigmentasi pada permukaannya, oleh karena itu pada ovarium terlihat pigmen hitam dan putih pada kuning telur (Goin *et al.*, 1978; Takashima dan Hibiya, 1982).

Stadium I, ovarium kodok lembu berbentuk lobus-lobus yang tipis, memanjang pada sisi lateral rongga perut dengan warna putih. Stadium II, ovarium berukuran lebih besar dari stadium I, berwarna putih kekuningan dengan bintik-bintik hitam sebagai massa pigmen. Butiran telur pada stadium II belum dapat dilihat dengan jelas oleh mata. Stadium III, ovarium berukuran lebih besar dari stadium II, berwarna putih kehitaman dan pigmentasi pada sel telur mulai menyebar secara merata. Butiran telur mulai dapat dilihat dengan mata, tetapi ukurannya masih relatif kecil. Stadium IV, hampir keseluruhan permukaan sel telur berwarna hitam karena adanya pigmentasi di



Gambar 1. Indeks kematangan gonad pada kodok lembu betina.



Gambar 2. Fotomikrograf stadium perkembangan ovarium kodok lembu. (A) Stadium I, (B) Stadium II, (C) Stadium III, (D) Stadium IV. i, inti sel; op, oosit primer; o, oogonium. Pigmen hitam terlihat pada bagian perifer dari sel telur (panah). Pada sel telur yang telah matang inti sel terletak di pinggir (D). Pewarnaan HE, Skala A-D = 50 $\mu$ m.

daerah perifer sel-sel telur. Butiran telur dapat dilihat jelas dengan mata. Ukuran diameter telur jauh lebih besar dari tingkat sebelumnya. Pada tingkat kematangan gonad stadium IV tersebut, ovarium sudah mengisi hampir sepertiga rongga perut.

#### Pengamatan Mikroskopis

Ovarium kodok lembu secara umum memperlihatkan gambaran histologi berupa lapisan terluar teka eksterna dan di bawahnya

terdapat lapisan-lapisan yang disebut teka interna. Selain itu juga terlihat sel-sel folikel mengelilingi oosit yang sedang berkembang dan erat hubungannya dengan proses pematangan yang terjadi dalam folikel.

Pengamatan morfologi stadium kematangan gonad menunjukkan bahwa pada kematangan gonad stadium I, secara histologi terlihat gonad didominasi oleh oogonium yang dikelilingi oleh folikel-folikel kecil (Gambar 2A). Kematangan gonad stadium I pada penyuntikan yang

pertama ditemukan pada kelompok perlakuan I (150 IU hCG), II (200 IU hCG), dan IV (16 hipofisis). Kelompok kontrol (V) juga memperlihatkan ovarium berada pada kematangan gonad stadium I.

Kematangan gonad stadium II secara histologis teramati ukuran sel telur bertambah besar dibandingkan dengan ukuran sel telur pada stadium I. Oogonium berkembang menjadi oosit (Gambar 2B). Kematangan gonad stadium II, dapat dilihat pada penyuntikan yang kedua dalam kelompok perlakuan II (200 IU hCG), penyuntikan ketiga dalam kelompok perlakuan III (8 hipofisis), penyuntikan keempat dalam kelompok perlakuan IV (16 hipofisis) dan kelompok V (kontrol).

Ovarium pada kematangan gonad stadium III, secara histologi ovarium terlihat berlobus-lobus berisi sel telur yang didominasi oleh oosit primer dan sedikit oogonium (Gambar 2C). Kematangan gonad stadium III dapat dilihat pada penyuntikan pertama dalam kelompok perlakuan III (8 hipofisis) dan kelompok V (kontrol). Pada penyuntikan kedua ditemukan stadium III pada kelompok perlakuan I (150 IU hCG), III (8 hipofisis), IV (16 hipofisis) dan pada kelompok V (kontrol). Penyuntikan ketiga ditemukan pada kelompok perlakuan IV (16 hipofisis), dan pada penyuntikan yang keempat ditemukan stadium III pada kelompok perlakuan I (150 IU hCG), kelompok perlakuan II (200 IU hCG) dan kelompok perlakuan IV (16 hipofisis).

Kematangan gonad stadium IV, ukuran diameter telur jauh lebih besar dari tingkat sebelumnya. Ovarium terlihat didominasi oleh oosit primer (Gambar 2D). Tingkat kematangan gonad stadium IV dapat dilihat pada penyuntikan ketiga dalam kelompok perlakuan I (150 IU hCG) dan kelompok perlakuan II (200 IU hCG).

Setelah empat kali pengulangan penyuntikan, ternyata tidak semua dosis hCG dan hipofisis memberikan peningkatan stadium kematangan gonad yang seragam. Hal ini bisa terjadi antara lain karena perubahan ovarium yang meningkat secara tajam karena adanya stimulasi yang berlebihan (Adi, 1999). Menurut Norris (2007), bila dari luar tubuh diberikan hormon seks, maka keseimbangan hormonal di dalam gonad akan dipertahankan selama masih dapat dan mampu melakukannya. Secara imunologi akibat kelebihan dosis mungkin dapat mengaktifkan reseptor pada sel-sel fagosit untuk mendestruksi bahan-bahan asing (hCG, ekstrak

hipofisis) yang masuk, sehingga kadar hormon yang sampai ke organ target menjadi sedikit. Gonad kodok betina baik pada kelompok perlakuan maupun kontrol yang mengalami penurunan stadium kematangan gonad bisa disebabkan juga karena adanya hormon inhibin yang menghambat sekresi *follicle stimulating hormone* (FSH) dan *leutinizing hormone* (LH). Hormon inhibin disekresikan bersama dengan hormon seks steroid dan mempunyai efek menghambat sekresi FSH oleh kelenjar hipofisis anterior dan juga LH dalam jumlah yang lebih kecil (Akers dan Denbow, 2008; Cunningham dan Klein, 2007).

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian 200 IU hCG dan 16 hipofisis kodok lokal dapat digunakan untuk mempercepat dewasa kelamin kodok lembu betina. Pemberian hCG memperlihatkan hasil yang lebih konsisten dibandingkan dengan pemberian ekstrak hipofisis kodok lokal.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada pihak Dirjen Dikti yang telah mendanai sebagian dari penelitian ini melalui proyek penelitian Hibah Bersaing X tahun 2003.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adi C. 1999. Pengaruh kombinasi hCG dan ekstrak kelenjar hipofisis ikan mas terhadap proses ovulasi ikan baung (*Mystus nemurus* C.V). Tesis. Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- Akers RM, Denbow, DM. 2008. *Anatomy & Physiology of Domestic Animals*. New York: Blackwell Publishing. Pp 309-322.
- Babbitt KJ. 2005. The relative importance of wetland size and hydroperiod for amphibians in southern New Hampshire, USA. *Wetlands Ecology and Management*. 13: 269-279.
- Bruneau M, Magnin E. 1980. Croissance, nutrition et reproduction des ouaouarons *Rana catesbeiana* Shaw (*Amphibia anura*) des Laurentides au nord de Montréal. *Can. J Zool*. 58: 175-183.

- Canosa LF, Ceballos NR. 2002. In vitro hCG and human recombinant FSH actions on testicular steroidogenesis in the toad *Bufo arenarum*. *General and Comparative Endocrinology*. 126: 318-324.
- Casper GS, Hendricks R. 2005. *Rana catesbeiana Shaw, 1820: American Bullfrog*. Los Angeles. University of California Press. Pp 540-546.
- Cunningham JG, Klein BG. 2007. *Textbook of Veterinary Physiology*. 4<sup>th</sup> ed. St. Louis, Missouri. Saunders Elsevier.
- Effendie MI. 1979. *Metode Biologi Perikanan*. Bogor. Yayasan Dewi Sri. Hal: 112.
- Goin CJ, Goin OB, Zug GR. 1978. *Introduction to Herpetology*. 3<sup>rd</sup> ed. Hampshire. W.H Freeman and Company.
- IUCN. 2006. Conservation International and NatureServe. Global Amphibian Assessment. <[www.globalamphibians.org](http://www.globalamphibians.org)>. accessed on 14 April 2009.
- Joy KP, Tharakan B. 1999. Induced spawning of the Indian catfish, *Heteropneustes fossilis*, by GnRH analogue alone or in combination with dopamine-affecting drugs. *J Appl Aquacult*. 9: 23-32.
- Kiernan JA. 1993. *Histological and Histochemical Method: Theory and Practice*. 3<sup>rd</sup> ed. Oxford. Pergamon Press. Pp 90-98.
- Mazzoni R. 1999. Bullfrog farming in South America. *Infopesca Internacional*. 1:27-31.
- Norris DO. 2007. *Vertebrate Endocrinology*. 4<sup>th</sup> ed. New York. Elsevier.
- Pancharatna M, Saidapuri SK. 1985. Comparative Effects of Homoplastic Pituitary Pars Distalis Homogenate (PDH), Pregnant Mare Serum Gonadotrophin (PMSG), Human Chorionic Gonadotrophin (HCG), Growth Hormone (GH), PMSG + GH, and HCG + GH on Oocyte Recruitment and Development in the Long-Term Hypophysectomized Frog, *Rana-cyanophlyct* & (Schn). *General and Comparative Edocrinology*. 57: 161-171.
- Singh V, Joy KP. 2009. Effects of hCG and ovarian steroid hormones on vasotocin levels in the female catfish, *Heteropneustes fossilis* Gen Comp Endocrinol. doi:10.1016/j.ygcn.2009.03.016
- Spear PA, Speara, Boilya M, Giroux I, DeBlois C, Leclair MH, Levasseure M, Leclair R. 2009. Study design, water quality, morphometrics and age of the bullfrog, *Rana catesbeiana*, in sub-watersheds of the Yamaska River drainage basin, Québec, Canada. *Aquatic Toxicology*. 91: 110-117.
- Susanto H. 2003. *Budi Daya Kodok Unggul*. Jakarta. Penebar Swadaya. Hal: 4-45.
- Takashima F, Hibiya T. 1982. *An Atlas of Fish Histology: Normal and Pathologic Features*. 2<sup>nd</sup> ed. Tokyo. Kodansha Ltd. Pp 104-108.