

INDUKSI MATURASI OOSIT DAN SPERMIASI PADA GURAMI (*Osphronemus gouramy* Lac.) MENGGUNAKAN GnRH ANALOG DAN PROGESTERON

Gratiana E. Wijayanti¹, Serta B.I. Simanjuntak², Soeminto¹

¹ Laboratorium Struktur dan perkembangan Hewan, Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Indonesia
bugrat_1@yahoo.co.uk

² Laboratorium Fisiologi Hewan, Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Indonesia

Abstrak

Gurami merupakan salah satu komoditi perikanan air tawar yang memiliki nilai ekonomi penting sehingga layak untuk ditingkatkan produksinya. Keberhasilan budidaya gurami menuntut ketersediaan benih berkualitas yang tersedia sepanjang tahun. Guna mencapai hal tersebut diperlukan pemahaman yang memadai tentang biologi reproduksi gurami. Penelitian tentang profil hormon-hormon reproduksi dan profil gametogenesis pada gurami telah dilakukan. Pada penelitian ini telah dikaji peranan hormon eksogen dalam maturasi oosit dan spermiasi untuk memahami pola regulasi hormon-hormon reproduksi dan aktivitasnya masing-masing. Penelitian dilakukan secara eksperimental dengan menginduksi gurami betina menggunakan progesteron, GnRH analog dan kombinasinya dan gurami jantan dengan GnRH analog. Induksi diberikan secara intramuskuler pada minggu keempat pasca mijah. Pengambilan data berupa oosit dan milt dilakukan 48jam setelah pemberian induksi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian GnRH analog, ovaprim, sebesar 0,8mL/kg BB pada minggu keempat pascamijah mampu secara signifikan meningkatkan produksi milt sebesar 0,45 mL dengan kualitas yang baik diindikasikan dengan konsentrasi sperma $20,71 \times 10^7$ /mL milt, persentase sperma motil 90%, motilitas tinggi (skor progresivitas 4) dan lama motilitas mencapai 10, 77 menit. Pada gurami betina, pemberian Ovaprim dengan dosis 0,7 mL/kg BB dan progesteron 112 ng/kg BB pada minggu keempat pascamijah meningkatkan persentase oosit masak hingga 34,6%, dan 44% sedangkan kombinasinya mampu meningkatkan persentase oosit masak hingga 72,83%.

Kata kunci: *Osphronemus gouramy* Lac., maturasi oosit, spermiasi, GnRH, Progesteron

1. Pendahuluan/Pengantar

Sektor perikanan merupakan salah satu komponen penting dalam perekonomian nasional, oleh karenanya berbagai upaya untuk meningkatkan produksi perikanan senantiasa dilakukan. Produk perikanan Indonesia sebagian besar berasal dari perikanan tangkap sedangkan produk perikanan budidaya memberikan kontribusi sebesar 22,37% dari total produksi perikanan nasional (Ditjen Perikanan Budidaya, 2005). Produk perikanan tangkap meningkat secara tajam dari 44 juta ton pada tahun 1973 menjadi 65 juta ton pada tahun 1997, akan tetapi setelah periode tersebut produksi menjadi stagnan bahkan menurun (Sulaeman, 2005).

Dalam kondisi produksi perikanan tangkap yang stagnan, peranan perikanan budidaya menjadi sangat penting. Prediksi meningkatnya permintaan produk perikanan dalam tahun-tahun mendatang memberi peluang untuk peningkatan produksi perikanan budidaya. Produk perikanan budidaya sebagian berasal dari budidaya ikan air tawar. Salah satu produk perikanan tawar yang memiliki nilai ekonomi cukup tinggi adalah gurami (BPTP, 2008).

Keberhasilan budidaya gurami memerlukan ketersediaan benih yang berkualitas baik dalam jumlah cukup secara berkesinambungan. Benih gurami dihasilkan oleh usaha perorangan, perusahaan dan pemerintah melalui Balai Benih ikan (BBI), akan tetapi benih yang dihasilkan masih belum mencukupi permintaan pasar (Khaeruman dan Amri, 2003). Hal ini antara lain disebabkan benih-benih tersebut diproduksi melalui pembenihan tradisional sehingga tingginya tingkat mortalitas larva cukup tinggi (Insan, 2000; Djajasewaka, 2004). Sehubungan dengan hal tersebut, langkah-langkah menuju pembenihan gurami secara semi intensif ataupun intensif perlu segera dilakukan.

Produksi benih pada setiap pemijahan gurami dipengaruhi oleh jumlah oosit dan jumlah spermatozoa gurami yang dihasilkan oleh induk pada saat ikan memijah. Produksi oosit dan spermatozoa pada gurami, sebagaimana ikan lain, diatur oleh aktivitas poros hipotalamus-hipofisis-gonad. Hipotalamus

mengintegrasikan faktor-faktor yang memacu proses gametogenesis dan meresponnya dalam bentuk sintesis *gonadotropin-releasing hormone* (GnRH). GnRH menstimuli hipofisis untuk mensintesis dan mensekresikan gonadotropin (GtH). GtH pada gilirannya memacu aktivitas testis dan ovarium untuk melangsungkan gametogenesis dan memproduksi hormon-hormon yang memfasilitasi keberhasilan gametogenesis (Nagahama, 1994; Moncaut *et al.*, 2005).

Regulasi hormonal pada pematangan oosit ikan teleostei melibatkan tiga mediator utama yaitu GtH sebagai mediator I, *Maturation Inducing steroid* (MIS) sebagai mediator II dan *Maturation Promoting Factor* (MPF) sebagai mediator III (Nagahama 1987; Redding dan Patino, 1993.). GtH terutama GtH II, memacu sel-sel theca untuk mensintesis 17α -hydroxy progesterone (17α -OH-P) (Yaron, 1995). Hormon steroid ini berdifusi ke sel granulosa dan akan diubah menjadi 17α - 20β -dihydroxy-4-pregnen-3-one (17α , 20β -DP) yang bertindak sebagai MIS (Nagahama, 1994). Penelitian pada beberapa jenis ikan trout menunjukkan bahwa MIS berikatan dengan reseptor pada membran plasma oosit (Yaron, 1995). Ikatan antara MIS dengan reseptornya mengaktifkan pembentukan MPF (Nagahama, 1994; Yaron, 1995). MPF berupa struktur kompleks yang tersusun atas regulator Cdc2-Kinase ($p34^{cdc2}$) dan cyclin B (Yamashita *et al.*, 1995). Kajian menggunakan antibody monoclonal-anti MPF menunjukkan bahwa 17α , 20β -DP menginduksi pembentukan cyclin B yang kemudian terfosforilasi dan mengaktifkan $p34^{cdc2}$. Ikatan antara sisi katalitik dan sisi regulator mengaktifkan MPF dan memacu vesikel germinal untuk bermigrasi dan melangsungkan *germinal vesicle break down* (GVBD). GVBD inilah yang dijadikan indikator bahwa oosit telah mencapai metaphase meiosis II dan siap untuk diovulasikan (Nagahama, 1994).

Pada proses pematangan spermatozoa, hormon testikular yang paling berperan adalah 11-ketotestosteron (Nagahama, 1994). Selain testosteron, hormon steroid lain yang berperan dalam spermatogenesis adalah 17α , 20β -DP. Pada ikan mas, 17α , 20β -DP juga dijumpai pada ikan yang sedang spermiasi (Koldras *et al.*, 1990). Selama spermiasi sel Leydig memproduksi 11-ketotestosteron dan 17α , 20β -DP dari 17α -OH-P dibawah stimulasi GtH (Ueda *et al.*, 1984; Planas dan Swanson, 1995)). (Nagahama 1987).

Regulasi hormonal pada pematangan oosit dan spermiasi gurami belum diketahui secara rinci. Hasil evaluasi terhadap profil hormon reproduksi dan gametogenesis menunjukkan bahwa gurami memiliki siklus pemijahan sekitar 4 minggu. Kadar estradiol dalam serum induk pada hari pemijahan relatif tinggi kemudian sedikit menurun hingga minggu ke dua pascamijah dan meningkat kembali hingga minggu ke empat pascamijah. Kadar progesteron dalam serum meningkat hingga minggu kedua pascamijah dan menurun kembali hingga minggu ke empat, fluktuasi kadar estradiol berkorelasi dengan kadar GtH dalam serum ($r=0,7448$) (Wijayanti *et al.*, 2009a). Pada gurami jantan kadar testosteron tinggi pada minggu pertama hingga ketiga pascamijah kemudian menurun hingga minggu ke empat (Wijayanti *et al.*, 2009b). Hal yang menarik dari hasil penelitian tersebut adalah peningkatan estradiol dan penurunan progesteron pada minggu keempat pascamijah yang bertepatan dengan peningkatan nilai IKG dan waktu mijah berikutnya. Demikian pula dengan gurami jantan, kadar testosteron dan GtH menurun justru menjelang pemijahan berikutnya. Pertanyaan yang belum terjawab adalah apakah progesteron juga berperan dalam maturasi oosit dan GtH diperlukan pada spermiasi gurami sebagaimana pada spesies ikan lain.

Guna menjawab pertanyaan tersebut maka dalam penelitian ini gurami betina diinduksi dengan GnRH, progesteron atau kombinasi keduanya dan gurami jantan diinduksi dengan GnRH analog pada minggu keempat pasca mijah. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui 1) pengaruh GnRH, terhadap maturasi oosit dan spermiasi gurami, 2) pengaruh progesteron dan progesteron+GnRH terhadap maturasi oosit, dan 3) dosis GnRH yang efektif untuk memacu spermiasi pada gurami.

2. Materi dan Metode

Penelitian ini dilaksanakan secara eksperimental menurut rancangan acak lengkap. Tempat penelitian berupa kolam tanah berukuran 3x3m, dialiri dari saluran irigasi persawahan. Gurami yang digunakan berupa induk pascamijah dari pemijahan alami dengan ukuran berat jantan 2,0-2,5 kg dan berat betina 2,0-2,5 kg. Induk dipijahkan secara perpasangan (1jantan : 1 betina) untuk menjamin akurasi saat pemijahan. Hari pada saat ikan memijah, ditandai dengan tertutupnya sarang dan adanya butiran minyak

disekitar sarang yang ditunggu oleh induk gurami, ditetapkan sebagai hari/minggu ke0 pascamijah. Induk pascamijah dipelihara pada kolam tanah dengan ukuran 3x3m hingga minggu keempat. Selama pemeliharaan gurami diberi pakan berupa pellet komersial, daun sente dan kecambah kacang hijau secara berselangseling. Hormon yang diujikan yaitu GnRH analog (Ovaprim Syndell Lab. Vancouver, Canada) dan Progesteron (*Progesterone-Water Soluble* produksi Sigma P7556).

1) Eksperimen I: Induksi maturasi oosit

Pada gurami betina GnRH, progesteron dan kombinasinya diberikan dengan ketentuan: GnRH sebesar $0,7 \text{ mL.kg}^{-1}$ BB, progesteron yang diberikan sebesar 52 ng.kg^{-1} dan GnRH+progesteron dengan perbandingan $0,5 \text{ mL.kg}^{-1}$ BB : 26 ng.kg^{-1} . Hormon diberikan secara intramuskuler dengan urutan GnRH terlebih dahulu diikuti progesteron ± 6 jam kemudian. Gurami kontrol diberi placebo berupa larutan 0,9%NaCl.

Keberhasilan induksi maturasi dievaluasi dengan mengukur diameter oosit dan menghitung proporsi oosit yang matang (diindikasikan dengan warna oosit kuning jernih) sebelum dan sesudah induksi. Sampel oosit diambil melalui kanulasi menggunakan selang infuse yang telah dimodifikasi. Diameter oosit diukur menggunakan jangka sorong dengan ketelitian 0,01mm. Proporsi oosit matang ditentukan berdasarkan rumus berikut.

$$\text{Persentase oosit matang} = \left(\frac{\sum \text{osoit matang}}{\sum \text{osoit yang terambil}} \right) \times 100\%$$

2) Eksperimen 2: induksi spermiasi

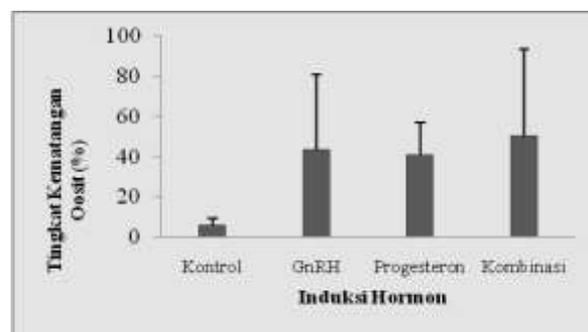
Pada gurami jantan GnRH diberikan dengan dosis 0,6mL, 0,7mL dan 0,8mL.kg⁻¹. Gurami kontrol diberi placebo berupa larutan 0,9%NaCl. Sepertiga volume GnRH diberikan pada pagi hari sebagai *priming dose* dan duapertiga sisanya sebagai *resolving dose* diberikan ± 6 jam kemudian. Milt diambil melalui stripping. Milt yang keluar ditampung menggunakan spuit tanpa jarum.

Keberhasilan spermiasi dievaluasi dengan mengukur volume milt hasil stripping, konsentrasi spermatozoa/mL milt, dan motilitas spermatozoa. Volume milt diukur dengan menggunakan spuit ukuran 1mL. Konsentrasi spermatozoa dihitung menggunakan haemocytometer. Motilitas sperma dievaluasi dengan menghitung lama waktu spermatozoa motil, persentase spermatozoa dan progresivitas spermatozoa.

Data dianalisis dengan ANOVA pada tingkat signifikansi 5% menggunakan software Minitab 12.0 for Windows.

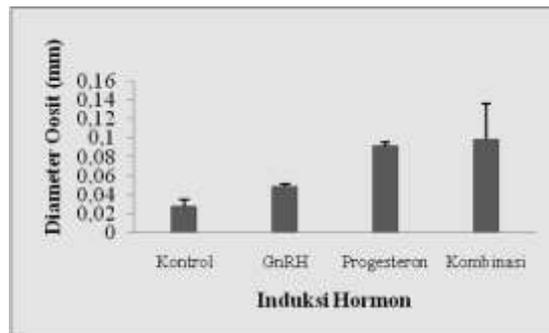
3. Hasil dan Pembahasan

Data rata-rata pertambahan presentase tingkat kematangan oosit ikan gurami 4 minggu pasca mijah pada masing-masing kelompok uji tersaji pada Gambar 1. Hasil analisis variansi pertambahan proporsi oosit matang menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan pada semua kelompok uji, baik pada perlakuan kontrol, GnRH, Progesteron dan kombinasi ($p > 0,05$). Akan tetapi perlakuan kombinasi memiliki pertambahan proporsi oosit matang paling tinggi dibandingkan dengan kelompok uji yang lainnya yaitu sebesar $(50,06 \pm 43,34)$, bila dibandingkan dengan perlakuan Progesteron $(41,21 \pm 23,75)$, GnRH $(39,53 \pm 9,58)$ dan kontrol $(5,67 \pm 3,48)$.



Gambar 1. Diagram pertambahan tingkat kematangan oosit (%) gurami 4 minggu pasca mijah yang diinduksi dengan GnRH, progesteron dan kombinasinya.

Berdasarkan diagram pertambahan diameter oosit gurami uji, induksi kombinasi memiliki nilai pertambahan diameter paling tinggi yaitu sebesar $0,1\pm 0,04$ mm, diikuti oleh unit perlakuan induksi progesteron sebesar $0,088\pm 0,007$ mm (Gambar 2). Hal ini menunjukkan bahwa induksi kombinasi dan Progesteron mampu meningkatkan pertambahan diameter oosit gurami 4 minggu pasca mijah. Sedangkan pada perlakuan GnRH memiliki nilai pertambahan diameter sebesar $0,048\pm 0,003$ mm dan tidak berbeda jauh dengan perlakuan kontrol yang memiliki pertambahan diameter sebesar $0,027\pm 0,008$ mm. Hasil analisis varian pertambahan diameter oosit menunjukkan bahwa diameter oosit pada kelompok kontrol secara signifikan lebih kecil dibandingkan diameter oosit dari kelompok yang diinduksi dengan Progesteron dan kombinasi ($p < 0,01$), tetapi relatif sama dengan oosit yang diinduksi dengan GnRH saja ($p < 0,05$).



Gambar 2. Diagram pertambahan diameter oosit (mm) gurami 4 minggu pasca mijah yang diinduksi dengan GnRH, progesteron dan kombinasinya.

Respon oosit terhadap induksi hormonal dalam memacu pematangan dipengaruhi oleh tahapan perkembangan oosit. Oosit yang telah siap untuk memulai tahap pematangan yaitu oosit yang telah menyelesaikan tahap post vitelogenesisnya (Unal *et al.*, 2006). Pada penelitian sebelumnya (Wijayanti *et al.*, 2009a) diketahui bahwa oosit gurami yang berukuran 2,02-2,60mm telah memasuki tahap post vitelogenesis, sehingga apabila induksi hormonal diberikan kepada oosit pada tahapan tersebut memungkinkan oosit memasuki tahap pematangan dan ovulasi akan semakin besar. Sedangkan oosit yang berukuran $< 2,02-2,60$ mm merespon induksi hormonal dengan menyelesaikan tahapan vitelogenesis. Diameter telur yang terambil pada saat kanulasi berkisar antara 1,80-2,40 mm dengan diameter rata-rata 2,00 mm, sehingga diduga induksi hormon yang diberikan belum dapat memberikan pengaruhnya secara optimal dalam memicu pematangan oosit. Menurut Carnevali *et al.* (2006) oosit mencapai ukuran maksimal selama vitelogenesis dan memulai tahap pematangan akhir serta ovulasi bila ada stimulasi hormonal yang mencukupi.

Faktor lain yang menyebabkan induksi GnRH, Progesteron dan kombinasinya ini tidak berpengaruh nyata terhadap pematangan oosit adalah dosis yang kurang tepat. Dosis yang diberikan untuk perlakuan GnRH sebesar 0,7 ml/BB Ovaprim, Progesteron sebesar 0,26 ng/ml BB dan kombinasi (Ovaprim : Progesteron = 0,5 ml/BB : 0,13 ng/ml BB), diduga dosis yang diberikan belum dapat memicu pematangan oosit secara optimal.

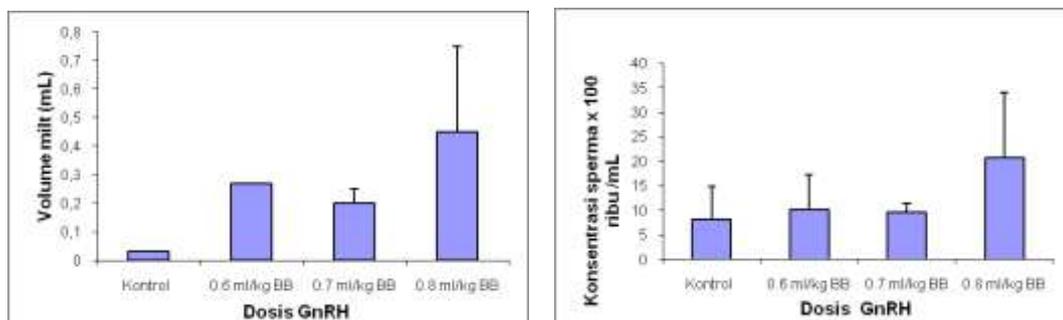
GnRH menginduksi pematangan oosit secara bertahap, pertama GnRH memicu peningkatan produksi GtH II dalam pituitari sehingga kadarnya dalam plasma meningkat (Richter *et al.*, 1985). Kadar GtH II yang tinggi dalam plasma akan memicu pembentukan 17α -hidroksi Progesteron, yang akan dikonversi oleh sel granulosa menjadi $17,20$ -P atau MIS. Konversi ini diatur oleh enzim 20β -HSD, yang ekspresinya dipengaruhi pula oleh peningkatan konsentrasi Gonadotropin (Goetz, 1983; Nagahama, 1987). MIS yang terbentuk selanjutnya akan berinteraksi dengan reseptor membran pada ooplasma yang kemudian akan menginduksi oosit untuk mensintesis Cyclin b, Cyclin b ini kemudian terfosforilasi yang mengaktifkan $p34^{cdc2kinase}$. Cyclin b dan $p34^{cdc2kinase}$ akan membentuk ikatan yang akan mengaktifkan MPF dan proses pematangan oosit tahap akhir yang ditandai adanya migrasi vesikel germinal oosit menuju kutub animal, pelepasan dinding vesikel germinal telur atau GVBD dan ovulasi yang ditandai dengan pecahnya lapisan folikel dan keluarnya telur (Nagahama, 1994).

Dibandingkan dengan GnRH, Progesteron lebih mampu memicu pematangan oosit dibanding hormon steroid gonad lainnya, dan bila dilihat dari mekanisme kerjanya hormon Progesteron lebih efektif memicu pematangan oosit dibandingkan dengan GnRH. Hal ini dikarenakan Progesteron yang berperan sebagai MIS dapat langsung memicu pembentukan MPF dengan menstimulasi sintesis Cyclin b (Carnevali *et al.*, 2006) sementara itu GnRH untuk memicu pematangan oosit melewati proses yang cukup panjang bila dibandingkan dengan induksi Progesteron; dengan demikian induksi Progesteron lebih efektif dibandingkan dengan GnRH. Barry *et al.* (1995) menyatakan bahwa LHRHa mampu memicu pematangan oosit pada *Walleye*, akan tetapi 17,20-P dan 17 α ,20 β -P lebih efektif dalam memicu maturasi oosit tahap akhir baik secara *in vitro* maupun *in vivo*.

Perlakuan Kombinasi dalam penelitian ini paling efektif memicu pematangan oosit, karena menggabungkan kinerja GnRH dengan Progesteron. Induksi GnRH sebagai penginduksi awal, membantu untuk mempersiapkan oosit untuk proses pematangan dan memicu pembentukan MIS (Tokumoto *et al.*, 2005) serta meningkatkan sensitivitas oosit dalam merespon Progesteron (Peter dan Yu, 1997). Pemberian Progesteron 6 jam kemudian bertujuan meningkatkan konsentrasi MIS yang sudah terbentuk dari hasil kinerja GnRH. Konsentrasi MIS yang tinggi akan memicu pembentukan MPF lebih banyak, sehingga konsentrasi oosit yang mengalami GVBD lebih banyak (Tokumoto *et al.*, 2005).

Hasil penelitian Epler *et al.* (1985) menunjukkan bahwa penginduksian pematangan oosit ikan mas (*Cyprinus carpio*) secara *in vitro* menggunakan kombinasi hormon lebih baik dibanding penggunaan hormon tunggal. Pemberian hormon tunggal seperti *Carp Hypophysial Homogenate* (C.H.H), Progesteron, 17 α 20 β -P, DOCA dan Cortisone asetat belum mampu menginduksi oosit untuk matang dan GVBD, sedangkan penggunaan hormon kombinasi seperti: C.H.H-C.H.H, Progesteron-C.H.H, 17 α 20 β -P-C.H.H, DOCA-C.H.H, dan Cortisone asetat-C.H.H mampu memicu pematangan oosit hingga GVBD. Perlakuan yang paling efektif pada penelitian ini adalah unit kombinasi C.H.H-Progesteron (100 μ g/ml : 0,5 μ g/ml) yang mampu memicu pematangan oosit hingga GVBD sebesar 43,3%.

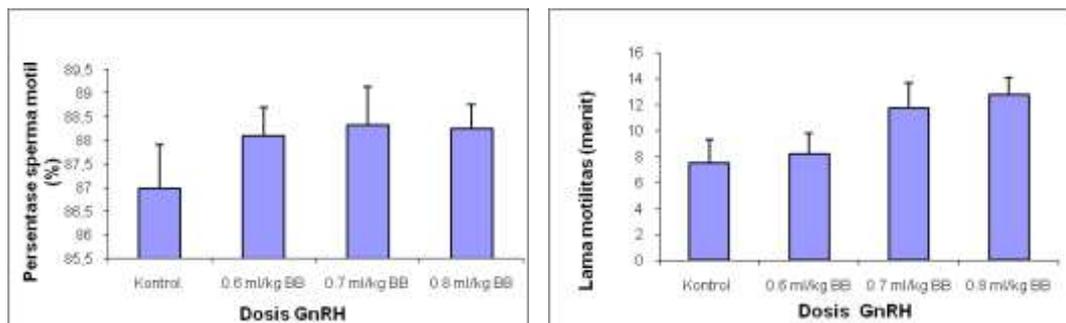
Volume milt gurami yang tidak diinduksi sangat rendah (0,03mL) sedangkan pada gurami yang diinduksi dengan 0,6-0,8mL.kg⁻¹ BB GnRH berisar antara 0,20-0,46mL (Gambar 3). Volume milt yang diperoleh relatif rendah dibandingkan dengan ikan lain, meskipun demikian konsentrasi sperma cukup baik. Pada ikan Nilem dengan berat tubuh sekitar 100g yang diinduksi dengan 0,5 mL.kg⁻¹GnRH volume milt mencapai lebih dari 1mL per ekor (Wijayanti dan Simanjuntak, 2006).



Gambar 3. Volume milt dan konsentrasi spermatozoa gurami yang diinduksi dengan GnRH

Evaluasi terhadap motilitas spermatozoa menunjukkan bahwa spermatozoa gurami hasil stripping mampu mempertahankan motilitasnya hingga 12 menit setelah aktivasi dengan persentase spermatozoa motil berkisar antara 70-88% (Gambar 4). Spermatozoa juga memiliki pergerakan yang progresif dengan kisaran nilai progresivitas 4-5 pada semua kelompok uji (Tabel 1.).

| Dosis GnRH (mL.kg ⁻¹ BB) | Skor progresivitas spermatozoa |
|-------------------------------------|--------------------------------|
| kontrol | 4-5 |
| 0,6 | 4-5 |
| 0,7 | 4-5 |
| 0,8 | 4-5 |



Gambar 4. Persentase spermatozoa motil dan lama motilitas spermatozoa gurami yang diinduksi dengan GnRH

Dilihat dari konsentrasi spermatozoa per mL, persentase spermatozoa motil, lama motilitas dan progresivitasnya, kualitas spermatozoa gurami tergolong baik. Akan tetapi volume milt yang dihasilkan rendah. Volume milt dibentuk oleh konsentrasi spermatozoa dan seminal plasma. Seminal plasma diperoleh melalui hidrasi menjelang ejakulasi pada saat memijahan (Yaron, 1995). Dalam penelitian ini Pemberian GnRH meningkatkan aktivitas spermiasi dan hidrasi sehingga volumenya lebih tinggi dari kontrol. Melihat bahwa volume milt dan konsentrasi spermatozoa per mL meningkat seiring dengan meningkatnya dosis GnRH yang diberikan, masih terbuka peluang untuk meningkatkan dosis GnRH sehingga diperoleh volume milt yang lebih tinggi.

Hasil penelitian ini memberi informasi dasar untuk penyempurnaan metode pemijahan induksi pada gurami. Oleh karena itu upaya untuk menentukan dosis GnRH dan progesteron yang optimal untuk mendapatkan oosit dan spermatozoa gurami pada saat ini sedang dilakukan. Informasi yang diperoleh nantinya bukan saja memberikan sumbangan informasi ilmiah tentang regulasi hormonal pada reproduksi gurami tetapi juga dapat menyediakan teknologi aplikasi bagi pada praktisi.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini didanai Oleh Kementerian Negara Riset dan Teknologi RI, melalui Program Insentif Dasar tahun anggaran 2008.

Daftar pustaka

- [1] Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya (2005) Profil Perikanan Budidaya. Departemen Kelautan dan Perikanan RI. Jakarta.
- [2] Sulaeman (2005) Perikanan kita kemana akan dibawa? *Warta Penelitian Perikanan Indonesia* **11**(3), 17-23.
- [3] Balai Pengkajian Teknologi Pertanian (BPTP). 2008. Karakterisasi Potensi dan Seleksi Induk Ikan Gurame. URL : <http://www.Jateng.litbang.deptan.go.id>, 29 April 2008.
- [4] Khaeruman, S.P. & K. Amri (2003) *Pembenihan dan Pembesaran Gurami Secara Intensif*. Agromedia Pustaka Jakarta.
- [5] Insan, I. (200) Teknik pembenihan ikan Gurami dengan media dan pakan yang terkontrol. *Warta Penelitian Perikanan Indonesia* **6**(2), 16-19.
- [6] Djajasewaka, H. (2004) Pengaruh kadar peotein berbeda dalam pakan induk gurami (*Osphronemus gouramy*) terhadap produksi dan kualitas telur. *Biosfera* **21**(3), 84-88

- [7] Nagahama, Y. (1994) Endocrine regulation of gametogenesis in fish. *Int.J.dev.Biol.* **38**, 217-229
- [8] Moncout, N., G. Samoza, D.M. Power & A.V.M. Cana'rio (2005) Five gonadotropin-releasing hormone receptors in a teleost fish: isolation, tissue distribution and phylogenetic relationship. *J.Mol.Endocr.* **34**, 767-799
- [9] Nagahama, Y. (1987) 17α - 20β -dihydroxy-4-pregnen-3-one: A teleost maturation-inducing hormone. *Develop.Growth and Differ* **29**(1), 1-12
- [10] Redding, J.M. & R. Patino (1993) Reproductive Physiologi. in *The Physiology of Fish*. Editor D.H. Evans. C.R.C. Press, Boca Rator pp 503-534
- [11] Yaron Z. (1995) Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in the carp. *Aquaculture*, **129**, 49-73
- [12] Yamashita, M., S. Fukuda, M. Yoshikuni, P. Bullet, T. Hirai, A. Yamaguci, Y.-H Lou, Z. Zhao & Y. Nagahama (1992) Purification and characterisation of maturation-promoting factor in fish. *Dev.Biol.* **149**, 8-15
- [13] Koldras M., K. Bieniarz & D.E. Kime (1990) Sperm production and gametogenesis in testis of the common carp, *Cyprinus carpio* L., at different stages of maturation. *J.Fish.Biol.* **37**, 635-646
- [14] Ueda, H., A. Kambegawa & Y. Nagahama (1984) In vitro 11 -ketotestosterone and 17α - 20β -dihydroxy-4-pregnen-3-one production by testicular fragment and isolated sperm of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *J.Exp.Zool.* **231**, 435-439
- [15] Planas, J.V. & P. Swanson (1995) Maturation-associated changes in the response of the salmon testis to the steroidogenic actions of gonadotropin (GtH I and GtHII) in vitro. *Biol.Perod.* **52**, 697-704
- [16] Wijayanti G.E., Soeminto & S.B.I. Simanjuntak (2009^a) Profil hormon reproduksi dan gametogenesis pada gurami (*Osphronemus gouramy* Lac.) betina. *Jurnal Akuakultur Indonesia* **8**(1), 77-89
- [17] Wijayanti G.E., Soeminto & S.B.I. Simanjuntak (2009^b) Profil hormon reproduksi dan gametogenesis pada gurami (*Osphronemus gouramy* Lac.) jantan. Seminar Nasional Thun VI Hasil Penelitian Perikanan dan Kelautan. Jurusan Perikanan dan Kelautan, Universitas Gajah Mada Yogyakarta 25 Juli 2009.
- [18] Carnevali, O., C. Cionna., L. Tosti., E. Lubzens., & F. Maradonna. 2006. Role of Cathepsins in Ovarian Follicle Growth and Maturation. *General and Comparative Endocrinology.* **146**, 195-203
- [9] Richter, C.J.J., E.H. Eding & A.J. Roem. (1984) 17α -Hydroxy-Progesteron-Induced Breeding of the African Catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell), Without Priming with Gonadotropin. *Aquaculture*, **44**, 285-293
- [20] Goetz, F. E. (1983) Hormonal Control of Oocyte Final Maturation and Ovulation in Fishes. in *Fish Physiology*, vol. 98. Editors Hoar, W. S. Randal, D. S. and Donaldson, E.M. Academy Press, New York.
- [21] Barry, T., J.Riebe, J. Parrish, & J. Malison (1995) 17α , 20β -dihydroxy-4-pregnen-3-one Stimulates Cortisol Production by *Rainbow trout* Interrenal Tissue in vitro: Mechanism of Action. in

Reproductive Physiology of Fish, 1995. Editors Goetz, F.W. and Thomas, P. Austin, TX: Fish Symposium 95, p. 325.

- [22] Tokumoto, T., M. Tokumoto., R. Horiguchi., K. Ishikawa & Y. Nagahama (2005) Diethylstilbesterol Induces Fish Oocyte Maturation. *PNAS* **101**(10): 3686-3690.
- [23] Peter, R. E. & K. L. Yu (1997) Neuroendocrine Regulation of Ovulation in Fishes: Basic and Applied Aspects. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* **7**, 173–197.
- [24] Epler, P., K. Bieniarz & M. Sokolowska (1985) The Effect of Low Dosages of Steroid Hormon and Carp Hypophysial Homogenate on Carp (*Cyprinus carpio*) Oocyte Maturation in Vitro. *Aquaculture* **47**, 231-238.
- [25] Wijayanti G.E. % S.B.I. Simanjuntak (2006) Viabilitas sperma ikan nilem (*Osteochilus hasselti* C.V.) setelah penyimpanan jangka pendek dalam larutan Ringer. *Jurnal Perikanan VIII*(2), 207-214