

MEKANISME PELEPASAN HORMON GONADOTROPIN (GtH-II) IKAN LELE (*Clarias sp*) SETELAH DI INDUKSI LASERPUNKTUR PADA TITIK REPRODUKSI

¹Kusuma P.S.W, ² Agung P.W. Marhendra, ³Aulanni'am, ⁴ Marsoedi

¹FMIPA, Universitas PGRI Adibuan Surabaya

²FMIPA, Universitas Brawijaya

³Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya

E-mail: slametswk@yahoo.com

Abstract

Induction laserpuncture effectively stimulates gonad maturation and spawning, but the associated gonadotropin releasing hormone (LH / GtH-II) mechanism is still unknown. So the purpose of this study demonstrate the mechanism of the release of GTH-II on catfish (*Clarias sp.*) after induction laserpuncture at the reproduction acupoint. The test fish consisted of 54 males and 54 females aged 8-9 months from the F1 hybrid Sangkuriang type female and Paiton type male parents. Our study employed an experimental method with completely randomized design. The treatment comprised 6 levels with 9 repetitions. We were to observe gonadotropin hormone (GtH-II) concentrations pre-spawn, spawn, post-spawning in the laserpuncture exposed. As a comparison investigations were also conducted to untreated (control). Blood sampling performed at 6 h after induction laserpuncture. Hormone levels using the Elisa test kits Fish Luteinizing Hormone (LH) BIOTECH CO. CUSABIO., LTD. by Catalog No.. CSB-E15791Fh. The test results significant effect ($P<0.05$) increased levels of GtH-II profiles between laserpuncture induction with control, which profiles GTH-II levels pre-spawn conditions higher 2.2468, as well as the higher spawn condition 1,5409 in comparison with controls. However, the condition post-spawning in induction laserpuncture lower value 1.1131 compared with controls. This suggests that induction laserpuncture at the reproduction acupoint can stimulate of GABA release from GABAergic neurons pre-spawn and spawn condition. GABA stimulates the hypothalamus to release GnRH neurons. GnRH neurons stimulates the pituitary to GtH-II release. GtH-II will affect the acceleration of gonad maturation and spawning.

Kata kunci : laserpuntur, ikan lele (*Clarias sp*), titik reproduksi, hormon gonadotropi

1. PENDAHULUAN

Pemijahan secara alami dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti fotoperiodik dan suhu air memberikan isyarat yang diperlukan untuk memulai serangkaian proses perkembangan oosit. Sebagai tanggapan, hipotalamus melepaskan Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH). GnRH akan merangsang hipofisis untuk melepasan hormon gonadotropin (GtH-I dan GtH-II). Selama musim pemijahan, hormon gonadotropin terutama (GtH-II) meningkat tajam dalam serum darah. GtH-II berperan dalam pematangan akhir oosit serta ovulasi (Nagahama, 1994; Pham *et al.*, 2010). Sedangkan menurut (Kah and Dufour, 2011; Urbatzka *et al.*, 2011) bahwa perkembangan

gonad dan pemijahan diatur melalui regulasi axis hipotalamus-hipofisis-gonad dan hati.

Berbagai hormon eksogen telah digunakan untuk menginduksi pemijahan, misalnya dengan diberikan suntikan ovaprim. Pada dasarnya, upaya ini dilakukan untuk menambah konsentrasi hormon gonadotropin dalam darah sehingga mampu menginduksi perkembangan telur dan pemijahan (Hardjamulia dan Atmawinata, 1980). Pematangan gonad dan pemijahan dengan induksi laserpuntur pada titik reproduksi Ikan Nila Hitam varietas GIFT (*Genetic Improvement Farmer Tilapia*) merupakan pendekatan yang relatif baru dan telah terbukti mampu merangsang pematangan gonad dan mempercepat pemijahan Ikan Nila (*Clarias sp*) (Kusuma, 1999).

Laser merupakan cahaya gelombang pendek yang dapat menimbulkan inhibisi dan biostimulasi pada jaringan biologi (Chester *et al.*, 1991). Khususnya untuk laser berdaya rendah (*soft laser*) helium neon (He-Ne) 4-10 mW dapat memberikan stimulus biologi seperti meningkatkan aktivitas seluler dengan mengubah potensi listrik membran sel dan, membran menjadi selektif permabel untuk ion natrium, ion kalium dan ion kalsium, selain itu dapat meningkatkan aktivitas enzim, daya regenerasi syaraf, baik sentral maupun perifer serta kemampuan produksi hormon (Kert dan Rose, 1989; Karu, 2000). Efek yang ditimbulkan oleh sinar laser adalah *electrobioluminense*. Yaitu jika sinar laser mengenai jaringan akan merangsang sel secara listrik. Daya sinar laser 4-5 mW yang disinarkan ke permukaan kulit dapat menembus lapisan epidermis dan dermis yang selanjutnya menimbulkan rangsangan (Sukarto, 1992).

Kusuma (1999 ; 2000) telah berhasil menemukan letak titik reproduksi dan siklus reproduksi pada ikan nila hitam varietas GIFT (*Genetic Improvement Farmer Tilapia*) betina yang baru memijah pertama kali. Jika ikan nila hitam varietas GIFT di induksi laserpuntur selama 6 detik pada letak titik reproduksi tepatnya pada 2/6 bagian ventral tubuh (*govenoer vessel*) dengan frekuensi penembakan sekali dalam seminggu memberi pengaruh optimal terhadap tingkat kematangan gonad (TKG IV) ikan siap untuk dipijahkan. Sehingga dalam waktu 30 hari ikan nila dapat berpijah tiga kali, sedangkan normalnya dalam kondisi alami ikan nila bepijah sekali dalam 30 hari (Loshin dan Ibrahim, 1988). Sedangkan pada penelitian (Kusuma *et al.*, 2007) yang dicobakan pada ikan lele (*Clarias sp*) diperoleh pada kelompok kontrol dalam waktu 10 minggu masih terlihat TKG I, ini menunjukkan ikan lele belum siap untuk dipijahkan, sedangkan pada kelompok yang diinduksi laserpuntur selama 15 detik di 2/3 bagian ventral tubuh (*govenoer vessel*) dengan frekuensi penembakan sekali dalam seminggu memberi pengaruh optimal pada tingkat kematangan gonad yaitu mencapai TKG IV. Jadi baik pada ikan nila atau ikan lele jika di induksi dengan laserpuntur pada titik reproduksi akan memberikan pengaruh yang sama dalam pematangan gonad. Hal ini mengindikasikan bahwa rangsang laserpuntur terbukti dapat meningkatkan kinerja hormon yang merupakan sistem kontrol reproduksi.

Diduga induksi laserpuntur pada titik reproduksi di jaringan kulit akan menyebabkan depolarisasi membran sel syaraf yang selanjutnya akan merangsang protein G sub unit α mengalami foforilasi untuk mengaktifasi enzim fosfolipase C. Enzim fosfolipase C selanjutnya akan

menghidrolisa fosfatidil inositol bisfosfat (PIP₂) menjadi inositol trifosfat (IP₃) dan diasil gliserol (DAG). Aktivasi reseptor melalui jalur fosfolipase, diperoleh beberapa *second messenger*, yaitu DAG, IP₃ dan Ca²⁺. Ca²⁺ berperan dalam signaling dalam pelepasan neurotransmitter di jaringan otak. Neurotransmitter (GABA) berperan dalam pelepasan *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH) dari hipotalamus. GnRH akan merangsang hipofisa anterior untuk pelepasan hormon gonadotropin (GtH-II) (Trudeau *et al.*, 1993c; Mueller *et al.*, 2006; Mueller *et al.*, 2008). Pelepasan GtH-II akan disalurkan dalam pembuluh darah menuju gonad. Di gonad akan terjadi berbagai macam aktifitas. GtH-II akan berperan dalam pematangan akhir oosit serta merangsang ovulasi dan pemijahan (Peter *et al.*, 1991; Kah *et al.*, 1993).

Mengingat sampai saat ini mekanisme pelepasan hormon gonadotropin (GtH-II) ikan lele (*Clarias sp*) setelah di induksi laserpuntur pada titik reproduksi masih diduga dan belum diketahui, maka perlu dikaji bahwa induksi laserpuntur pada titik reproduksi dapat dipakai untuk merangsang pelepasan hormon gonadotropin (GtH-II) sebagai indikator pematangan gonad dan pemijahan ikan lele (*Clarias sp*).

2. BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai dengan akhir Maret 2012. di Unit Pengelolaan Budidaya Air Tawar (UPBAT) Kepanjen Malang. Sampel darah ikan lele (*Clarias sp*) yang di dapat di preparasi di Laboratorium Biokimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya untuk analisa profil kadar hormonnya dengan menggunakan Elisa Kit.

Hewan dan Bahan Uji

Hewan uji dalam penelitian ini adalah calon induk lele (*Clarias sp*) matang gonad dan belum pernah memijah sejumlah 54 ekor calon induk jantan dan 54 ekor calon induk betina dengan bobot badan antara 1010-1690 g untuk calon induk betina dan antara 1140-1750 g untuk calon induk jantan dan umur ikan baik calon induk betina maupun calon induk jantan sekitar 8-9 bulan F1 hasil silangan induk ikan lele Sangkuriang betina dengan induk ikan lele Paiton jantan yang berasal dari satu polulasi diperoleh dari UPBAT Kepanjen Malang, pemeliharaan calon induk betina dan calon induk jantan dilakukan di kolam terpal dengan ukuran 2x2x1 m² yang terpisah. Untuk Induksi laser digunakan alat laserpuntur jenis *soft laser* Helium-Neon (He-Ne) dengan spesifikasi

memiliki daya 5 mW dan panjang gelombang 632,8 nm serta memiliki luas luaran sianar 0,2 cm².

Induksi Lasepunktur

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan terdiri dari 6 level yang diulang sebanyak 9 kali. Perlakuan meliputi : kelompok kontrol dan kelompok yang induksi laserpunktur pada kondisi (sebelum memijah, memijah dan setelah memijah). Dosis Induksi laserpunktur dilakukan satu kali pada 2/3 bagian ventral tubuh (govenoervessel) selama 15 detik. Dosis tersebut merupakan dosis optimal yang diperoleh pada percobaan sebelumnya (Kusuma *et al.*, 2007). Sebagai pembanding dilakukan uji tanpa perlakuan (kontrol). Kontrol dan perlakuan masing-masing terdiri dari 27 ekor calon induk ikan lele (*Clarias sp*) matang gonad dan belum pernah memijah.

Pemeliharaan Induk

Calon induk ikan lele (*Clarias sp*) jantan dan betina matang gonad dan belum pernah memijah yang terseleksi selanjutnya diadaptasikan pada kolam terpal terpisah selama 14 hari dengan tujuan untuk menghindari pemijahan sebelum perlakuan. Selama pemeliharaan calon induk diberi pakan komersial Pokphan 781-3 dengan kandungan protein 36 % yang diproduksi oleh CP Prima, diberikan pagi dan sore hari sebanya 5 % dari berat tubuh. Calon induk yang diberi perlakuan kontrol dan yang induksi laserpunktur dipelihara pada kolam terpal yang telah diberi kode ukuran 2X2X1 m² dan setiap kolam di isi sepasang calon induk ikan lele (*Clarias sp*) matang gonad.

Parameter yang diamati

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah profil kadar hormon gonadotropin (GtH-II) dalam serum darah Ikan Lele (*Clarias sp*) setelah di induksi laserpunktur pada titik reproduksi pada kondisi (sebelum memijah, memijah dan setelah memijah) pada kelompok kontrol dan kelompok yang di induksi laserpunktur. Pengukuran profil kadar hormon dengan uji Elisa Kit Fish Luteinizing Hormone (LH) CUSABIO BIOTECH CO.,LTD. dengan Catalog No. CSB-E15791Fh.

Analisa data

Analisa data dilakukan dengan software SPSS Ver. 15.0 for windows. Uji tingkat perbedaan respon antar perlakuan dilakukan dengan analisis (ANOVA) dua arah. variabel profil kadar hormon

gonadotropin (GtH-II) diobservasi pada tiga kondisi (sebelum memijah, memijah dan setelah memijah) dan dua kelompok (kontrol dan induksi laserpunktur). Untuk kondisi atau kelompok yang berbeda nyata dilanjutkan dengan uji BNT pada tingkat kepercayaan 95%. Sedangkan data dalam bentuk grafik dianalisis secara deskriptif.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Hasil Penelitian

Nilai rata-rata kelompok kontrol dan kelompok yang di induksi laserpunktur pada kondisi (sebelum memijah, memijah dan setelah memijah) menunjukkan pada kondisi sebelum memijah sampai ke kondisi setelah memijah kedua kelompok baik kontrol maupun yang di induksi laserpunktur nilainya turun, akan tetapi rata-rata untuk kelompok yang di induksi laserpunktur nilainya lebih tinggi dibanding dengan kelompok kontrol (Tabel 1).

Tabel 1. Nilai rerata dan simpangan baku profil kadar hormon gonadotropin (GtH-II) pada serum darah Ikan lele (*Clarias sp*) antara kelompok kontrol dan yang di induksi laserpunktur

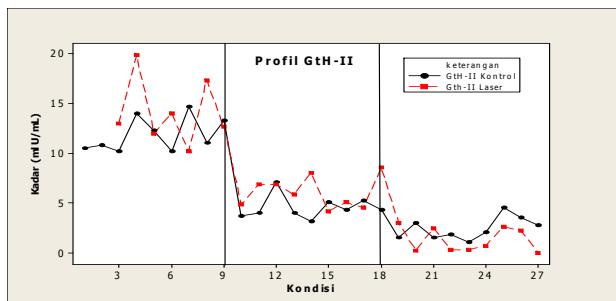
Kelompok	Profil Kadar Hormon GtH-II	N	Rerata ± Simpangan baku
Kontrol	KA	9	11.8952 ± 1.73691 ^c
	KC	9	4.5637 ± 1.15432 ^b
	KSC	9	2.4432 ± 1.11098 ^a
Laserpunktur	PA	9	14.1420 ± 3.32668 ^f
	PC	9	6.1046 ± 1.58215 ^e
	PSC	9	1.3301 ± 1.23272 ^d

Nilai dalam kolom di ikuti oleh superscript berbeda menunjukkan berbeda secara signifikan (P<0,05).

Keterangan : KA/PA : sebelum memijah
KC/PC : memijah
KSC/PSC : setelah memijah

Profil kadar hormon gonadotropin (GtH-II) kelompok kontrol dan yang di induksi laserpunktur terlihat bahwa pada kondisi sebelum memijah (observasi 1 sampai 9) menunjukkan profil kadar hormon gonadotropin (GtH-II) kelompok yang di induksi laserpunktur lebih tinggi 2,2468 dibandingkan kontrol, demikian pula untuk kondisi memijah kelompok yang di induksi laserpunktur lebih tinggi 1,5409 di bandingkan kontrol. Akan tetapi berbeda pada kondisi setelah memijah (observasi 19 sampai 27), dimana untuk kelompok yang di induksi laserpunktur nilainya lebih rendah

1,1131 di bandingkan dengan kelompok kontrol (Gambar 1).



Keterangan : Kondisi 1-9 = sebelum memijah
Kondisi 9-18 = memijah
Kondisi 18-27 = setelah memijah

Gambar 1. Grafik profil kadar hormon GtH-II untuk kelompok kontrol dan laserpuntur pada kondisi (sebelum memijah, memijah dan setelah memijah)

Dari hasil analisis kualitatif dan kuantitatif mnnujukkan bahwa profil kadar hormon gonadotropin (GtH-II) kondisi sebelum memijah ke kondisi memijah pada kelompok yang diinduksi laserpuntur nilainya lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol. Sedangkan pada kondisi setelah memijah profil kadar hormon gonadotropin (GtH-II) kelompok laserpuntur nilainya lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol. Peningkatnya dan penurunan kadar hormon gonadotropin telah diketahui dipengaruhi oleh *gonadotropin releasing hormon* (GnRH) yang dilepas di hipotalamus, dimana GnRH ini sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan yang bekerjanya melalui sistem syaraf pusat. Hasil penelitian ini memberikan indikasi bahwa induksi laserpuntur di titik reproduksi dapat merangsang GnRH melalui jalur syaraf setelah 6 jam di induksi laserpuntur pada titik reproduksi. Pemakaian waktu 6 jam sebagai ladasan dalam penelitian tentang aktifitas seluler akibat induksi laserpuntur pada titik reproduksi ikan lele (*Clarias sp*) ini berdasarkan hasil penelitian (Trudeau *et al.*, 1993c) yang dilakukan pada ikan mas yang di suntik dengan hormon steroid. Dimana efek suntikan ini mampu memodulasi aktifitas GAD-65 melimpah setelah 6 jam dan aktivitas GAD-65 ini menentukan sintesis GABA di neuron GABAergic.

Hal ini dapat terjadi jika laserpuntur berdaya rendah (*soft laser*) Helium-Neon (He-Ne) dengan panjang gelombang 632,8 nm, daya 5 mW/cm² dan luaran cahaya 0,2 cm² jika di induksikan

selama 15 detik/titik reproduksi tepatnya di 2/3 bagian ventral tubuh setara dengan energi sebesar 0,375 Joule/cm²/titik reproduksi, energi ini terbukti mampu menyebabkan protein G subunit α membran sel syaraf mengalami fosforilisasi untuk mengaktifasi enzim fosfolipase C (PLC). Enzim fosfolipase C selanjutnya akan menghidrolisa fosfatidil inositol bisfosfat (PIP₂) menjadi inositol trifosfat (IP₃) dan diasil gliserol (DAG). Keduanya berperan dalam transduksi signal sebagai *second messenger*. Selanjutnya, IP₃ akan berikatan dengan reseptor spesifik pada retikulum endoplasmik (RE) yang terkait dengan kanal Ca²⁺ memicu pelepasan Ca²⁺ dari RE ke sitosol sehingga meningkatkan kadar Ca²⁺ intraseluler. Aktivasi reseptor melalui jalur fosfolipase, diperoleh beberapa *second messenger*, yaitu DAG, IP₃ dan Ca²⁺. DAG memiliki dua peran dalam signaling, yaitu dapat diurai lebih lanjut menghasilkan asam arakidonat, dan DAG bersama-sama dengan Ca²⁺ mengaktifasi protein kinase C (PKC). PKC berperan dalam sintesis gen-gen tertentu. Ca²⁺ intraseluler akan mengaktifasi calcineurin. Calcineurin bersama dengan PKC berperan dalam signaling dalam pelepasan neurotransmitter. Jalur aktivitas seluler akibat induksi laserpuntur seperti tersebut ini dikenal sebagai jalur metabotropic.

Akan tetapi tidak menutup kemungkinan induksi laserpuntur pada titik reproduksi dapat juga melalui jalur ionotropic yang diawali dari induksi laserpuntur mengenai titik reproduksi sinar laser akan diubah menjadi sinyal listrik. Sinyal listrik akan menyebabkan depolarisasi membran sel syaraf. Membran sel syaraf akan merespon dengan terbukanya saluran ion. Ca²⁺ ektraseluler akan masuk melalui *calcium sensing receptor* (CaSR) atau melalui *voltage-gated Ca²⁺ channels* (VGCC). Akibat masuknya Ca²⁺ ektraseluler ini akan bertemu dengan gelembung-gelembung sinaptik dan membran terbuka untuk melepaskan neurotransmitter ke celah sinaptik dengan cara eksositosis selanjutnya akan ditangkap oleh reseptor postsinap, selanjutnya akan berperan dalam signaling yaitu melanjutkan sinyal listrik dari presinap menuju postsinap sampai akhirnya menuju otak. Didalam otak akan menimbulkan reaksi berantai seperti merangsang calcineurin dan PKC untuk mengaktifkan enzim *Glutamic acid decarboxylase* (GAD-65). Aktifnya GAD-65 ini akan merangsang neuron GABAergic untuk mensintesis GABA.

Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian (Anglade *et al.*, 1999) bahwa pelepasan neurotransmitter GABA dari Neuron GABAergic ini sangat tergantung dari depolarisasi membran sel syaraf, potensial aksi, Ca²⁺, PKC, dekarboksilasi glutamat dan GAD. GAD adalah enzim katalitik

yang memiliki peran penting dalam sitesis GABA terekspresi berlimpah di telencephalon dan di mediobasal hipotalamus dari ikan trout (Anglade et al., 1999). Sintesis GABA diawali dari dekarboksilasi glutamat dan dikatalis oleh *Glutamic Acid Decarboxylase* (GAD). GAD umumnya terdapat dalam akhiran saraf (Kah et al., 1992; Trudeau et al., 1993 b, c).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa induksi laserpuntur dapat meningkatkan profil kadar hormon gonadotropin (GtH-II) diserum darah pada 6 jam sebelum memijah dibanding dengan kelompok kontrol. Hal ini disebabkan induksi laserpuntur pada titik reproduksi dapat merangsang neuron GABAergic untuk mensintesis GABA. GABA akan merangsang neuron GnRH di hipotalamus untuk melepas GnRH. GnRH akan merangsang pelepasan hormon gonadotropin (GtH-II). Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian (Martinoli et al., 1990; Kah et al., 1993; Nagahama, 1994; Pham et al., 2010) pada ikan yang disuntik hormon steroid menunjukkan adanya hubungan sinaptik antara neuron GABAergic dan neuron GnRH dan neuron hipofisis, memungkinkan hasil pelepasan GABA dari neuron GABAergic langsung mempengaruhi pelepasan GnRH dari hipotalamus dan pelepasan hormon gonadotropin (GtH-II) dari hipofisis. Pelepasan GtH-II dari hipofisis selanjutnya disalurkan dalam pembuluh darah menuju gonad. Di gonad akan terjadi berbagai macam aktifitas. GtH-II berperan dalam pematangan akhir oosit serta merangsang ovulasi dan pemijahan (Peter et al., 1991; Kah et al., 1993). Selain akibat induksi laserpuntur dan penyuntikan hormon steroid secara alami, banyak faktor fisiologis yang dapat mempengaruhi aktifitas pelepasan GnRH di hipotalamus misalnya, lamanya waktu penyinaran, perilaku seksual, stres dan pematangan gonad, selain itu masih banyak zat mediator lain dalam meregulasi sintesis dan pelepasan GnRH dari hipotalamus diantaranya seperti dopamin (DA) (Dufour et al., 2005), serotonin (Khan and Thomas, 1993; Senthilkumaran et al., 2001) dan neuropeptide Y (NPY) (Li et al., 1999).

Hasil penelitian pada kondisi setelah memijah profil kadar hormon GtH-II pada kelompok kontrol lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok yang di induksi laserpuntur. Hal ini dikarenakan pelepasan hormon GtH-II pada beberapa ikan pada kelompok kontrol belum tuntas karena pada keadaan yang sama ada beberapa ikan yang belum memijah. Sedangkan pada kelompok yang di induksi laserpuntur semua ikan telah selesai memijah, sehingga profil kadar hormon gonadotropin GtH-II pada serum darah terdeteksi rendah. Diduga pelepasan GtH-II dari hipofisis dapat terjadi bukan hanya dipengaruhi oleh induksi

laserpuntur saja akan tetapi dapat juga disebabkan adanya pheromon yang dilepaskan oleh lawan jenis dalam satu kolam pemijahan atau kemungkinan lain GABA yang dilepas dari neuron GABAergic kadarnya tidak mencukupi untuk merangsang pelepasan GnRH dari hipotalamus dan hormon gonadotropin dari hipofisis. Seharusnya baik kelompok kontrol maupun yang di induksi laserpuntur profil kadar hormon GtH-II menurun setelah pemijahan berakhir akan tetapi penurunan pada kelompok yang di induksi laserpuntur dipercepat.

Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian (Martyniuk et al., 2005) yang dilakukan pada ikan mas yang diberi suntikan hormon steroid menyatakan bahwa neuron GABAergic dapat mengatur pelepasan GABA di otak selama periode 24 jam. GABA adalah neuroendokrin penting pengatur pelepasan hormon hipofisis lainnya pada ikan. GABA memiliki efek stimulasi yang mencolok pada pada pelepasan GtH-II (Kah et al., 1992; Sloley et al., 1991; Trudeau et al., 1993a, b; Mañanos et al., 1999).

4. KESIMPULAN

Induksi laserpuntur pada titik reproduksi ikan lele (*Clarias sp*) dapat meningkatkan profil kadar hormon gonadotropin (GtH-II) pada kondisi sebelum memijah dan memijah dibandingkan dengan kelompok kontrol, sedangkan pada kondisi setelah memijah profil kadar hormon gonadotropin (GtH-II) kelompok kontrol nilainya lebih tinggi dibanding kelompok yang di induksi laserpuntur.

DAFTAR PUSTAKA

- Anglade I, D. Mazurais, V. Douard, C. Le Jossic-Corcos, E.L. Mananos, D. Michel, and O.Kah., 1999. Distribution of glutamic acid decarboxylase mR.NA in the forebrain of the rainbow trout as studied by in situ hybridization. *J Comp Neurol.* 410:277–289.
- Chester, A.N., S. Martelucci and A.M. Scheggi. 1991. *Laser Ststem for Photobiology and Photomedicine*. NATO ASI Series. Plenum Press. New York.
- Dufour, S, F. A. Weltzien, M. E. Sebert, N. LE Belle, B. Vidal, P. Vernier and C. Pasqualini. 2005. Dopaminergic inhibition of reproduction in teleost fishes: ecophysiological and evolutionary implications. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1040: 9-21.
- Hardjamulia, A. dan S. Atmawinata. 1980. Teknik Hipofisisi Beberapa Jenis Ikan Air Tawar.

Prociding Lokakarya Nasional, Balitkanwar, Bogor.

- Kah O, I, Anglade , E. Lepretre, P. Dubourg and D. Monbrison. 1993. The reproductive brain in fish. *Fish Physiology and Biochemistry* 11 : 85 – 98.
- Kah, O, V.L. Trudeau, B.D. Sloley, J.P. Chang, P. Dubourg, K.L. Yu and R.E. Peter. 1992. Influence of GABA on gonadotrophin release in the goldfish. *Neuroendocrinology*. 55 : 396 – 404.
- Kah, O. and S. Dufour. 2011. Conserved and divergent features of reproductive neuroendocrinology in teleost fishes. *Hormones and Reproduction of Vertebrates*. Academic Press. 2 : 15-42.
- Karu, T.I. 2000. Cellular Mechanisms of Low Power Laser Therapy. Institute on Problems of Laser and Informatic Technologies of Russian Academy of Sciences. <http://www.mededge.inc.com/nquest.pdf>
- Kert, J dan L. Rose. 1989. *Low Level Laser Therapy*. Scandinavian Medical Laser.Technology. London.
- Khan, I. A. and , P. Thomas. 1993. Immunocytochemical localization of serotonin and gonadotropin-releasing hormone in the brain and pituitary gland of the Atlantic croaker *Micropogonias undulatus*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 91 (2): 167-180.
- Kusuma, P.S.W. 1999. Optimalisasi Letak Titik Dan Frekuensi Penembakan Laserpuntur (He-Ne) Terhadap GSI Ikan Nila (*Oreochromis sp*). Karya Ilmiah.
- Kusuma, P.S.W. 2000. *Pengaruh Penembakan Soft Laser He-Ne Terhadap Siklus Reproduksi ikan Nila*. Thesis. Program Pascasarjana Universitas Airlangga. Surabaya.
- Kusuma, P.S.W., D. Hariani, A.T. Mukti, dan W.A. Satyantini. 2007. *Aplikasi Teknologi Laser untuk Pengkajian Produksi Lele dalam Rangka Pengembangan Ekonomi Masyarakat Ekonomi Masyarakat Desa di Kabupaten Boyolali Jawa Tengah*. LP3K bekerja sama dengan kelompok Pembudidaya Karya Mina Utama Kabupaten Boyolali.
- Li, C., P. Chen and M. S. Smith. 1999. Morphological evidence for direct interaction between arcuate nucleus neuropeptide Y (NPY) neurons and gonadotropinreleasing hormone

neurons and the possible involvement of NPY Y1 receptors. *Endocrinology*. 140 (11): 5382-5390.

Loshin, L.L. and H.H. Ibrahim. 1988. *Effects of broodstock exchange on Oreochromis niloticus egg and fry production in net enclosures*. The Second International Symposium on Tilapia in Aquaculture. ICLARM Conference Proceeding 15. p : 623.

Mañanos, E. L., I. Anglade, J. Chy, C. Saligaut, B. Breton, O. Kah. 1999. Involvement of aminobutyric acid in the control of GTH-1 and GTH-2 secretion in male and female rainbow trout. *Neuroendocr.* 69: 269–280.

Martinoli, M. G., P. Dubourg, M. Geffard, A. Calas and O. Kah. 1990 . Distribution of GABA-immunoreactive neurones in the forebrain of the goldfish. *Cell Tissue Res.* 260: 77–84.

Martyniuk, C.J., A.B. Crawford, N.S. Hogan, V.L. Trudeau. 2005 . GABAergic modulation of the expression of genes involved in GABA synaptic transmission and stress in the hypothalamus and telencephalon of the female goldfish (*Carassius auratus*). *J. Neuroendocrinol.* 17, 269–275.

Mueller T, MF. Wullimann, S. Guo., 2008. Early teleostean basal ganglia development visualized by zebrafish *Dlx2a*, *Lhx6*, *Lhx7*, *Tbr2* (*eomesa*), and *GAD67* gene expression. *J Comp Neurol.* 507:1245–1257.

Mueller T, P. Vernier, MF. Wullimann., 2006. A phylotypic stage in vertebrate brain development: GABA cell patterns in zebrafish compared with mouse. *J Comp Neurol.* 494:620–634.

Nagahama, Y., 1994. Endocrine regulation of gametogenesis in fish. *The International Journal of Developmental Biology*. 38 : 217-229.

Peter, R.E., V.L. Trudeau and B.D. Sloley. 1991. Brain regulation of reproduction in teleosts *Bulletin of the Institute of Zoology (Taipei)* *Academica Sinica Monograph*.16 : 89 –118.

Pham, H.Q., A.T. Nguyen, M.D. Nguyen and A. Arukwe. 2010. Sex steroid levels, oocyte maturation and spawning performance in Waigieu sea perch (*Psammoperca waigiensis*) exposed to thyroxin, human chorionic gonadotropin, luteinizing hormone releasing

- hormone and carp pituitary extract. *Comp. Biochem. Physiol. Part A*. 155 : 223-230.
- Senthilkumaran, B., K. Okuzawa, K. Gen and H. Kagawa., 2001. Effects of serotonin, GABA and neuropeptide Y on seabream gonadotropin releasing hormone release in vitro from preoptic-anterior hypothalamus and pituitary of red seabream, *Pagrus major*. *J. Neuroendocrinol.* 13 (5), 395-400.
- Sloley, B. D., V. L. Trudeau, J.G. Dulka and R. E. Peter., 1991. Selective depletion of dopamine in the goldfish pituitary caused by domperidone. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 69 : 776-781.
- Sukarto., 1992. Penggunaan Laser untuk Akupunktur. *J. Acupunctur.* 1 : 49-54.
- Trudeau VL, B.D. Sloley and R.E. Peter., 1993c. GABA stimulation of gonadotropin-II release in goldfish: involvement of GABAA receptors, dopamine and sex steroids *American Journal of Physiology* 265 : R348 – R355.
- Trudeau, V. L., B. D. Sloley and R. E. Peter., 1993b . Testosterone enhances GABA and taurine but not N-methyl-D,L-aspartate stimulation of gonadotropin secretion in the goldfish: possible sex steroid feedback mechanisms. *J. Neuroendocr.* 5 : 129–136.
- Trudeau, V. L., B. D. Sloley and R. E. Peter., 1993a . GABA stimulation of gonadotropin secretion in the goldfish: involvement of GABAA receptors, dopamine and sex steroids. *Am. J. Physiol.* 265 : R348–R355.
- Urbatzka, R., M. J. Rocha and E. Rocha. 2011. Regulation of ovarian development and function in teleosts. In: NORRIS, D. O. & LOPEZ, K. H. (eds.) *Hormones and Reproduction of Vertebrates*. Academic Press,4,65-82.