

Profil Hormon Estrogen Induk Ikan Lele (*Clarias sp.*) yang Diinduksi Laserpunktur Setelah Pemberian Pakan dengan Berbagai Kadar Protein

*The Profile of Estrogen of Catfish (*Clarias sp.*) Broodstock Induced Laserpuncture after Dietaring of Various Levels of Protein*

Dyah Hariani

Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Surabaya
Kampus Ketintang Unesa, Jalan Ketintang Surabaya 60231

ABSTRAK

Induksi laserpunktur berkekuatan rendah di titik reproduksi induk lele betina dapat memacu produksi hormon gonadotropin (GtH). GtH-I berperan dalam proses steroidogenesis normal untuk memproduksi estrogen. Untuk mendukung produksi estrogen dibutuhkan nutrisi induk yang cukup terutama protein. Namun profil hormon estrogen yang dihasilkan dari berbagai kadar protein pakan induk dan induksi laserpunktur belum diketahui. Tujuan penelitian ini untuk menguji peningkatan kadar estrogen lele yang diberi pakan dengan berbagai kadar protein dan induksi dengan laserpunktur. Penelitian faktorial ini terdiri atas faktor I: induksi laserpunktur dan tanpa induksi laserpunktur dan faktor II: kadar protein pakan (30, 35 dan 40%) dengan rancangan penelitian rancangan acak kelompok dengan empat ulangan. Induksi dengan laserpunktur dilakukan seminggu sekali selama 8 minggu. Ikan uji sebanyak 172 ekor induk lele betina matang gonad pertama kali memijah dengan bobot badan 900-1500 gram dengan umur sekitar 1-1,5 tahun. Darah diambil dari empat ekor induk/perlakuan pada minggu ke-0, ke-2 hingga minggu ke-8, dan selanjutnya diuji menggunakan metode ELISA. Analisis data kadar estrogen dengan Anava menggunakan program SPSS Software versi 17.0. Hasil penelitian menunjukkan induksi laserpunktur dan pemberian berbagai kadar protein pakan induk lele meningkatkan kadar estrogen ($P < 0,000$). Induksi laserpunktur dan pemberian pakan dengan kadar protein 40% pada minggu ke-3 menghasilkan kadar hormon estrogen tertinggi.

Kata kunci: induksi laserpunktur, kadar protein pakan, ikan lele, kadar Estrogen

ABSTRACT

Induction of laserpuncture Helium-Neon a low powered at the point of reproductive broodstock catfish can stimulate the production of gonadotropin hormone (GtH I). GtH-I plays a role in normal steroidogenesis process for producing estrogen. To support the production of estrogen needed sufficient broodstock nutrients, especially protein. However, the profile of estrogen produced from various dietary broodstock protein levels and induction laserpuncture broodstock is unknown. The purpose of this study was to examine the increase in estrogen hormone level catfish dietary with different levels of protein and induced by laserpuncture. The factorial experimental consisted of factor I: induction of laserpuncture and without laserpuncture and factor II: dietary protein levels (30, 35 and 40%) conducted based on randomized completely block design with four replications. Induction of laserpuncture was done once a week for eight weeks. The tested fishes consisted of 172 were mature gonad female catfish firstly spawning with 900-1500 g body weight to about 1-1.5 years old. The estrogen hormone level in the blood samples taken on 0, 2nd up to 8th week were analyzed by using ELISA method. The levels of estrogen were analyzed by ANOVA using SPSS Software version 17.0. The results showed that laserpuncture induction and dietaring

* Alamat Korespondensi:
surel: dyahhariani@yahoo.com

protein levels of catfish broodstock can increase the estrogen hormone levels ($P < 0,000$). Induction of laserpuncture and dietaring protein level of 40% at week 3 revealed the highest levels of the estrogen.

Key words: *induction laserpuncture He-Ne, dietary protein level, catfish, estrogen levels*

PENDAHULUAN

Ikan lele merupakan salah satu komoditas perikanan yang mempunyai nilai ekonomis tinggi dan banyak dibudidayakan karena mudah dipelihara dan telur yang dihasilkan relatif banyak. Salah satu syarat keberlangsungan budidaya lele adalah penyediaan induk matang gonad tersedia setiap saat dalam jumlah cukup di pasaran. Untuk itu perlu dilakukan penanganan induk yang optimal.

Penanganan induk dapat dioptimalkan antara lain dengan cara perbaikan secara internal seperti mencari induk dengan kualitas baik dalam jumlah banyak dan mengoptimalkan kadar hormon gonadotropin juga perbaikan secara eksternal seperti perbaikan pakan induk terutama kadar protein. Dengan perbaikan tersebut, maka dapat dihasilkan induk yang baik dalam jumlah banyak yang kondisinya matang gonad dan tersedia setiap saat (Izquierdo dkk., 2001; El-Sayed dkk., 2003; Bek & Yilmaz, 2007; Sotolu, 2010).

Dalam rangka penanganan induk secara internal dengan mengoptimalkan kadar hormon gonadotropin agar didapatkan kondisi induk matang gonad yang tersedia setiap saat perlu diupayakan teknologi yang dapat meningkatkan kadar hormon gonadotropin antara lain dengan teknologi laserpunktur. Kusuma dkk. (2007); Hariani & Kusuma (2008; 2009) menyatakan bahwa induksi laserpunktur pada titik reproduksi ikan lele dumbo (*Clarias* sp.) tepatnya di 2/3 bagian ventral tubuh setiap satu minggu sekali dan lama induksi 15 detik adalah optimal dan terbukti dapat mempercepat pematangan gonad. Kusuma dkk. (2012) dan Kusuma (2013) menambahkan bahwa induksi tersebut dapat meningkatkan produksi hormon gonadotropin (GtH-I dan GtH-II).

GtH-I berperan dalam mengatur perkembangan awal oogenesis dan vitelogenesis dihasilkan dari pituitary (Nagahama, 1983; Aizen, 2007). Pada plasma ikan trout betina, saat awal pertumbuhan oosit sekunder (tahap awal vitelogenesis) terjadi kenaikan GtH-I, kemudian menurun ke tingkat basal dan naik lagi sebelum ovulasi (Santos dkk., 2001). GtH-I yang dihasilkan akan bekerja pada sel techa pada ovarium untuk menghasilkan hormon testosteron, kemudian hormon tersebut masuk ke dalam lapisan sel granulosa. Dengan bantuan enzim aromatase, maka testosteron diubah menjadi estrogen (17β -Estradiol atau E2). Selanjutnya, estrogen dialirkan melalui darah menuju hepar (Nagahama, 1983; Arukwe & Goksoyr, 2003). Estrogen yang terdapat dalam hepar merupakan stimulator dalam biosintesis vitelogenin.

Di samping itu, estrogen dalam darah memberikan umpan balik terhadap hipotalamus menghasilkan *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH) untuk merangsang pituitari melepaskan gonadotropin. Siklus hormonal ini terus berjalan selama terjadinya proses vitelogenesis (Nagahama, 1983; Utiah, 2006; Kapateh, 2009).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa peningkatan kadar estrogen akan meningkatkan kadar vitelogenin dalam darah dan kadar estrogen tertinggi dijumpai pada tahap akhir vitelogenik dan penurunan yang cepat saat kondisi oosit matang dan ovulasi (Kagawa dkk., 1983; Sinjal, 2007). Penelitian untuk melihat hubungan tersebut telah dilakukan pada *striped bass Morone saxatilis* (Sullivan dkk., 1991), dan *Clarias macrocephalus* (Tan-Fermin dkk., 1997).

Pakan induk dengan level protein yang cukup akan diperlukan dalam sintesis hormon terkait dengan fungsi endokrin. Protein digunakan sebagai bahan dasar untuk sintesis hormon (Watanabe dkk., 1984; Ohkubo & Matsubara, 2002). Perkembangan gonad yang lambat diduga disebabkan kekurangan pakan menyebabkan kadar hormon gonadotropin yang dihasilkan oleh kelenjar pituitari menjadi rendah. Akibatnya respons ovarium menjadi berkurang sehingga dimungkinkan ovarium mengalami kegagalan untuk menghasilkan hormon estrogen dalam jumlah cukup (Cerdá dkk., 1996; Sinjal, 2007). Pemberian protein dengan kadar yang cukup pada induk pada penelitian ini dapat digunakan untuk pembentukan hormon steroid (terutama estrogen) tercukupi.

Mengingat peranan nutrisi dalam pakan induk terutama kadar protein untuk meningkatkan produksi estrogen sudah diteliti dan induksi laserpunktur pada titik reproduksi lele dapat meningkatkan produksi hormon gonadotropin, namun untuk induksi laserpunktur yang dikombinasikan dengan kadar protein dalam pakan induk lele untuk meningkatkan kadar hormon estrogen belum diketahui. Untuk itu perlu dikaji induksi laserpunktur dan kombinasi kadar protein dalam pakan induk terhadap profil kadar hormon estrogen.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2012 hingga Agustus 2013 di Unit Pengelola Budidaya Air Tawar (UPBAT) Kepanjen, Malang. Penelitian faktorial ini terdiri atas faktor I: induksi laserpunktur

dan tanpa induksi laserpunktur dan faktor II: kadar protein pakan (30, 35, dan 40%) dengan rancangan penelitian RAK yang diulang 4 kali. Induksi dengan laserpunktur dilakukan seminggu sekali selama 8 minggu. Ikan uji sebanyak 172 ekor induk lele betina matang gonad pertama kali memijah dengan bobot badan 900–1500 gram dengan umur sekitar 1–1,5 tahun berasal dari satu populasi diperoleh dari UPBAT Kepanjen. Sejumlah 172 ekor induk lele jantan matang gonad 1–1,5 tahun diperlukan untuk memijahkan saja. Induk lele jantan dan betina dipelihara dalam kolam terpal ukuran 2 m × 2 m × 90 cm terpisah. Aklimatisasi selama satu minggu diberi pakan formula dengan kandungan protein 30% setiap pagi dan sore hari yang diberikan sebanyak 6% dari bobot badannya.

Setelah dilakukan aklimatisasi, induk lele dipijahkan di kolam terpal khusus untuk pemijahan secara berpasangan. Kondisi ovarium setelah induk lele memijah adalah sama (kondisi awal sama) yang diasumsikan tidak mengandung telur yang matang setelah memijah (minggu ke-0) (Kusuma dkk., 2007). Pemberian protein pakan 30, 35, dan 40% pada induk (Sotolu, 2010) dan induksi laserpunktur pada titik reproduksi, tepatnya di 2/3 bagian dari ventral tubuh selama 15 detik, setiap minggu selama 8 minggu dan sebagai pembanding kelompok tanpa diinduksi laserpunktur (Kusuma dkk., 2007).

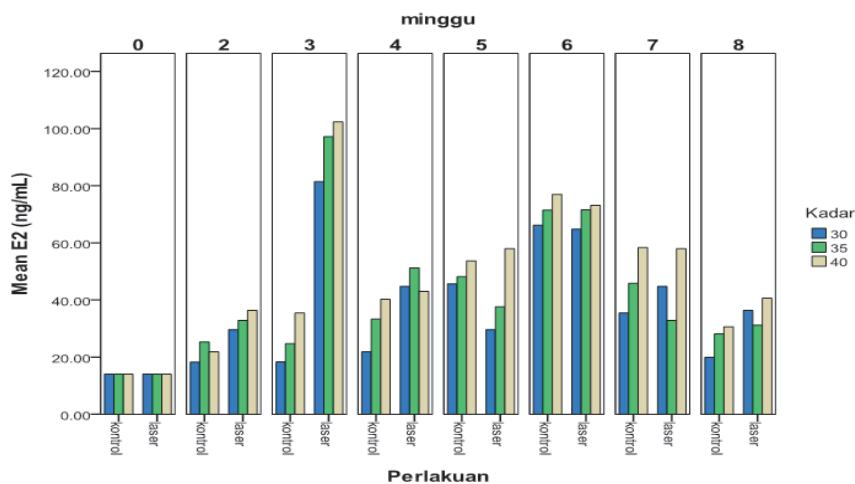
Sampel darah diambil dari pembuluh darah di daerah ekor dengan *disposable spuite* (Taghizadeh dkk., 2013) dari empat ekor induk lele setelah memijah (minggu ke-0 setelah memijah). Prosedur yang sama dilakukan dari minggu ke-2 sampai minggu ke-8 secara sampling diambil 4 ekor/perlakuan/minggu. Kadar Estrogen diukur dengan menggunakan metode ELISA dengan user manual Elisa kit (Cusabio) Fish Estradiol (E2), Catalog Number: CSB-E13017Fh.

Analisis data kadar hormon estrogen setelah induksi laserpunktur dan pemberian kadar protein dalam pakan induk lele menggunakan Anava dan dilanjutkan dengan uji BNT, menggunakan SPSS software ver. 17.0 for windows.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Peningkatan kadar hormon estrogen dalam plasma darah ikan lele tertinggi terjadi pada minggu ke-3 setelah memijah (lebih dari 100 ng/ml) dan terjadi peningkatan kadar estrogen kembali pada minggu ke-6 setelah memijah (sekitar 76 ng/ml) pada kelompok ikan yang diinduksi laserpunktur dengan kadar protein 30, 35, dan 40%. Selanjutnya, minggu berikutnya mengalami penurunan (minggu ke-7 dan ke-8). Untuk kelompok tanpa diinduksi laserpunktur dari minggu ke-0 sampai dengan minggu ke-6 setelah memijah mengalami peningkatan kadar estrogen dan puncaknya pada minggu ke-6 setelah memijah (sekitar 80 ng/ml), selanjutnya mengalami penurunan kembali untuk ke-3 kadar protein. Namun, pada kadar protein 40% menghasilkan kadar estrogen tertinggi dibandingkan dengan kadar protein lainnya (Gambar 1).

Untuk mengetahui pengaruh pemberian kadar protein pakan induk dan induksi laserpunktur dilakukan uji Anava. Hasil uji Anava menunjukkan bahwa kadar estrogen ditinjau pada efek utama dan interaksi secara bersama-sama menunjukkan bahwa efek pemberian kadar protein, induksi laserpunktur dan waktu (per minggu) adalah signifikan ($P < 0,000$). Berdasarkan uji BNT bahwa kadar estrogen tertinggi dalam plasma darah ikan lele dihasilkan dari kelompok yang diinduksi laserpunktur dengan kadar protein 40% pada minggu ke-3 adalah tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya ($P < 0,05$) (Tabel 1).



Gambar 1. Profil kadar hormon estrogen (E2) setelah pemberian kadar protein dan induksi laserpunktur

Tabel 1. Profil kadar estrogen induk ikan lele setelah induksi laserpunktur dan pemberian pakan

Perlakuan	Kadar estrogen (ng/mL) pada protein 30%	Kadar estrogen (ng/mL) pada protein 35%	Kadar estrogen (ng/mL) pada protein 40%
Minggu ke-0			
Tanpa IL	34,565 ± 1,8296 ^a	34,565 ± 1,8296 ^a	34,565 ± 1,8296 ^a
IL	34,565 ± 1,8296 ^a	34,565 ± 1,8296 ^a	34,565 ± 1,8296 ^a
Minggu ke-2			
Tanpa IL	39,365 ± 2,0055 ^a	42,3125 ± 1,577 ^a	48,71 ± 3,7676 ^b
IL	48,995 ± 1,3335 ^b	49,8625 ± 5,4761 ^b	57,9225 ± 2,10345 ^c
Minggu ke-3			
Tanpa IL	43,085 ± 1,9339 ^b	47,6125 ± 1,688 ^b	54,5375 ± 1,4407 ^b
IL	97,8325 ± 4,7305 ^e	97,1275 ± 5,1428 ^e	102,32 ± 4,0564 ^e
Minggu ke-4			
Tanpa IL	45 ± 5,8129 ^b	53,15 ± 3,2644 ^b	65,21 ± 6,9303 ^c
IL	64,7675 ± 4,0345 ^c	65,7725 ± 3,0664 ^c	73,88 ± 2,5163 ^d
Minggu ke-5			
Tanpa IL	62,945 ± 3,7042 ^c	61,9975 ± 4,6420 ^c	75,2425 ± 2,13 ^d
IL	45,8775 ± 4,1171 ^b	45,8775 ± 1,9236 ^b	69,08 ± 25,22 ^d
Minggu ke-6			
Tanpa IL	65,495 ± 3,0755 ^c	91,48 ± 3,604 ^e	96,9675 ± 1,4170 ^e
IL	64,635 ± 1,7076 ^c	70,6225 ± 1,2938 ^d	78,335 ± 2,7990 ^d
Minggu ke-7			
Tanpa IL	43,175 ± 1,8543 ^b	41,33 ± 1,5619 ^a	46,6 ± 1,1687 ^b
L I	40,965 ± 2,2167 ^a	55,64 ± 1,2938 ^c	44,6375 ± 3,4654 ^b
Minggu ke-8			
Tanpa IL	30,1475 ± 1,7692 ^a	32,415 ± 2,6085 ^a	32,71 ± 0,727 ^a
IL	32,9725 ± 0,2711 ^a	33,0925 ± 0,7467 ^a	33,165 ± 1,6204 ^a

Keterangan: Notasi huruf yang sama menunjukkan bahwa tidak berbeda nyata

Induksi laserpunktur pada titik reproduksi ikan lele dapat meningkatkan kadar hormon estrogen. Tinggi rendahnya kadar estrogen ini tergantung pada tahap reproduksi ikan. Untuk kelompok induksi laserpunktur, minggu ke-0 dalam penelitian ini merupakan tahap *post-spawning*, minggu pertama sampai minggu kedua merupakan tahap pre-vitelogenik yang kadar hormon estrogen mengalami penurunan dan minggu ke-3 setelah *spawning* merupakan tahap vitelogenik (pada tahap akhir vitelogenik) kadar estrogen mencapai kadar puncak (100 ng/ml). Minggu ke-4 adalah *post-vitelogenik* merupakan tahap matang gonad kadar estrogen menurun. Minggu ke-5 dan ke-6 merupakan tahap ovulasi atau *spawning* yang kadar estrogen mengalami peningkatan. Minggu selanjutnya kadar estrogen mengalami penurunan. Berbeda dengan kelompok kontrol, minggu ke-0 sampai dengan minggu ke-4 adalah tahap pre-vitelogenik, tahap minggu ke-5 sampai ke-6 adalah tahap vitelogenik (minggu ke-6 kadar estrogen sekitar 80 ng/ml). Minggu ke-7 sampai ke-8 adalah tahap *post-spawning*. Tahap vitelogenik dicapai pada minggu ke-3 untuk kelompok induksi laserpunktur dan minggu ke-6 untuk kelompok kontrol (Gambar 1). Berarti percepatan waktu tahap

vitelogenik 3 minggu lebih cepat dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal ini didukung oleh Hosseinzadeh dkk. (2013) bahwa kadar estrogen dapat diukur dalam empat tahap dari pertumbuhan ovarium pada Persian sturgeon. Pada tahap II (*cortical alveolus*) estrogen sebesar $0,78 \pm 0,10$ ng/mL dan mencapai kadar estrogen sangat tinggi yaitu $5,33 \pm 1,06$ ng/mL pada tahap III (vitelogenik), tahap matang (tahap IV) sebesar $1,978 \pm 0,48$ dan tahap V (*post-spawning* atau ovulasi) sebesar $2,31 \pm 0,35$ ng/ml). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa efek induksi laserpunktur dan pemberian kadar protein dalam pakan dapat meningkatkan kadar estrogen. Kadar estrogen dalam penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan hasil yang dilakukan oleh Hosseinzadeh dkk. (2013).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa induksi laserpunktur pada titik reproduksi ikan lele terbukti dapat meningkatkan kadar estrogen. Didukung oleh Kusuma (2013) bahwa efek induksi laserpunktur dapat menginduksi neuron GABAergic untuk mensintesis γ -aminobutyric acid (GABA) agar langsung menyampaikan pesan melalui adanya kontak sinaptik antara terminal saraf GABAergic dan neuron GnRH di hipotalamus. Pelepasan GnRH

ini meregulasi pituitary untuk melepaskan GtH, akibatnya kadar hormon GtH-I dan GtH-II tinggi di dalam darah. GtH-I merangsang dihasilkannya hormon estrogen. Hal ini terbukti bahwa induksi laserpunktur di titik reproduksi ikan lele betina dapat merangsang sel granulosa untuk memproduksi hormon estrogen lebih banyak dibandingkan kelompok tanpa diinduksi laserpunktur.

Pada penelitian ini pemberian kadar protein berpengaruh terhadap produksi estrogen. Karena protein merupakan bahan baku pembentuk hormon. Pemberian kadar protein pakan induk pada penelitian ini dapat digunakan untuk pembentukan hormon steroid (estrogen terutama tercukupinya dari pakan formula sumber protein, karbohidrat, lemak). Hal ini didukung oleh Ohkubo & Matsubara (2002), El-Sayed dkk. (2003), Yaron dkk. (2003) dan Aizen (2007) bahwa protein digunakan sebagai bahan dasar untuk sintesis hormon dan sintesis vitelogenin.

SIMPULAN

Induksi laserpunktur dan pemberian kadar protein dalam pakan induk lele dapat meningkatkan kadar hormon estrogen. Kadar protein 40% paling baik untuk menghasilkan kadar estrogen.

DAFTAR PUSTAKA

- Aizen J, Kasuto H, Golan M, Zakay H, & Levavi-Sivan B. 2007. Tilapia follicle-stimulating hormone (FSH): Immunochemistry, stimulation by gonadotropin-releasing hormone, and effect of biologically active recombinant FSH on steroid secretion. *Biol of Reprod.* 76: 692-700. DOI 10.1095/biolreprod.106.055822.
- Arukwe A & Goksøyr A, 2003. Review. Eggshell and egg yolk proteins in fish: hepatic proteins for the next generation: oogenetic, population, and evolutionary implications of endocrine disruption. *Comparative Hepatology* 2 (4): 1-21.
- Çek Ş & Yilmaz E, 2007. Gonad development and sex ratio of Sharptooth Catfish (*Clarias gariepinus* Burchell, 1822) cultured under laboratory conditions. *Turk. J. Zool.* 31: 35-46.
- Cerda JBG, Calman CH, Jr. Lafleur & Limesand S, 1996. Pattern of vitellogenesis and follicle maturational competence during the ovarian follicular cycle of *Fundulus heteroclitus*. *Gen.Comp. Endocrinol.* 103: 24 -35.
- El-Sayed AFM, Mansour CR & Ezzat AA, 2003. Effects of dietary protein levels on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock reared at different water salinities. *Aquaculture.* 220: 619-632.
- Hariani D & Kusuma PSW, 2008. Teknologi laserpunktur untuk mempercepat siklus reproduksi ikan lele *Dumbo*. *Jurnal Penelitian UNIBRAW.* 11-2: 128-133.
- Hariani D & Kusuma PSW, 2009. Biostimuli reproduksi ikan lele *Dumbo* betina dengan penembakan laserpunktur. *Berk. Penel. Hayati.* Edisi Khusus. No. 3D: 79-83.
- Hosseinzadeh M, Imanpoor MR, Shaban A & Nekoubin H, 2013. Seasonal changes in serum calcium and 17 β -estradiol levels in Persian Sturgeon, *Acipenser persicus*. *J Aquac Res Development.* 4: 159 doi:10.4172/2155-9546.1000159.
- Izquierdo, M.S., H. Fernandez-Palacios. and A.G.J. Tacon. 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture* 197: 25-42.
- Kagawa H, Young G and Nagahama Y. 1983. Relationship between seasonal plasma estradiol-17 β and testosterone levels and in vitro production by ovarian follicles of Amago Salmon (*Oncorhynchus rhodurus*). *Biology of Reproduction.* 29: 301-309.
- Kapateh AH, 2009. Effect of dietary lipid sources on the reproductive performance of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *PhD. Thesis.* University of Stirling, Scotland. UK.
- Kusuma PSW, Hariani D, Mukti AT & Satyantini WH, 2007. Penyediaan broodstock ikan lele *dumbo* (*Clarias gariepinus*) menggunakan teknologi laserpunktur sebagai upaya penyediaan benih skala massal. *Laporan Penelitian.* APBD Provinsi Jawa Tengah TA 2007.
- Kusuma PSW, Marhendra APW, Aulanni'am & Marsoedi, 2012. Mekanisme pelepasan hormon gonadotropin ikan lele (*Clarias sp*) setelah diinduksi laserpunktur pada titik reproduksi. *Makalah.* Seminar Nasional Tahunan IX Hasil Penelitian Perikanan dan Kelautan UGM pada Tanggal 14 Juli 2012.
- Kusuma PSW, 2013. Mekanisme pelepasan hormone gonadotropin ikan lele (*Clarias sp*) setelah dipapar laserpunktur pada titik reproduksi. *Disertasi.* Pascasarjana Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya, Malang.
- Nagahama Y, 1983. The functional morphology of the teleost gonads. In: W. S. Hoar & D. J. Randall (eds.), *Fish physiology.* New York, Academic Press, v. 9, part A, pp. 233-275.
- Ohkubo N & Matsubara T, 2002. Sequencetial utilization of free amino acids, yolk protein and lipids in developing eggs and yolk-sac larvae of barfin flounder, *Verasper moseri*. *Marine Biology.* 140: 187-196.
- Santos EM, Rand-Weaver M & Tyler CR, 2001. Follicle-stimulating hormone and its alpha and beta subunits in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): purification, characterization, development of specific radioimmunoassays, and their seasonal plasma and pituitary concentrations in females. *Biol. Reprod.* 65: 288-294.
- Sinjal HJ, 2007. Kajian penampilan reproduksi lele (*Clarias gariepinus*) betina melalui penambahan ascorbylphosphate dan magbesium sebagai sumber vitamin C dan implantasi dengan estradiol-17 β . *Disertasi.* Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Sotolu AO, 2010. Effects of varying dietary protein levels on the breeding performance of *Clarias gariepinus* broodstocks and fry growth rate. *Livestock Research for Rural Development* 22 (4).
- Sullivan CV, Tao Y, Hodson RG, Bennet HA & Woods LC, 1991. Vitellogenin and vitellogenesis in Striped Bass (*Morone saxatilis*). pp 315- 317. *Proceedings of The Fourth International Symposium on The Reproductive Physiology of Fish.* Univ East Anglia, Norwich, UK. 7-12 July 1991.
- Tan-Fermin JD, Ijiri S, Ueda H, Adachi S & Yamauchi K, 1997. Ovarian development and serum steroid hormone pfiles in hatchery-bred female catfish *Clarias macrocephalus* (Ganther) during an annual reproductive cycle. *Fisheries Science.* 63: 867-872.
- Utiah A, 2006. Penampilan reproduksi induk ikan Baung (*Hemibagrus nemurus* Blkr) dengan pemberian pakan buatan yang ditambahkan asam lemak n-6 dan n-3 dan dengan implantasi Estradiol-17 β dan Tiroksin. *Disertasi.* Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Watanabe T, Arakawa T, Kitajima C & Fujita S. 1984. Effect of nutrition quality of broodstock diets on reproduction of red seabream. *Bull. Jpn. Soc.Sci. Fish.* 50: 495-501.
- Yaron Z, Gur G, Melamed P, Rosenfeld H, Elizur A & Levavi-Sivan B, 2003. Regulation of fish gonadotropins. *Int Rev Cytol.* 225: 85-131.