

Artikel Orisinal

Induksi maturasi ikan sidat *Anguilla bicolor* menggunakan kombinasi hormon berbeda

Induced maturation of eel *Anguilla bicolor* using different hormone combination

Agus Oman Sudrajat*, Antharest Sugati, Alimuddin

Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor
Kampus IPB Dramaga Bogor, Jawa Barat 16680

*Surel: omanipb@gmail.com / agusomans@yahoo.com

ABSTRACT

Artificial reproduction of eel *Anguilla bicolor* is not yet well-established because of insufficient broodstock number. In this research, induction of Indonesian eel gonad maturation was performed by hormonal with a combination of *pregnant mare serum gonadotropin* (PMSG), *human chorionic gonadotropin* (HCG) antidopamin and recombinant *growth hormone* (rGH). This research consisted of five treatments namely: control (NaCl 0,9%), PMSG 20 IU/kg, PMSG 20 IU/kg + antidopamin 10 ppm/kg, PMSG 20 IU/kg + antidopamin 10 ppm/kg + rGH 10 µg/kg and PMSG 20 IU/kg + HCG 10 IU/kg. Each treatment contained 10 fishes. Hormonal induction was conducted by intramuscular injections, as much as five times at intervals of seven days. Furthermore observations on gonadal development were performed after injection for 21 days. The results showed that the treatment generated pregnancy level of 100%, while control was 0%. The best treatment was PMSG 20 IU/kg + antidopamin 10 ppm/kg+ rGH 10 µg/kg, seen from a more mature phase of the gametes, spermatocytes in male and oocytes with perinukleolar phase in female fish. Eel at the body weight of 120.4 to 207.8 g and at the body length of 40.9 to 43.1 cm was male, at the body weight of 274.8 g and at the body length of 47 cm was in intersexual phase, and at the body weight of 323.4 g and at the body length of 53 cm was female.

Keywords: *Anguilla bicolor*, antidopamin, hormones, PMSG, rGH, HCG

ABSTRAK

Pemijahan ikan sidat secara buatan belum dapat dilakukan karena keterbatasan induk matang gonad. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian hormon terhadap percepatan proses perkembangan gonad ikan sidat (*Anguilla bicolor*). Hormon yang digunakan adalah kombinasi dari *pregnant mare serum gonadotropin* (PMSG), *human chorionic gonadotropin* (HCG), antidopamin dan recombinant *growth hormone* (rGH). Induksi hormonal untuk mempercepat perkembangan gonad ikan sidat dilakukan melalui lima perlakuan yaitu yaitu kontrol (NaCl 0,9%), PMSG 20 IU/kg, PMSG 20 IU/kg+antidopamin 100 ppm/kg, PMSG 20 IU/kg+antidopamin 100 ppm/kg+rGH 10 µg/kg dan PMSG 20 IU/kg+HCG 10 IU/kg. Setiap perlakuan dilakukan pada sepuluh ekor ikan sidat. Aplikasi induksi hormonal dilakukan melalui penyuntikan secara intramuskular sebanyak lima kali dengan interval tujuh hari sekali, selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap perkembangan gonad selama 21 hari dengan interval tujuh hari sekali setelah penyuntikan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan hormonal menyebabkan tingkat kebuntingan sebanyak 100% pada ikan perlakuan, sedangkan kontrol sebanyak 0%. Kombinasi terbaik adalah PMSG+antidopamin+rGH, terlihat dari fase gamet yang lebih matang yaitu mencapai fase spermatosit pada ikan jantan dan oosit dengan fase perinukleolar pada ikan betina. Berdasarkan hasil penelitian, ikan sidat dengan bobot 120,4–207,8 g dan panjang 40,9–43,1 cm masih berjenis kelamin jantan. Ikan dengan bobot 274,8 g dan panjang 47 cm masih berada pada fase peralihan kelamin, sedangkan pada bobot 323,4 dan panjang 53 cm sudah berjenis kelamin betina.

Kata kunci: *Anguilla bicolor*, antidopamin, hormon, PMSG, rGH, HCG

PENDAHULUAN

Ikan sidat merupakan komoditas perikanan Indonesia yang memiliki potensi pasar yang tinggi.

Hal ini dapat diketahui melalui tingginya minat negara-negara maju akan konsumsi ikan ini, seperti Jepang, Hongkong, Jerman dan Italia. Negara konsumen terbesar ikan sidat adalah Jepang,

dengan rata-rata 120.000 ton/tahun (Kagawa *et al.*, 2006). Harga ikan sidat jenis *Anguilla bicolor* ukuran konsumsi >250 g/ekor pada pasar lokal berkisar antara Rp 120.000–150.000/kg, sedangkan pada pasar internasional berkisar antara Rp 300.000–600.000/kg.

Benih ikan sidat masih mengandalkan sediaan di alam yang kelimpahannya fluktuatif sepanjang tahun. Jenis *A. bicolor* banyak ditemukan pada bulan November–Mei, sedangkan untuk jenis *Anguilla marmorata* banyak ditemukan pada bulan April–Okttober (Wouthuyze *et al.*, 2009). Penangkapan benih ikan sidat dari alam secara terus-menerus dapat menyebabkan kepunahan, apabila tidak diikuti dengan upaya untuk mendapatkan induk dan memproduksi benih di luar habitatnya. Upaya memproduksi benih secara terkontrol masih terkendala sediaan induk ikan sidat. Kegiatan pembesaran umumnya dilakukan untuk menghasilkan ikan sidat ukuran konsumsi tanpa ada upaya untuk mencoba menghasilkan calon induk, karena adanya perbedaan ukuran jantan dan betina yang belum pasti untuk setiap jenis ikan sidat.

Ikan sidat merupakan hewan hermafrodit protandri yang mengalami peralihan kelamin dari jantan ke betina. Davey dan Jellyman (2005) menyebutkan bahwa diferensiasi kelamin sidat *Anguilla anguilla* jantan terlebih dahulu melalui tahap interseks, sedangkan gonad *indifferent* dapat langsung berdiferensiasi menjadi ovarium. Diferensiasi sempurna menjadi testis ditemukan pada tahap *silver eel* sementara ovarium pada tahap *yellow eel* (Huertas & Cerdá, 2006). Rovara (2007) menjelaskan bahwa pada *A. bicolor* dengan ukuran 35,0–39,5 cm telah menunjukkan gonad yang diduga testis, sedangkan pada ukuran 45,0–74,9 cm telah menunjukkan gonad yang diduga ovarium.

Upaya penyediaan calon induk ikan sidat merupakan hal penting yang harus dilakukan agar pasokan benih tidak seluruhnya tergantung dari alam. Teknik manipulasi hormonal ke dalam tubuh ikan baik secara oral, injeksi maupun implantasi untuk merangsang pematangan gonad. Perlakuan hormon merupakan salah satu solusi pada pembenihan ikan yang sulit matang gonad pada lingkungan budidaya seperti halnya ikan sidat. Di Perancis, Jerman, Polandia, Denmark, Italia, dan Jepang uji coba pematangan gonad ikan sidat melalui injeksi hormon dan hipofisis telah berhasil mencapai kematangan penuh (Herianti, 2005; Kagawa *et al.* 2009; Mordenti *et al.*, 2012). Penggunaan hormon *human chorionic*

gonadotropin (HCG) dengan dosis 1,5 IU/g ikan pada ikan sidat selama lima minggu mampu mempercepat kematangan gonad (Gallego *et al.*, 2012). Kombinasi hormon PMSG 15 IU dan antidopamin 5 ppm/kg ikan dapat mempercepat kematangan gonad betina ikan belut sawah dalam waktu lima minggu penyuntikan (Wibisono, 2012).

Hormon PMSG terdapat dalam serum darah kuda atau kerabatnya seperti zebra dan keledai yang sedang bunting (Allen, 2005; Wilsher & Allen, 2011; Murphy, 2012). Menurut Meira *et al.* (2012), sintesis hormon PMSG terjadi dalam sel epitel berbentuk mangkuk dari jaringan endometrium uterus. Setelah disintesis, hormon PMSG akan dibawa dalam sirkulasi darah untuk selanjutnya dibawa menuju kelenjar ovarium. Sekresi hormon PMSG oleh sel endometrium pada kuda mulai meningkat pada hari ke-40 dan mencapai puncaknya pada hari ke-80 masa kebuntingan. Kemudian kadarnya menurun setelah hari ke-80 dari masa kebuntingan dan mencapai kadar terendah pada hari ke-180 dari masa kebuntingan. Pada hewan betina, ovarium merupakan target organ dari hormon PMSG. Setelah berikatan dengan target organ PMSG mengalami reduksi ikatan disulfida, akibatnya mengalami penurunan fungsi biologis (Jablonka-Shariff *et al.*, 2005). PMSG merupakan golongan gonadotropin yang unik, hormon ini memiliki karakteristik ganda seperti *follicle stimulating hormone* (FSH) dan *luteinizing hormone* (LH) (Stewart *et al.*, 2004).

Antidopamin adalah salah satu zat kimia yang dapat menghentikan kerja dopamin, sedangkan dopamin itu sendiri merupakan penghambat aktivitas pelepasan hormon GnRH dari hipotalamus. Dopamin menghambat pematangan gonad dengan bertindak menjadi *gonadotropin-release inhibiting factor* (GRIH) (Dufour *et al.*, 2005). Dengan adanya antidopamin, diharapkan *neurotransmitter* yang menghambat pematangan gonad dapat dihambat sehingga proses pematangan gonad dapat lebih cepat tercapai.

Hormon pertumbuhan (*growth hormone*, GH) merupakan *pluripotent* yang diproduksi oleh kelenjar pituitari pada hewan vertebrata dan memiliki fungsi dalam hampir semua proses fisiologis tubuh. Pada ikan, GH berperan dalam osmoregulasi, metabolisme nutrisi, serta pertumbuhan tulang dan jaringan lunak (Reinecke *et al.*, 2005). Selain itu, hormon pertumbuhan juga mempengaruhi osmoregulasi dan reproduksi (Reinecke *et al.*, 2005; Sakamoto & McCormick,

2006; Reinecke, 2010). Van der Kraak *et al.* (1990) menjelaskan bahwa adanya keterkaitan hormon pertumbuhan dalam regulasi fungsi dan kinerja ovarium pada ikan mas koki (*Carassius auratus*).

Hormon merupakan zat yang penting dalam menentukan pematangan gonad pada ikan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kombinasi hormon PMSG, HCG, antidopamin, dan rGH terhadap pematangan gonad, dan status seksual calon induk sidat.

BAHAN DAN METODE

Persiapan wadah

Wadah yang digunakan dalam penelitian ini adalah keramba jaring tancap pada tambak dengan ukuran $1 \times 1,5 \times 1 \text{ m}^3$ sebanyak lima unit. Satu unit karamba memiliki padat penebaran 8 ekor/ m^3 . Wadah percobaan diisi air dengan ketinggian sekitar 70 cm dan dilengkapi dengan sistem aerasi gantung serta *tray/anco* sebagai tempat pakan. Masing-masing wadah diberi waring sebagai penutup untuk mencegah ikan sidat keluar dari wadah percobaan.

Ikan uji

Ikan sidat yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari jenis *Anguilla bicolor bicolor* dengan jumlah awal 40 ekor, bobot awal ikan sidat yang digunakan berkisar 105,0–175,6 g.

Pemeliharaan ikan uji

Ikan sidat dipelihara selama 63 hari. Proses aklimatisasi dilakukan selama tujuh hari. Induksi hormon dilakukan pada hari kedelapan hingga hari ke-42. Pada hari ke-43 hingga ke-63 dilakukan pemeliharaan pascainduksi. Ikan diberi pakan komersial dengan merk dagang Megami Marine Fishfeed SPM 4B sebanyak satu kali sehari pada pukul 18.00. Pakan yang digunakan berbentuk pasta dengan komposisi nutrien pakan berupa protein 25%, lemak 5%, serat kasar 6%, kadar abu 12%, dan kadar air 12%. Pakan diberikan secara *restricted* dengan *feeding rate* (FR) 3%. Pengukuran kualitas air dilakukan setiap minggu. Data hasil pengukuran kualitas air selama pemeliharaan dapat dilihat pada Tabel 1.

Penyuntikan ikan sidat

Ikan disuntik hormon secara *intramuscular* sebanyak lima kali penyuntikan dengan interval tujuh hari sekali. Sebelum ikan sidat disuntik, dilakukan anestesi menggunakan es batu

hingga suhu mencapai 8 °C. Dosis penyuntikan disesuaikan dengan bobot hewan uji, sedangkan untuk perlakuan kontrol, dilakukan penyuntikan dengan NaCl 0,9% (larutan fisiologis) sebanyak 0,5 mL/ekor.

Pengambilan sampel gonad dan hepatopankreas

Ikan dibedah untuk pengambilan gonad dan hepatopankreas. Sampel gonad dan hepatopankreas digunakan untuk perhitungan *gonadosomatic index* (GSI), *hepatosomatic index* (HSI), dan pembuatan preparat histologi gonad. Pengambilan satu ekor ikan sidat dilakukan pada hari ketujuh hingga hari ke-63 dengan interval tujuh hari sekali.

Histologi gonad

Pembuatan preparat histologi gonad dilakukan untuk mengetahui adanya pengaruh induksi hormonal terhadap perkembangan sel gamet secara spesifik pada ikan sidat. Pembuatan preparat histologi gonad dilakukan pada masing-masing perlakuan sebanyak satu sampel yang dilakukan pada hari ketujuh, hari ke-42, dan hari ke-63, dengan total sebanyak 11 sampel gonad yang dibuat preparat histologi. Tahapan dalam proses pembuatan preparat histologi mengacu pada McMillan (2007).

Rancangan percobaan

Penelitian terdiri atas lima perlakuan, antara lain:

-Perlakuan TA	: kontrol (larutan fisiologis)
-Perlakuan TB	: PMSG 20 IU/kg + antidopamin 10 ppm/kg (20P+10AD)
-Perlakuan TC	: PMSG 20 IU/kg + antidopamin 10 ppm/kg + rGH 10 µg/kg (20P+10AD+10GH)
-Perlakuan TD	: PMSG 20 IU/kg (20P)
-Perlakuan TE	: GtH komersial (PMSG 20 IU/kg + HCG 10 µg/kg; 20P+10H)

Hormon PMSG yang digunakan adalah PMSG komersial dengan merk dagang Gonaser produksi perusahaan HIPRA. rGH yang digunakan berasal dari ikan kerapu kertang (*Ephinephelus lanceolatus*; ElGH) (Alimuddin *et al.*, 2010). GtH komersial (merk dagang Pz.G 600) yang digunakan mengandung kombinasi PMSG dan HCG dengan perbandingan 2:1.

Tabel 1. Kualitas air pemeliharaan ikan sidat (*Anguilla bicolor*)

Parameter	Hasil Pengukuran	Kualitas air optimum*)	Satuan
Suhu air	28–32	29–31	oC
pH	5,6–8,9	7–8	-
DO	1,7–7,1	>4,0	mg/L
Amonia	0,01–0,80	<0,10	ppm
Salinitas	0–4	0–5	ppt
Nitrit	0,04–0,20	<0,10	ppm

Sumber : *) Balai Layanan Usaha Produksi Perikanan Budidaya.

Parameter uji

Pertumbuhan bobot mutlak

Pertumbuhan bobot mutlak dihitung dengan rumus:

$$PBM = Wt - W0$$

Keterangan :

Wt = rerata bobot ikan pada waktu t (g)

W0 = rerata bobot ikan awal percobaan (g)

Gambaran makroskopis gonad dan status seksual

Pengamatan makroskopis gonad dilakukan dengan cara mengisolasi gonad ikan sidat dari tubuhnya untuk kemudian diamati morfologi, dan diidentifikasi status seksualnya dengan mengacu pada Tesch (1977), serta Davey dan Jellyman (2005).

Perkembangan gamet

Perkembangan gamet diamati berdasarkan fase gametogenesis yang tampak pada preparat histologi. Penetapan fase perkembangan gonad mengacu pada Herianti (2005). Tahap perkembangan testikular seperti ditunjukkan oleh Tabel 3 ditentukan berdasarkan proporsi spermatosit (primer dan sekunder), spermatid, dan spermatozoa (Correia *et al.*, 2009; Tomkiewicz *et al.*, 2011).

Tingkat kebuntingan

Tingkat kebuntingan ikan didapatkan berdasarkan keberadaan gamet jantan dalam testes atau betina dalam ovarium atau testes yang dibedah selama pemeliharaan. Pengamatan kebuntingan diawali pada hari ketujuh hingga hari ke-63 yang dibedah sebanyak satu ekor setiap tujuh hari. Tingkat kebuntingan merupakan persentase perbandingan antara ikan yang telah memiliki gamet dengan jumlah ikan secara keseluruhan.

Tingkat kebuntingan= ((induk yang bunting) x 100)/(induk keseluruhan)

Gonadosomatic index (GSI)

Nilai GSI dihitung berdasarkan perbandingan antara bobot gonad dengan bobot tubuh ikan dengan rumus:

$$GSI = Bg/Bt \times 100$$

Keterangan :

GSI = gonadosomatic index

Bg = bobot gonad (g)

Bt = bobot tubuh (g)

Hepatosomatic index (HSI)

HSI dihitung berdasarkan perbandingan antara bobot hati dengan bobot tubuh ikan dengan rumus:

$$HSI = Bh/Bt \times 100$$

Keterangan :

HSI = hepatosomatic index

Bh = bobot hati (g)

Bt = bobot tubuh (g)

Kualitas air

Pengujian parameter kualitas air yang berupa suhu, salinitas, pH, oksigen larut (DO), nitrit, dan amonia diukur setiap satu minggu sekali. Titik pengambilan air terdapat pada beberapa lokasi, yaitu pada bagian *inlet*, *outlet*, dan di dalam jaring. Pengukuran nilai parameter DO dan suhu dilakukan dengan metode pengukuran secara *in situ* (lokasi penelitian) pada waktu pagi dan malam hari. Waktu tersebut dipilih karena keduanya memiliki perbedaan kualitas air yang cukup ekstrim. Parameter lainnya diukur di Laboratorium Kualitas Air, Balai Layanan Usaha Produksi Perikanan Budidaya Karawang.

Analisis data

Semua data yang diperoleh diolah dengan bantuan perangkat lunak Microsoft Excel 2010. Data yang dihasilkan kemudian dibahas secara deskriptif.

Tabel 2. Perkembangan oosit

Fase	Keterangan
Fase kromatin nukleolus	Nukleus terlihat kompak dengan satu nukleolus yang relatif besar, ukuran folikel relatif kecil dan sitoplasma terpulas zat warna dengan kuat mencirikan ovarium masih belum berkembang
Fase perinukleoler	Terdapat nukleus dan beberapa nukleoli pada tepi nukleoplasma
Fase kortikal-alveoli	Terdapat butir-butir lipid di sekitar vesikula germinalis. Ukuran oosit relatif lebih besar.
Fase vitelogenik	Terdapat sitoplasma yang didominasi oleh butiran-butiran lemak
Maturasi	
Ovulasi	

Sumber : *)Balai Layanan Usaha Produksi Perikanan Budidaya.

Tabel 2. Perkembangan oosit

Fase	Keterangan
Prespermatogenik (regresi testes)	Lobular hanya berisi spermatogonia
Awal spermatogenik	Spermatosit dan spermatid mendominasi
Midspermatogenik	Proporsi yang sama antara spermatosit, spermatid, dan spermatozoa
Akhir spermatogenik	Adanya semua tingkatan, namun spermatozoa dominan
Pascapemijahan	

Sumber : *)Balai Layanan Usaha Produksi Perikanan Budidaya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

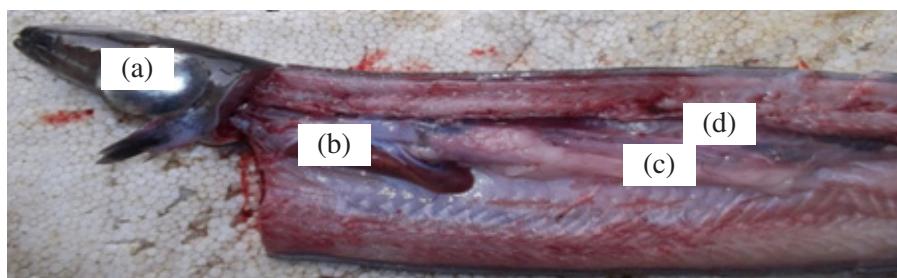
Gambaran makroskopis gonad dan status seksual

Gonad ikan sidat terletak berpasangan memanjang di lateral rongga perut, sejajar dengan lambung dan usus hingga batas anus (Gambar 1). Bentuk gonad ikan sidat berupa lamela tipis berlipat di bagian pangkal gonad dan berwarna putih susu. Terdapat perbedaan morfologi gonad dari awal hingga akhir pelakuan. Perbedaan gambaran gonad secara makroskopis tersaji pada Gambar 2. Pada akhir perlakuan (hari ke-63) gonad ikan sidat cenderung lebih besar dan memiliki lipatan yang lebih banyak dibandingkan awal perlakuan (hari ketujuh). Pada awal pemeliharaan, ikan uji dengan bobot 120,0 g dan panjang 41,5 cm memiliki ukuran gonad yang kecil dan sedikit lipatan. Ikan sidat pada perlakuan TA dengan bobot akhir 189,0 g dan panjang 42,5 memiliki ukuran gonad yang lebih besar dengan lamela yang lebih lebar tetapi lipatannya sedikit. Perlakuan TB dengan bobot ikan akhir 207,8 g dan panjang 41,5 cm menunjukkan gonad yang lebih berisi, lamela yang lebih lebar dan lipatan yang cukup banyak. Perlakuan TC dengan bobot ikan akhir 323,4 g dan panjang 53 cm menunjukkan gonad yang lebih kecil dan memiliki lamela menyisir beruratani di bagian ujung. Perlakuan TD dengan bobot ikan akhir 274,8 g dan panjang 47

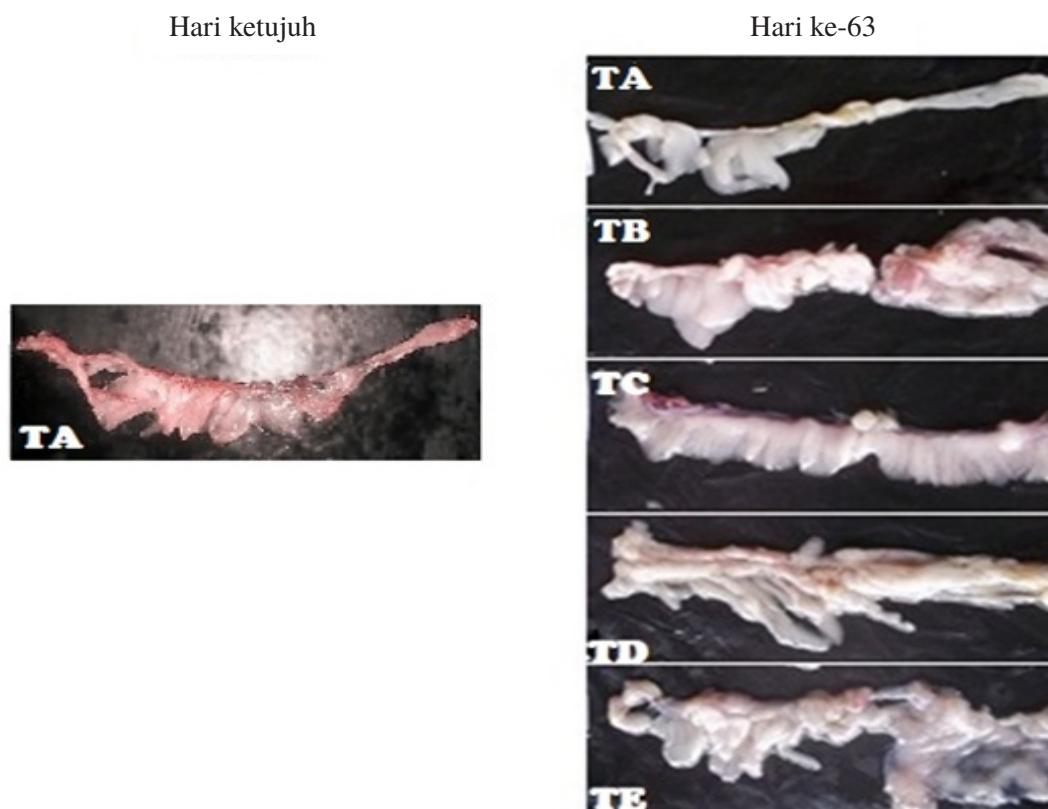
cm menunjukkan gonad yang besar dengan lamela yang lebih lebar dan berlipat-lipat. Perlakuan TE dengan bobot ikan akhir 202,6 g dan panjang 42,8 cm menunjukkan gonad yang besar, lamela yang lebar di bagian ujung dan berlipat-lipat.

Histologi gonad

Pengamatan histologi gonad ikan sidat dilakukan pada gonad hari ketujuh (sebelum penyuntikan), hari ke-42 (setelah lima kali penyuntikan), dan hari ke-63 (tiga minggu pascapenyuntikan terakhir). Gambaran histologi gonad ikan sidat tersaji pada Gambar 3. Terdapat perbedaan secara signifikan perbandingan antara histologi gonad pada perlakuan TA dengan perlakuan lainnya. Pada perlakuan TA tidak menunjukkan adanya sel gamet pada preparat, hanya terdapat jaringan lemak saja baik pada hari ke-42 dan hari ke-63 yang menandakan preparat tersebut bukan gonad. Pada perlakuan TB dan TE baik hari ke-42 maupun hari ke-63 hanya ditemukan spermatogonia saja. Pada perlakuan TC hari ke-42 terdapat dua sel gamet yang ditemukan yaitu spermatogonia dan spermatosit namun didominasi spermatosit. Hari ke-63 sel gamet yang ditemukan adalah oosit. Pada hari ke-42 pengamatan perlakuan TD hanya ditemukan spermatogonia saja sedangkan hari ke-63 ditemukan dua jenis sel gamet yaitu sel spermatid dan oosit.



Gambar 1. Posisi gonad ikan sidat (*Anguilla bicolor*). Keterangan: (a) kepala, (b) hati, (c) gonad kiri, (d) gonad kanan.



Gambar 2. Gambaran makroskopis gonad ikan sidat pada hari ketujuh dan hari ke-63. Keterangan: TA: kontrol; TB: 20P+10AD; TC: 20P+10AD+10GH; TD: 20P; TE: 20P+10H.

Berdasarkan preparat histologi yang diamati, dapat diketahui klasifikasi fase gametogenesis pada masing masing sampel ikan sidat, tersaji pada Tabel 4. Berdasarkan dominasi gamet yang ditemukan pada preparat histologis, dapat diketahui bahwa untuk perlakuan TC pada hari ke-42 menunjukkan sel sperma pada fase akhir prespermatogenik dan memasuki awal fase midspermatogenik sedangkan pada hari-63 menunjukkan sel telur pada fase perinukleolar. Perlakuan TD pada hari ke-42 menunjukkan sel sperma pada fase prespermatogenik sedangkan pada hari-63 menunjukkan sel telur pada fase kromatin nukleus dan sel sperma pada fase mid-spermatogenik. Perlakuan TB dan TE baik pada

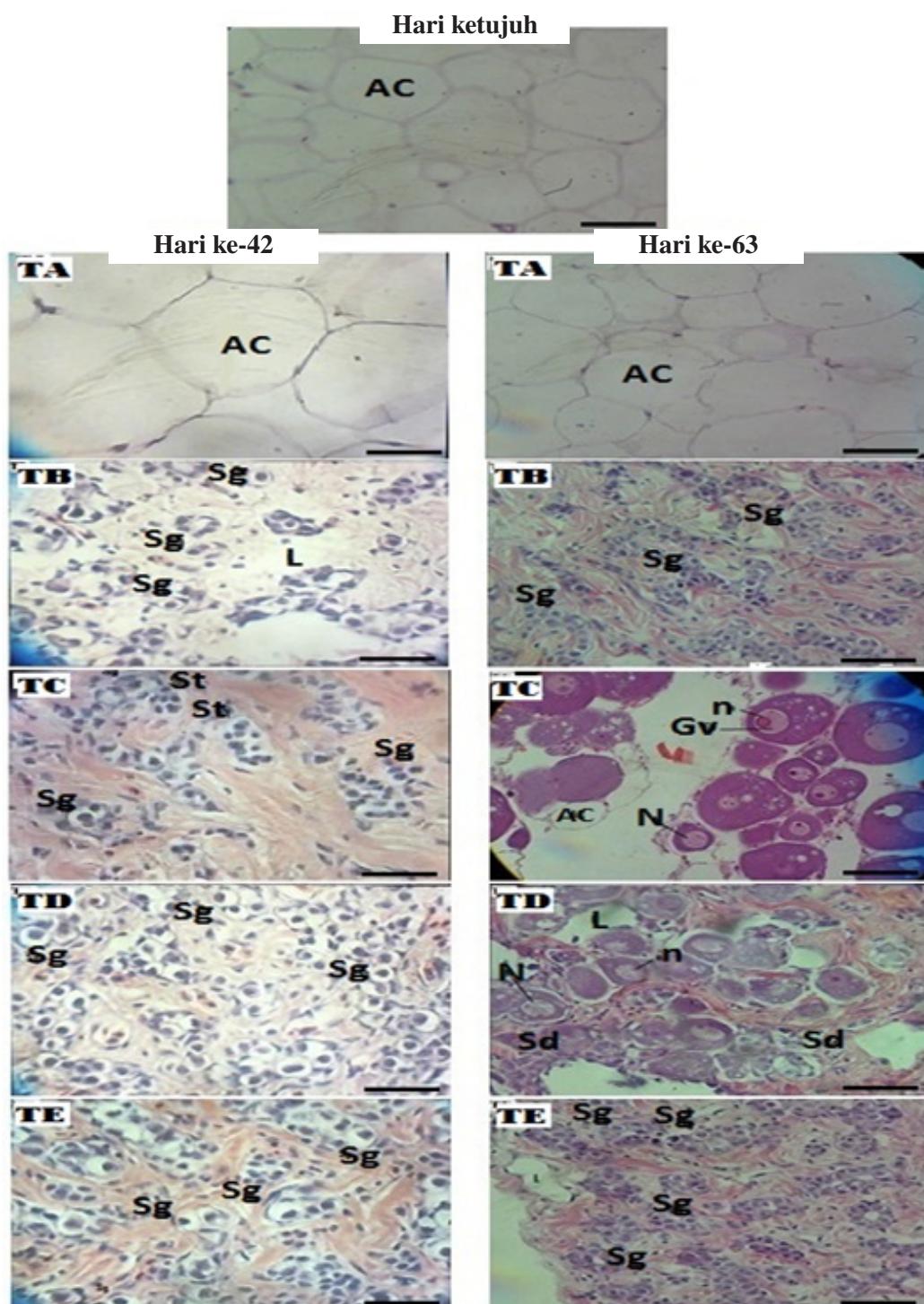
hari ke-42 maupun hari ke-63 menunjukkan sel sperma pada fase prespermatogenik.

Tingkat kebuntingan

Pengamatan tingkat kebuntingan calon induk sidat dilihat melalui pengamatan secara histologis untuk keberadaan sel telur atau sperma yang terdapat dalam gonad. Tingkat kebuntingan dengan nilai 100% diperoleh pada semua perlakuan, kecuali pada kontrol TA (0%) yang menandakan ketidadaan sel gamet pada preparat.

Gonadosomatic index (GSI)

Nilai GSI tersaji pada Gambar 4. Pada awal hingga akhir perlakuan berfluktuatif tetapi



Gambar 3. Histologi gonad ikan sidat hari ketujuh, ke-42 dan ke-63. Keterangan: TA: kontrol; TB: 20P+10AD; TC: 20P+10AD+10GH; TD: 20P; TE: 20P+10H. P: *pregnant mare serum gonadotropin* (PMSG); AD: antidopamin; GH: *recombinant growth hormone* (rGH); H: *human chorionic hormone* (HCG). AC: adipose cell; L: lumen; Gv: germinal vesicle; N: nukleus; n: nukleolus; Sd: spermatid; Sg: spermatogonia; St: spermatosit; skala bar: 50 μ m.

cenderung meningkat pada hari ke-63 untuk masing-masing perlakuan. Nilai GSI secara keseluruhan berkisar antara 0,623% hingga 2,905% yang merupakan nilai GSI maksimum pada perlakuan TE di hari ke-63. Berdasarkan pengamatan preparat histologis, kontrol tidak memberikan nilai GSI karena baik secara

morfologi maupun histologi tidak menandakan perkembangan gonad.

Hepatosomatic index (HSI)

Nilai HSI ikan semua perlakuan ditampilkan pada Gambar 5. Tidak berbeda dengan GSI, grafik HSI menggambarkan pola yang fluktuatif

Tabel 1. Kualitas air pemeliharaan ikan sidat (*Anguilla bicolor*)

Perlakuan	Ukuran (BW; BL)	Hari ke-	Fase	Status seksual
TA	120,0 g; 41,5 cm	14	-	Indiferent
	161,0 g; 42,0 cm	42	-	Indiferent
	189,0 g; 42,5 cm	63	-	Indiferent
TB	168,2 g; 42,0 cm	42	Prespermatogenik	Jantan
	207,0 g; 41,5 cm	63	Prespermatogenik	Jantan
TC	265,4 g; 52,6 cm	42	Akhir prespermatogenik dan awal midspermatogenik	Jantan
	323,4 g; 53,0 cm	63	Perinukleolar	Betina
TD	173,8 g; 43,5 cm	42	Prespermatogenik	Jantan
	274,8 g; 47,0 cm	63	Midspermatogenik dan kromatin nukleus	Peralihan
TE	163,0 g; 41,5 cm	42	Prespermatogenik	Jantan
	202,6 g; 42,8 cm	63	Prespermatogenik	Jantan

Keterangan: TA: kontrol; TB: 20P+10AD; TC: 20P+10AD+10GH); TD: 20P; TE: 20P+10H. P: *pregnant mare serum gonadotropin* (PMSG); AD: antidopamin; GH: *recombinant growth hormone* (rGH); H: *human chorionic hormone* (HCG). BW: bobot tubuh; BL: panjang tubuh.

dari awal hingga akhir perlakuan namun cenderung meningkat untuk perlakuan TA; dan TB, sedangkan pada perlakuan TC; TD, dan TE cenderung mengalami penurunan. Nilai HSI secara keseluruhan berkisar antara 0,8114% hingga 3,7898%. Pada perlakuan TA cenderung memberikan nilai yang lebih tinggi, dapat dilihat pada hari ke-21, ke-35, ke-46, dan ke-63. Nilai HSI maksimum terdapat pada perlakuan TC di hari ke-28 yaitu sebesar 3,7898%.

Pertumbuhan bobot mutlak

Pertumbuhan bobot mutlak (PBM) hingga akhir pemeliharaan disajikan pada Gambar 6. Pertumbuhan bobot mutlak ikan sidat menunjukkan hasil yang positif untuk semua perlakuan. Nilai PBM pada perlakuan TC dan TD terlihat lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya yaitu 67,2 g dan 64,67 g, sedangkan pada perlakuan TA, TB, dan TE berturut-turut adalah 20,4 g; 36,07 g; dan 48,13 g.

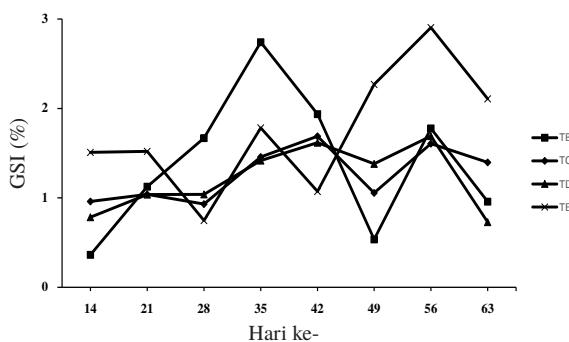
Pembahasan

Berdasarkan penelitian dapat diketahui bobot mutlak ikan pada masing-masing perlakuan mengalami peningkatan hingga akhir pemeliharaan. Pemberian pakan secara *restricted* memberikan respons nafsu makan yang cukup baik sehingga menghasilkan pertumbuhan yang baik pula. Hal tersebut terlihat pada grafik peningkatan bobot mutlak ikan sidat (Gambar 6) menunjukkan hasil yang positif. Hal tersebut diduga karena adanya kelebihan energi dari

pakan yang digunakan untuk *maintenance* tubuh. Pertumbuhan ikan akan maksimal apabila kebutuhan nutrisi seperti protein, karbohidrat, lemak vitamin, dan mineral serta kebutuhan energinya terpenuhi dengan baik. Peningkatan bobot ini juga dipengaruhi oleh proses perkembangan gonad yang berdampak pada konsumsi energi sehingga memerlukan energi yang lebih banyak untuk pembentukan gamet pada calon induk.

Gambaran makroskopis gonad ikan sidat memperlihatkan adanya perbedaan untuk masing-masing perlakuan (Gambar 2). Berdasarkan pengamatan dan kesesuaian struktur gonad ikan sidat menurut Tesch (1977) gonad ikan sidat pada semua perlakuan cenderung termasuk ke dalam gonad sidat jantan, kecuali pada perlakuan TC yang menunjukkan bentuk gonad sidat ikan betina. Kemudian klasifikasi gonad ikan sidat menurut Durif *et al.* (2005) dan Durif *et al.* (2009) gonad pada perlakuan TA pada hari ketujuh, ke-42, dan ke-63 termasuk fase indiferen awal. Gonad pada perlakuan TB, TD dan TE termasuk fase pembentukan tubuli testis, sedangkan pada perlakuan TC termasuk fase pembentukan oosit.

Gambaran makroskopis gonad dengan GSI memberikan hubungan yang berbanding lurus, semakin gonad besar dan lebar ukuran gonad, maka nilai GSI semakin besar. Grafik GSI selama 63 hari pemeliharaan memberikan pola yang fluktuatif namun cenderung meningkat dibandingkan sebelum dilakukan penyuntikan pada semua perlakuan hormonal (Gambar 4). Hal

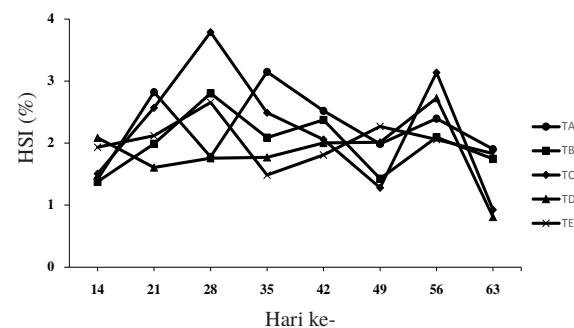


Gambar 4. Nilai gonadosomatic index (GSI) ikan sidat (*Anguilla bicolor*). Keterangan: TA: kontrol; TB: 20P+10AD; TC: 20P+10AD+10GH; TD: 20P; TE: 20P+10H. P: pregnant mare serum gonadotropin (PMSG); AD: antidopamin; GH: recombinant growth hormone (rGH); H: human chorionic hormone (HCG).

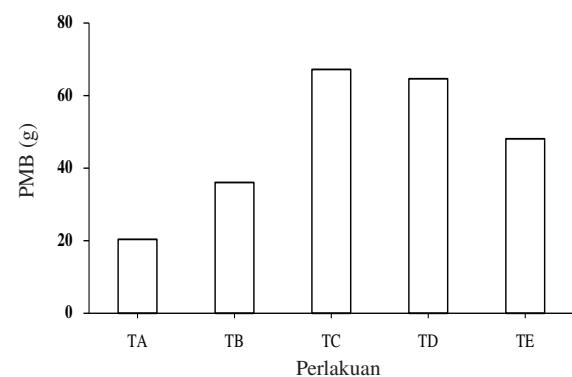
serupa ditemukan pada penelitian Tomkiewicz *et al.* (2011) yang menyebutkan bahwa nilai GSI ikan sidat jantan yang diinduksi HCG selama 18 minggu adalah berfluktuatif. Hal tersebut diduga karena kemampuan masing-masing sidat dalam merespons hormon berbeda sehingga berpengaruh terhadap perkembangan gonad. Dari data tersebut terlihat keadaan yang relatif normal, di mana dalam batas-batas tertentu umumnya nilai GSI yang merepresentasikan kematangan gonad ikan sidat dengan aplikasi hormon PMSG akan mengalami peningkatan dibandingkan dengan kontrol atau penyuntikan larutan fisiologis yang berisi ion-ion yang tidak berpengaruh kepada perkembangan gonad ikan.

Pemakaian hormon berpengaruh terhadap perkembangan gonad ikan sidat. Penyuntikan dengan kombinasi hormon menunjukkan adanya sel gamet pada preparat histologi baik pada hari ke-42 maupun hari ke-63, sedangkan pada kontrol tidak menunjukkan adanya sel gamet (Gambar 3). Berdasarkan klasifikasi perkembangan sel gamet menurut Tomkiewicz *et al.* (2011) perkembangan sel gamet pada perlakuan TB dan TC baik pada hari ke-42 maupun ke-63 masuk ke dalam fase prespermatogenik. Pada perlakuan TC pada hari ke-42 masuk kedalam fase akhir prespermatogenik dan memasuki awal spermatogenik. Pada hari ke-63, ditemukan adalah oosit tipe previtelogenik fase perinukleolar. Gamet pada perlakuan TD pada hari ke-42 berada pada fase prespermatogenik sedangkan pada hari ke-63 sel sperma termasuk dalam fase awal midspermatogenik dan sel telur termasuk dalam fase kromatin nukleus.

Berdasarkan gametogenesis, perlakuan TC memberikan pengaruh terbaik terhadap perkembangan gonad. Fase gamet lebih matang dengan waktu yang lebih cepat dibandingkan



Gambar 5. Nilai hepatosomatic index (HSI) ikan sidat (*Anguilla bicolor*). Keterangan: TA: kontrol; TB: 20P+10AD; TC: 20P+10AD+10GH; TD: 20P; TE: 20P+10H. P: pregnant mare serum gonadotropin (PMSG); AD: antidopamin; GH: recombinant growth hormone (rGH); H: human chorionic hormone (HCG).



Gambar 6. Pertumbuhan bobot mutlak (PBM) ikan sidat selama 63 hari. TA (kontrol); TB (20P+10AD); TC (20P+10AD +10GH); TD (20P); TE (20P+10H).

perlakuan lain, yaitu spermatosit di hari ke-42 dan oosit pada fase perinukleolar di hari ke-63. Berdasarkan sel gamet yang ditemukan pada preparat histologis tingkat kebuntingan untuk semua perlakuan adalah 100%, sedangkan pada kontrol tidak ditemukan hingga akhir penelitian.

Seperti halnya nilai GSI, nilai HSI ikan sidat selama induksi maturasi menggambarkan pola yang fluktuatif namun cenderung meningkat kecuali pada perlakuan TC, TD dan TE yang mengalami penurunan dibandingkan sebelum penyuntikan (Gambar 5). Berdasarkan data yang diperoleh nilai HSI tidak menunjukkan adanya keterkaitan terhadap perkembangan gonad. Hal tersebut diduga karena gamet dominan yang ditemukan pada masing-masing perlakuan adalah sel sperma, sedangkan pada proses spermatogenesis tidak melibatkan organ hati secara dominan seperti halnya ikan betina yang melakukan proses vitellogenesis pada organ hati dalam perkembangan sel telur. Sukumasavin (2007) menjelaskan bahwa tahap perkembangan sel sperma dimulai dari adanya

rangsangan lingkungan yang diterima oleh otak, kemudian memerintahkan hipotalamus untuk mensekresikan *gonadotropin releasing hormone* (GnRH) yang merangsang kelenjar hipofisa untuk mensekresikan hormon gonadotropin (GTH1 atau FSH) secara endokrin menuju testis untuk memproduksi testosteron. Di dalam testis, testosteron merangsang perkembangan spermatogonia menjadi spermatosit kemudian menjadi spermatid. Kemudian GTH2 atau LH disekresikan untuk merangsang produksi hormon 11-ketotestosteron yang merangsang terjadinya spermiogenesis atau perubahan spermatid menjadi spermatozoa.

Beigitu juga halnya pada perlakuan TC dan TD di hari ke-63 sel gamet yang ditemukan adalah sel telur pada fase peri nukleolar dan kromosom nukleus. Fujaya (2002) menjelaskan bahwa aktivitas FSH terjadi pada fase awal vitelogenesis. Fase ini terjadi karena adanya rangsangan FSH yang berdifusi ke dalam sel teka kemudian menstimulasi terbentuknya testosterone yang kemudian berdifusi ke dalam sel granulosa untuk diubah oleh enzim aromatase menjadi estradiol-17 β . Hormon ini kemudian masuk ke hati melalui aliran darah dan membentuk vitellin. Berdasarkan penjelasan tersebut dapat diduga bahwa pada fase vitellogenik nilai HSI akan meningkat. Berbeda halnya pada fase peri nukleolar dan fase kromosom nukleus yang ditemukan pada perlakuan TC dan TD, yang belum mencapai proses vitellogenesis, diduga nilai HSI akan cenderung tidak mengalami perubahan atau konstan.

Menurut Scherck (2010) pengaruh faktor lingkungan terhadap gametogenesis dibantu oleh hubungan antara poros hipotalamus-pituitari dan gonad melalui proses stimulasi atau rangsangan. Hormon-hormon yang terlibat dalam proses ini adalah GnRH, GtH, dan steroid. Pemberian hormon secara eksogen dapat dilakukan melalui penyuntikan, pakan, dan implantasi. Penyuntikan melalui kombinasi hormon pada masing-masing pelakuan merupakan jalan pintas atau *pathway* yang digunakan untuk memaksimalkan poros tersebut. Menurut Zhang *et al.* (2009) serta Yamashita dan Shimada (2012), PMSG merupakan hormon yang memiliki biopotensi sebagai FSH-like factor. Aktivitas FSH yang lebih tinggi diharapkan mampu menstimulasi gonad untuk terjadinya perkembangan.

Secara alamiah hipotalamus memproduksi dopamin untuk menghambat sekresi FSH yang dilepaskan. Dopamin menghambat pematangan gonad dengan menstimulasi sekresi hormon

penghambat perkembangan gonad (GIH) (Nocillado *et al.*, 2007; Tinikul *et al.*, 2008; Zohar *et al.*, 2010; Fontaine *et al.*, 2013; Ogawa & Parhar, 2014). Penggunaan antidopamin pada kombinasi hormon berperan sebagai penghambat kerja dopamin yang akan memblok sekresi FSH, sehingga aktivitas FSH yang terdapat pada PMSG mampu merangsang perkembangan gonad tanpa adanya blokade dari dopamin. Metoklopramid yang terkandung dalam senyawa antidopamin memberikan pengaruh untuk menekan efek dopamin dengan memblok reseptor melalui peningkatan pembakaran neuron dopaminergik (Tonini *et al.*, 2004, Yadav & Nade, 2008; Yousefian *et al.*, 2008, Mohammad *et al.*, 2012, Mabudi *et al.*, 2013).

Teknologi *recombinant growth hormone* (rGH) telah banyak diaplikasikan, khususnya pada rekayasa percepatan pertumbuhan terhadap ikan (Acosta *et al.*, 2007; Acosta *et al.*, 2008 Haghghi *et al.*, 2010; Bakar *et al.*, 2012; Handoyo *et al.*, 2012; Irmawati *et al.*, 2012; Subaidah *et al.*, 2012), akan tetapi penggunaan rGH terhadap rangsangan pematangan gonad ikan belum banyak diaplikasikan. Penggunaan rGH pada penelitian ini diharapkan dapat merangsang percepatan kematangan gonad ikan sidat. Ada beberapa bukti yang menunjukkan GH memainkan peran penting dalam proses reproduksi. Sirokin (2005) menjelaskan keberadaan reseptor GH dapat ditemukan dalam sistem reproduksi termasuk dalam gonad (sel-sel testikular Leydig, sel-sel granulosa dan teka pada ovarium, oosit, dan sel-sel cumulus), dan jaringan reproduksi lainnya. Selain itu, ditemukan pula keberadaan *insulin-like growth factor* (IGF) dan IGF-I dalam ovarium, yang diyakini merupakan bagian yang diatur oleh sistem regulasi intra-ovarium (Reinecke *et al.*, 2005). Penelitian *in vitro* menunjukkan bahwa IGF-I meningkatkan stimulasi sel granulosa, dan bersamaan dengan FSH dalam stimulasi progesteron oleh sel granulosa, serta sumbu GH-IGF berpengaruh pada proses spermatogenesis dan sekresi androgen (Reinecke, 2010).

KESIMPULAN

Penggunaan PMSG, PMGS + Antidopamin, PMGS + Antidopamin + rGH dan PMSG + HCG sebagai induksi hormonal calon induk sidat efektif untuk maturasi dan mengetahui status seksual calon induk sidat *Anguilla bicolor* hasil budidaya. Kombinasi terbaik untuk maturasi adalah PMSG + antidopamin + rGH.

DAFTAR PUSTAKA

- Acosta J, Carpio Y, Besada V, Morales R, Sánchez A, Curbelo Y, Ayala J, Estrada MP. 2008. Recombinant truncated tilapia growth hormone enhances growth and innate immunity in tilapia fry *Oreochromis* sp. General and Comparative Endocrinology 157: 49–57.
- Acosta J, Morales R, Morales A, Alonso M, Estrada MP. 2007. *Pichia pastoris* expressing recombinant tilapia growth hormone accelerates the growth of tilapia. Biotechnology Letters 29: 1.671–1.676.
- Alimuddin, Lesmana I, Sudrajat AO, Carman O, Faizal I. 2010. Production and bioactivity potential of three recombinant growth hormones of farmed fish. Indonesian Aquaculture Journal 5: 11–16.
- Allen WR. 2005. The development and application of the modern reproductive technologies to horse breeding. Reproduction in Domestic Animals 40: 310–329.
- Bakar AMSA, Wong CMVL, Mustapha S. 2012. Growth effect of recombinant growth hormone of mouse garoupa *Cromileptes altivelis* on tilapia fingerlings. Sabah, Malaysia: University Malaysia Sabah.
- Correia AT, Manso S, Coimbra J. 2009. Age, growth and reproductive biology of the European conger eel. Fisheries Research 99: 196–202.
- Davey AJ, Jellyman DJ. 2005. Sex determination in freshwater eels and management options for manipulation of sex. Reviews in Fish Biology and Fisheries 15: 37–52.
- Dufour S, Sebert ME, Weltzien FA, Rousseau K, Pasqualini C. 2010. Neuroendocrine control by dopamine of teleost reproduction. Journal of Fish Biology 76: 129–160.
- Durif C, Dufour S, Elie P. 2005. The silvering process of *Anguilla anguilla*: a new classification from the yellow resident to the silver migrating stage. Journal of Fish Biology 66: 1.025–1.043.
- Durif C, Guibert A, Elie P. 2009. Morphological discrimination of the silvering stages of the European eel. American Fisheries Society Symposium 58: 103–111.
- Fontaine R, Affaticati P, Yamamoto K, Jolly C, Bureau C, Baloche S, Gonnet F, Vernier P, Dufour S, Pasqualini, C. 2013. Dopamine inhibits reproduction in female zebrafish *Danio rerio* via three pituitary D2 receptor subtypes. Endocrinology 154: 807–818.
- Fujaya Y. 2002. Fisiologi Ikan. Makassar: Universitas Hassanuddin.
- Gallego V, Mazzeo I, Vilchez MC, Peñaranda DS, Carneiro PCF, Pérez L, Asturiano JF. 2012. Study of the effects of thermal regime and alternative hormonal treatments on the reproductive performance of European eel males *Anguilla anguilla* during induced sexual maturation. Aquaculture 354: 7–16.
- Haghghi M, Sharif RM, Sharifpour I, Sepahdari A, Lashtoo AGR. 2010. Oral recombinant bovine somatotropin improves growth performance in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Iranian Journal of Fisheries Sciences 10: 415–424.
- Handoyo B, Alimuddin, Utomo NBP. 2012. Growth, feed conversion and retention, and proximate of eel juvenile treated by immersion of recombinant giant grouper growth hormone. Jurnal Akuakultur Indonesia 11: 132–140.
- Handoyo B, Alimuddin, Utomo NBP. 2012. Growth, feed conversion and retention, and proximate of eel juvenile treated by immersion of recombinant giant grouper growth hormone. Jurnal Akuakultur Indonesia 11: 132–140.
- Herianti I. 2005. Rekayasa lingkungan untuk memacu perkembangan gonad ikan sidat *Anguilla bicolor*. Jurnal Oseanologi dan Limnologi Indonesia 37: 2–41.
- Huertas M, Cerdà J. 2006. Stocking density at early developmental stages affects growth and sex ratio in the European eel *Anguilla anguilla*. The Biological Bulletin 211: 286–296.
- Irmawati, Alimuddin, Junior MZ. 2012. Growth enhancement of juvenile *Osphronemus Goramy* Lac. immersed in water containing recombinant *Cyprinus carpio* growth hormone. Jurnal Iktiologi Indonesia 12: 13–23.
- Jablonka-Shariff A, Kumar TR, Eklund J, Comstock A, Boime I. 2006. Single-chain, triple-domain gonadotropin analogs with disulfide bond mutations in the α-subunit elicit dual follitropin and lutropin activities in vivo. Molecular Endocrinology 20: 1.437–1.446.
- Kagawa H, Kasuga Y, Adachi J, Nishi A, Hashimoto H, Imaizumi H, Kaji S. 2009. Effects of continuous administration of human chorionic gonadotropin, salmon pituitary extract, and gonadotropin-releasing hormone using osmotic pumps on induction of sexual maturation in male Japanese eel *Anguilla japonica*. Aquaculture 296: 117–122.
- Kagawa H, Tanaka H, Ohta H, Unuma T,

- Nomura K. 2006. The first success of glass eel production in the world: basic biology on fish reproduction advances new applied technology in aquaculture. *Fish Physiology and Biochemistry* 31: 193–199.
- Mabudi H, Savari A, Javadzadeh N. 2013. The integrated effect of LHRHA2 and pituitary extract on maturation of *Barbus xanthopterus*. *International Journal of Marine Science Engineering* 3: 153–158.
- McMillan DB. 2007. *Fish Histology: Female Reproductive Systems*. Netherlands: Springer Science and Business Media.
- Meira C, Ferreira JC, Silva ESM, Ignácio FS. 2012. Developmental aspects of early pregnancy in mares. *Animal Reproduction* 9: 166–172.
- Mohammad S, Alavi H, Hatef A, Mylonas CC, Gela D, Papadaki M, Rodina M, Kaspar V, Psenicka M, Podhorec P, Linhart O. 2012. Sperm characteristics and androgens in *Acipenser ruthenus* after induction of spermiation by carp pituitary extract or GnRHa implants. *Fish Physiology and Biochemistry* 38: 16–55.
- Mordenti M, Di Biase A, Sirri R, Modugno S, Tasselli A. 2012. Induction of sexual maturation in wild female European eels *Anguilla anguilla* in darkness and light. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh* 64: 726–735.
- Murphy BD. 2012. Equine chorionic gonadotrophin: an enigmatic but essential tool. *Animal Reproduction* 9: 223–230.
- Nocillado JN, Levavi-Sivan B, Carrick F, Elizur A. 2007. Temporal expression of G-protein-coupled receptor 54 (GPR54), gonadotropin-releasing hormones (GnRH), and dopamine receptor D2 (drd2) in pubertal female grey mullet, *Mugil cephalus*. *General and Comparative Endocrinology* 150: 278–287.
- Ogawa S, Parhar IS. 2014. Structural and functional divergence of gonadotropin-inhibitory hormone from jawless fish to mammals. *Frontiers in Endocrinology*: 5–10.
- Reinecke M, Björnsson BT, Dickhoff WW, McCormick SD, Navarro I, Power DM, Gutiérrez J. 2005. Growth hormone and insulin-like growth factors in fish: where we are and where to go. *General and comparative endocrinology* 142: 20–24.
- Reinecke M. 2010. Insulin-like growth factors and fish reproduction. *Biology of reproduction* 82: 656–661.
- Rovara O. 2007. Karakteristik reproduksi, upaya maskulinasi dan pematangan gonad ikan sidat betina *Anguilla bicolor bicolor* melalui penyuntikan ekstrak hipofisa [Disertasi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Sakamoto T, McCormick SD. 2006. Prolactin and growth hormone in fish osmoregulation. *General and Comparative Endocrinology* 147: 24–30.
- Schreck CB. 2010. Stress and fish reproduction: the roles of allosteric and hormesis. *General and Comparative Endocrinology* 165: 549–556.
- Sirotkin A V. 2005. Control of reproductive processes by growth hormone: extra-and intracellular mechanisms. *The Veterinary Journal* 17: 307–317.
- Stewart SL, Querec TD, Gruver BN, O'Hare B, Babb JS, Patriotis C. 2004. Gonadotropin and steroid hormones stimulate proliferation of the rat ovarian surface epithelium. *Journal of Cellular Physiology* 198: 119–124.
- Subaidah S. 2012. Respons pertumbuhan dan ekspresi gen udang vaname *Litopenaeus vannamei* setelah direndam dalam larutan hormon pertumbuhan rekombinan ikan kerapu kertang. *Jurnal Riset Akuakultur* 7: 359–369.
- Sukumasavin N. 2007. *Fish Reproduction. Advances Freshwater Aquaculture*. Bangkok: Departemen of Fisheries.
- Tesch FW. 1977. *The Eel-Biology and Management of Anguillid Eels*. London: Chapman and Hall.
- Tinikul Y, Mercier AJ, Soonklang N, Sobhon P. 2008. Changes in the levels of serotonin and dopamine in the central nervous system and ovary, and their possible roles in the ovarian development in the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *General and Comparative Endocrinology* 158: 250–258.
- Tomkiewicz J, Kofoed TM, Pedersen JS. 2011. Assessment of testis development during induced spermatogenesis in the European eel *Anguilla anguilla*. *Marine and Coastal Fisheries* 3: 106–118.
- Tonini M, Cipollina L, Poluzzi E, Crema F, Corazza GR, De Ponti F. 2004. Clinical implications of enteric and central D2 receptor blockade by antidopaminergic gastrointestinal prokinetics. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* 19: 379–390.
- Van Der Kraak G, Rossenblum PM, Peter RE. 1990. Growth hormone-dependent potentiation of gonadotropin-stimulated steroid production

- by ovarian follicles of the goldfish. General and Comparative Endocrinology 79: 233–239.
- Wibisono R. 2012. Induksi pematangan gonad belut sawah *Monopterus albus* dengan kombinasi hormon dan antidopamin. Tidak dipublikasikan. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Wilsher S, Allen WR. 2011. Factors influencing equine chorionic gonadotrophin production in the mare. Equine Veterinary Journal 43: 430–438.
- Wouthuyzen S, Aoyama J, Sugeha HY, Miller MJ, Kuroki M, Minegishi Y, Suharti SR, Tsukamoto K. 2009. Seasonality of spawning by tropical anguillid eels around Sulawesi Island, Indonesia. Naturwissenschaften 96: 153–158.
- Yadav AV, Nade VS. 2008. Anti-dopaminergic effect of the methanolic extract of *Morus alba* L. leaves. Indian Journal of Pharmacology 40: 221–229.
- Yamashita Y, Shimada M. 2012. The release of EGF domain from EGF-like factors by a specific cleavage enzyme activates the EGFR-MAPK3/1 pathway in both granulosa cells and cumulus cells during the ovulation process. Journal of Reproduction and Development 58: 510–514.
- Yousefian M, Gezel HG, Masoud HF. 2008. Induction of ovulation in endemic *Chalcarburnus chalcooides*, living in the Caspian Sea, using LRH-Aa combined with metoclopramide. African Journal of Biotechnology 7: 1–10.
- Zhang M, Ouyang H, Xia G. 2009. The signal pathway of gonadotrophins-induced mammalian oocyte meiotic resumption. Molecular Human Reproduction 15: 399–409.
- Zohar Y, Muñoz-Cueto JA, Elizur A, Kah O. 2010. Neuroendocrinology of reproduction in teleost fish. General and Comparative Endocrinology 165: 438–455.