

## EFEKTIVITAS PERENDAMAN MADU DENGAN SUHU BERBEDA TERHADAP MASKULINISASI LARVA IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*)

EFFECTIVITY OF IMMERSED IN HONEYBEE WITH SEVERAL TEMPERATURE ON THE MASCULINIZATION OF NILE TILAPIA LARVAE

Aprelia Martina Tomasoa<sup>1\*</sup>, Deidy Azhari<sup>1</sup>, Christian Andelsen Manangsang<sup>1</sup>, Ferly Feybe Dansole<sup>1</sup>, Rodhi Firmansyah<sup>2</sup>

1. Program Studi Teknologi Budidaya Ikan, Politeknik Negeri Nusa Utara, Tahuna, Indonesia
2. Program Studi Akuakultur, Sekolah Tinggi Perikanan Kelautan Matauli, Pandan, Indonesia  
*email: apriltomasoa@gmail.com*

### ABSTRAK

Ikan nila merupakan salah satu komoditi perikanan air tawar yang dapat ditingkatkan kualitas produksinya melalui teknik budidaya monoseks jantan. Teknik monoseks jantan dapat dilakukan dengan menggunakan hormon sintetik seperti  $17\alpha$ -metiltestosteron yang tidak disarankan dalam upaya peningkatan kualitas produksi pangan karena meninggalkan residu karsinogenik. Berdasarkan hal ini maka penggunaan bahan alami dalam meningkatkan kualitas hasil produksi sangatlah direkomendasikan. Madu merupakan bahan alami yang mengandung chrysin yang dapat digunakan untuk teknik maskulinisasi pada ikan nila. Efektivitas senyawa bahan alam dalam teknik maskulinisasi juga dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti suhu. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suhu terhadap jumlah kelamin jantan yang dihasilkan dan mengetahui suhu terbaik dalam teknik maskulinisasi menggunakan larutan madu. Penelitian ini dilakukan menggunakan 4 perlakuan suhu dengan menggunakan konsentrasi madu (15 mL/L). Larva yang digunakan adalah larva umur 7 hari setelah menetas yang diperoleh melalui pemijahan semi buatan dengan induksi hormon. Untuk mengetahui jumlah kelamin jantan, analisa histologis dengan pewarnaan asetokarin dilakukan untuk mengamati gonad benih yang dihasilkan. Hasil yang diperoleh mengindikasi bahwa perendaman larva ikan nila dalam larutan madu pada suhu 32°C menghasilkan jumlah kelamin jantan sebesar 86,7%. Penelitian ini menemukan bahwa perlakuan suhu yang digunakan dalam teknik maskulinisasi dengan menggunakan madu berpengaruh terhadap rasio kelamin jantan yang dihasilkan dan kombinasi suhu 32°C memberikan nilai tertinggi terhadap kelamin jantan yang dihasilkan

Kata kunci: Chrysin, diferensiasi kelamin, gonad, histologi, jantan

### ABSTRACT

Nile tilapia is a freshwater fish commodity that potentially rear in monosex culture in order to improve the production. All male monosex culture usually established using synthetic hormone product such as  $17\alpha$ -metiltestosterone that not recommended to use in order to improve food production because of its carcinogenic residual properties. By this reason the idea to use natural substances in order to improve production in aquaculture are highly recommended. Honeybee is a natural product that know as a source of chrysin that can be use in fish masculinization method. The effectivity of natural product also influenced by environmental factors such as temperature. This research is aimed to study the effect honeybee combined with temperature and to find out the best temperature that effected male ratio in masculinization method. This research conducted by using 4 treatments temperature with concentration honeybee (15 mL/L). We

are using 7 dph larvae in this research that are collected from artificial breeding with hormonal induction. Histological analysis using acetocarmine staining is established to determine the gonad as male or female. Result showed that the emersion of larvae in honeybee solution with incubation temperature 32°C, gave 86.7% male ratio. Base on this we can conclude that temperature truly effected male ratio in masculinization using honeybee and 32°C in the best temperature to produce higher male ratio in masculinization method using honeybee.

Keywords: Chrysin, gonadal, histology, male, sex reversal

## 1. PENDAHULUAN

Ikan nila merupakan salah satu spesies komoditi budidaya air tawar yang memiliki berbagai kualitas unggul diantaranya, memiliki laju pertumbuhan yang cepat, toleransi terhadap kondisi lingkungan yang tinggi, dan mudah untuk dibudidayakan pada berbagai sistem budidaya (Tomasoa & Azhari, 2019; Azhari & Tomasoa, 2018; FAO/GLOBEFISH, 2013; Gabriel *et al.*, 2015; Sayed & Moneeb, 2015). Ikan nila memiliki laju pertumbuhan yang cepat jika dilihat bersadarkan karakteristik dimorfisme, maka ikan nila jantan memiliki laju pertumbuhan yang lebih tinggi dibandingkan dengan ikan betina. Maka hal tersebut dijadikan sebagai faktor untuk melakukan maskulinisasi sehingga dapat memproduksi populasi monoseks ikan jantan serta untuk meningkatkan produksi budidaya ikan nila (Francis & Esa, 2016; Rosmaidar *et al.*, 2014; Vinarukwong *et al.*, 2018).

Berbagai teknik dapat dilakukan untuk menghasilkan produksi monoseks ikan jantan (maskulinisasi) salah satunya dengan melakukan *sex reversal* yaitu teknologi pengarahan diferensiasi kelamin menjadi jantan. Teknologi ini tepatnya dilakukan pada saat gonad ikan belum terdiferensiasi secara sempurna, agar memudahkan produksi monoseks ikan jantan. Umumnya memperoleh ikan monoseks adalah menggunakan hormon 17 $\alpha$ -metiltestosteron (MT) sangat efektif untuk menghasilkan populasi ikan berkelamin jantan (Rosmaidar *et al.*, 2014). Hormon 17 $\alpha$ -metiltestosteron efektif dalam meningkatkan rasio kelamin jantan, namun hormon androgen ini merupakan bahan sintetik yang dapat meninggalkan residu dan dinilai dapat memicu pertumbuhan sel kanker sehingga tidak aman digunakan dalam produksi bahan pangan, termasuk ikan (Heriyati *et al.*, 2015; Soelistyowati *et al.*, 2010).

Berdasarkan hal tersebut maka dibutuhkan suatu solusi untuk meningkatkan produksi hasil budidaya yang memenuhi syarat keamanan pangan dan konsumen. Madu merupakan bahan alam dengan kandungan chrysin yang merupakan aromatase

*inhibitor* yang dapat digunakan dalam teknik maskulinisasi pada ikan nila (Altawash *et al.*, 2017). Teknik maskulinisasi pada ikan berkaitan erat dengan proses deferensiasi kelamin yang dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti suhu lingkungan (Afriyaniingrum *et al.*, 2016; Yaron & Zivan, 2011).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh suhu terhadap rasio kelamin jantan yang dihasilkan dan mengetahui suhu terbaik dalam teknik maskulinisasi menggunakan larutan madu.

## 2. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan larva ikan nila berumur 7 hari setelah menetas yang diperoleh dari pemijahan semi-buatan menggunakan hormon ovaprim. Larva terbagi dalam masing-masing perlakuan suhu yaitu, 26°C, 28°C, 30°C dan 32°C dan dosis madu yang digunakan 15 mL/L (Odara *et al.*, 2015). Setiap perlakuan dilakukan 3 kali ulangan. Wadah pemeliharaan yang digunakan menggunakan toples kaca dengan volume 2L. Perendaman madu dengan suhu berbeda dilakukan selama 10 jam dimana setiap ulangannya menggunakan 15 ekor larva. Setelah proses perendaman madu dengan suhu berbeda, larva dipelihara selama 10 hari pada wadah dan volume air yang sama. Kualitas air dijaga dengan menggunakan aerasi dan mengganti air 2 hari sekali selama masa perlakuan. Selama masa perlakuan dan pemeliharaan larva, parameter kualitas air suhu dan pH diukur setiap hari.

Parameter uji yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, persentase kelamin jantan dan sintasan hidup larva ikan nila. Persentase kelamin jantan dihitung dengan menggunakan rumus (Soesanti, 2015) :

$$\text{Larva jantan (\%)} = \frac{\text{(Jumlah larva jantan}}{\text{Jumlah larva)}} \times 100\% \quad (1)$$

Sedangkan pada perhitungan persentase sintasan hidup larva dapat dihitung dengan menggunakan rumus (Soesanti, 2015) :

$$SR = \frac{N_t}{N_0} \times 100\% \quad (2)$$

Keterangan :

SR = Sintasan hidup (%)

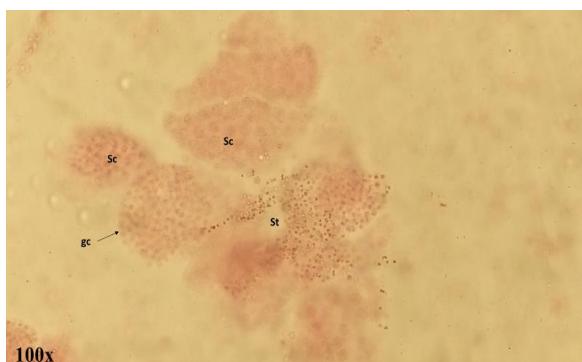
N<sub>t</sub> = Jumlah larva pada akhir pemeliharaan

N<sub>0</sub> = Jumlah larva pada awal pemeliharaan

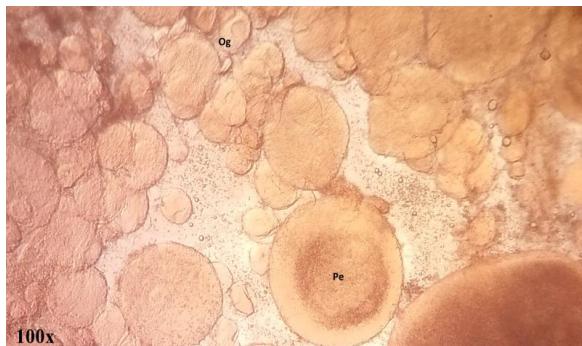
Untuk mengetahui jenis kelamin yang dihasilkan maka analisa histologi dilakukan pada gonad benih yang telah dipelihara. Analisa histologi menggunakan metode pewarnaan asetokarmin. Gonad yang digunakan untuk analisa histologi diperoleh dengan cara membedah benih ikan nila kemudian memisahkan gonadnya. Gonad yang diperoleh dicacah di atas kaca preparat, kemudian ditetes dengan pewarna asetokarmin dan diamati di bawah mikroskop. Data yang diperoleh ditabulasi dalam bentuk rata-rata dan disajikan dalam bentuk histogram.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan pada larva umur 17 hari setelah menetas dengan menggunakan teknik pewarnaan asetokarmin, dapat dibedakan antara gonad jantan dan gonad betina. Perbedaan antara gonad jantan dan gonad betina dapat dilihat pada Gambar 1. dan Gambar 2.



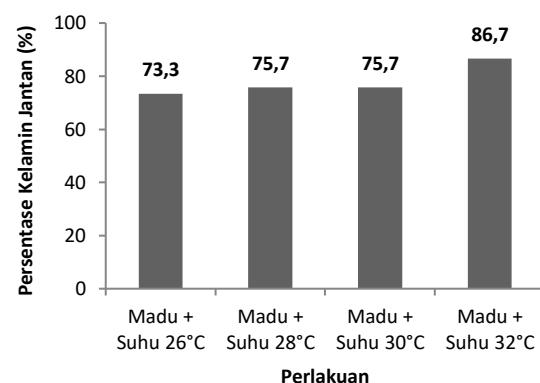
Gambar 1. Penampang histologi gonad jantan larva ikan nila; *germinal cyst* (gc), spermatosites (Sc) dan spermatid (St).



Gambar 2. Penampang histologi gonad betina larva ikan nila; oogonium (Og) dan Perinukleolar (Pe).

Pengamatan yang dilakukan pada larva ikan nila dari hasil pewarnaan asetokarmin menunjukkan larva berkelamin jantan ditandai dengan gonad memiliki struktur *germinal cyst* yang membentuk seperti spermatosit dan spermatid. Sedangkan hasil pewarnaan asetokarmin gonad larva berkelamin betina ditandai dengan adanya oogonium dan perinuklear.

Perendaman pada fase larva dapat memberikan pengaruh yang besar terhadap tingkat keberhasilan dari percobaan nisbah kelamin (Wahyuningsih *et al.*, 2018). Jumlah larva jantan yang telah diperoleh dan ditabulasi memberikan hasil jumlah kelamin jantan pada setiap kelompok perlakuan berkisar antara 73,3-86,7% (Gambar 3). Hasil tertinggi diperoleh dari perlakuan perendaman madu dengan kombinasi suhu 32°C sedangkan hasil terendah diperoleh dari perlakuan perendaman madu dengan kombinasi suhu 26°C dengan persentase sintasan hidup sebesar 100% pada setiap kelompok perlakuan selama masa percobaan.



Gambar 3. Persentase kelamin jantan larva ikan nila

Hasil penelitian ini lebih tinggi dari penelitian yang dilakukan oleh Kambu *et al.* (2019) terhadap jantanisasi ikan nila merah pada suhu 32°C dengan konsentrasi propolis 0,1 dan 0,075 mL/L selama 10 jam mendapatkan persentase jantan antara 79,63-85,61%, rendahnya persentase tersebut diduga akibat rendahnya dosis hormon yang diberikan, sementara pada penelitian ini dosis madu yang diberikan optimal yaitu 15 mL/L, di dalam madu tersebut ada kandungan kalium dan chrysins yang masuk ke dalam tubuh ikan melalui difusi pada saat perendaman (Zairin Jr, 2002 dalam Siregar *et al.*, 2018). Chrysins berperan dalam mencegah aktivitas aromatase yang berdampak pada

banyaknya kandungan testosterone dari hormon estradiol di dalam tubuh ikan (Sarida *et al.*, 2010), sedangkan kalium pada perlakuan *sex reversal* berfungsi untuk mengatur regulasi kandungan hormon testosterone yang ada pada tubuh serta mengarahkan dan mengontrol kerja androgen (Heriyati, 2012). Sedangkan Mulyasih *et al.* (2012) mendapatkan persentase nisbah kelamin jantan lebih kecil pada ikan guppy (*Poecilia reticulata*) yang berkisar antara 45,43-68,72% dengan perlakuan suhu 28-32 °C dan dosis propolis 0-100 µL/L.

Perlakuan suhu pada penelitian ini yaitu 26, 28, 30 dan 32 °C. Pada kondisi suhu air yang tinggi akan menyebabkan ikan mengalami abnormalitas. Bozorgnia *et al.* (2011) menyatakan kenaikan suhu akan mengakibatkan jumlah eritrosit meningkat. Saat suhu tinggi menyebabkan proses penyerapan oksigen oleh eritrosit bertambah banyak. Tubuh ikan akan mengkompensasi kekurangan oksigen tersebut dengan meningkatkan kadar eritrosit. Ravichandra (2012) menambahkan pada saat kondisi suhu tinggi menyebabkan kadar eritrosit dalam darah pada tubuh ikan akan meningkat, kondisi fisiologi tersebut bertujuan untuk mengurangi kondisi stress, akan tetapi penelitian ini menunjukkan hasil yang sebaliknya, sebab kelulusan hidup larva ikan nila sebesar 100% untuk setiap kelompok perlakuan ini menunjukkan bahwa larva ikan nila tidak mengalami abnormalitas.

Pada hewan *poikiloterm*, faktor lingkungan seperti suhu sangat mempengaruhi proses metabolisme yang terjadi di dalam tubuh termasuk proses penentuan jenis kelamin (Devlin & Nagahama, 2002; Alvarez & Piferrer, 2007; Baroiller *et al.*, 2009). Hasil di atas dapat dilihat bahwa rasio kelamin jantan yang di peroleh berkorelasi positif dengan perlakuan suhu yang diberikan pada saat perlakuan. Beberapa percobaan sebelumnya dengan menggunakan madu diperoleh hasil antara 80-85% dengan konsentrasi madu dan lama perendaman yang sama (Odara *et al.*, 2015; Soelistyowati *et al.*, 2010; Damayanti *et al.*, 2013) sehingga apabila dibandingkan dengan hasil yang diperoleh dapat dikatakan bahwa suhu dalam perlakuan memberikan pengaruh dimana suhu tinggi mampu meningkatkan rasio kelamin jantan.

Apabila dikaitkan dengan pengaruh suhu terhadap proses penentuan jenis kelamin pada ikan, Afpriyaningrum *et al.* (2016) dan El-Sayed *et al.* (2017), menyatakan bahwa pemeliharaan larva ikan pada suhu 35°C-37°C dapat meningkatkan rasio kelamin jantan hingga >90%. Ini menjelaskan hasil yang diperoleh bahwa suhu yang digunakan tidak mencapai suhu kritis yang mampu mempengaruhi penentuan jenis kelamin pada larva ikan. Ikan nila merupakan ikan yang tergolong *thermo-sensitive* yang berarti bahwa proses penentuan jenis kelamin sangat dipengaruhi oleh suhu (Baroiller *et al.*, 2009). Hasil

pengukuran suhu dan pH media pemeliharaan selama masa percobaan, dengan rata-rata suhu sebesar 26°C dan rata-rata pH sebesar 6-7 menunjukkan bahwa suhu dan pH berada dalam kisaran normal untuk penentuan jenis kelamin (Baroiller *et al.*, 2009 ; Yaron & Zivan, 2011).

Dalam penelitiannya juga, Afpriyaningrum *et al.* (2016) dan El-Sayed *et al.* (2017) memberikan perlakuan suhu selama masa pemeliharaan yaitu selama masa labil penentuan jenis kelamin. Hal ini menjelaskan bahwa pengaruh perlakuan suhu yang digunakan dalam proses penentuan jenis kelamin terjadi secara bertahap selama masa labil penentuan jenis kelamin atau sepanjang masa sebelum bakal gonad terbentuk menjadi testis atau ovarium. Suhu sangat mempengaruhi kedua proses utama dalam penentuan jenis kelamin pada ikan yaitu diferensiasi dan determinasi kelamin melalui dua cara yaitu mempengaruhi aktifitas hormonal dan proses perkembangan jaringan bakal gonad (Soltan *et al.*, 2013; Budd *et al.*, 2015). Suhu lingkungan sebagai faktor eksternal berperan pada diferensiasi kelamin hal ini juga disebabkan karena ikan nila bersifat termosensitif (Baroiller *et al.*, 1995). Sehingga semakin tinggi suhu makan rasio kelamin ikan jantan semakin tinggi (Tessema *et al.*, 2006). Dari penjelasan tersebut dapat dikatakan bahwa penggunaan suhu tinggi selama masa labil perkembangan gonad dapat mempengaruhi rasio kelamin jantan pada teknik maskulinisasi dengan menggunakan madu.

#### 4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat ditarik kesimpulan bahwa perlakuan suhu 32°C yang digunakan dalam teknik maskulinisasi kombinasi dengan menggunakan dosis madu 15 mL/L berpengaruh terhadap jumlah kelamin jantan yang dihasilkan dan menghasilkan persentase kelamin jantan ikan nila sebesar 86,7%.

#### Daftar Pustaka

- Afpriyaningrum, M.D., Soeslyowati, D.T., Alimuddin., Zairin, Jr M., Setiawan, M., Herdianto, D. 2016. Maskulinisasi ikan nila melalui perendaman larva pada suhu 36°C dan kadar residu 17 $\alpha$  Metiltestosteron dalam tubuh ikan. *Omni-Akuatika* 12 (3): 106-113.  
Altawash, A.S.A., Shahneh, A.Z., Moravej, H., Ansari, M. 2017. Chrysin-Induced sperm parameters and fatty acid profile changes improve reproductive performance of roosters. *Theriogenology* 104: 72-79.  
Alvarez, N.O and Piferrer, F. 2007. Temperature-Dependent sex determination in fish revisited:

- prevalence, a single sex ratio response pattern, and possible effects of climate change. *Plos One* 3 (7): 1-11.
- Azhari, D dan Tomaso, A.M. 2018. Kajian kualitas air dan pertumbuhan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang dibudidayakan dengan sistem akuaponik. *Jurnal Akuatika Indonesia* 3 (2): 84-90.
- Baroiller, J.F., Chourrout D., Fostier A., Jalabert B. 1995. Temperature and sex chromosomes govern sex ratios of the mouthbrooding cichlid fish *Oreochromis niloticus*. *Journal of Experimental Zoology* 273(3): 216-223
- Baroiller, J.F., D'Cotta, H., Saillant, E. 2009. Environmental effects on sex determination and differentiation. *Sex Dev* 3: 118- 135.
- Bozorgnia, A., A, Alimohammadi, M, Hosseiniard. 2011. Acute effects of different temperature in the blood parameters of common carp (*Cyprinus carpio*). Second International Conference on Environmental Science and Technology IPCBEE Vol 6. IACSIT Press, Singapore: V252-V255.
- Budd, A.M., Banh, Q.Q., Domingos, J.A., Jerry, D.R. 2015. Sex control in fish: approaches, challenges and opportunity for aquaculture. *Journal of Marine Science and Engineering* 3: 329-355.
- Damayanti, A.A., Sutresna, W., Wildan. 2013. Aplikasi madu untuk pengarahan jenis kelamin pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Depik* 2 (2): 82-86.
- El-Sayed, G.K., Ali, S.A., Mohamed, W.E. 2017. Effect of water temperature on masculinization and growth of nile tilapia fish. *Journal of Aquaculture* 8 (9): 2-5.
- FAO/GLOBEFISH, 2013. *GLOBEFISH highlights, a quarterly update on world seafood market 3/2013*. FAO, Rome. p. 61.
- Francis, N.O and Esa, Y.B. 2016. A review of production protocols used in producing economically viable monosex tilapia. *Journal of Fisheries and Aquatic Science* 11 (1): 1-11.
- Gabriel, N.N., Qiang, J., Kpundeh, M.D., Xu. P. 2015. Use of herbal for controlling reproduction in tilapia culture: trends and prospects-a Review. *The Israeli Journal of Aquaculture* 1178: 1-22.
- Heriyati, E. 2012. Sex reversal ikan nila menggunakan madu dan analisis ekspresi gen aromatase. Tesis. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Heriyati, E., Alimuddin., Arfah, H., Sudrajat, A.O. 2015. Ekspresi gen aromatase pada pengarahan diferensiasi kelamin ikan nila (*Oreochromis niloticus* Linnaeus 1758) menggunakan madu. *Jurnal Iktiologi Indonesia* 15 (1): 39-50.
- Mulyasih, D., Tarsim, Sarida, M. 2012. Penggunaan suhu dan dosis propolis yang berbeda terhadap nisbah kelamin ikan guppy (*Poecilia reticulata*). *Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan* 1 (1) : 25-30.
- Kambu, F., Trisyani, N., Yuniar, I. 2019. Pengaruh suhu dan konsentrasi propolis yang berbeda terhadap rasio jantan dan betina serta kelangsungan hidup ikan nila merah (*Oreochromis sp.*). *Fisheries Jurnal Perikanan dan Ilmu Kelautan* 1 (2): 73-79.
- Odara, S.S., Watung, J.C., Sinjal, H.J. 2015. Maskulinisasi larva ikan nila (*Oreochromis niloticus*) melalui penggunaan madu dengan konsentrasi berbeda. *Jurnal Budidaya Perairan* 3 (2): 1-6.
- Pantow, L.G.J., Suhaeni, S., Wassak, M. 2017. Analisis usaha budidaya ikan nila pada CV. Tiga Mas di Desa Talawaan Kecamatan Kabupaten Minahasa Utara. *Alkuturasi* 5 (9) : 541-548.
- Rakhmawati, E., Junior, MZ., Soelistiwati, DT. 2019. Penjantanian ikan sionodontis *Synodontis eupterus* Boulenger, 1901 pada stadia larva menggunakan ekstrak cabe jawa *Piper retrofractum* dan peningkatan suhu. *Jurnal Ikhtiologi Indonesia* 19 (2) : 259-269.
- Ravichandra, J.A. 2012. Influence of acute temperature stress on hemoglobin content in snakeheaded fish (*Channa punctatus*) Gavari River, Nanded, India. *Int. J. Biomed. Adv. Res* 3(11) :1-5.
- Rosmaidar, W.H.M. 2014. Peningkatan jumlah nila (*Oreochromis niloticus*) jantan melalui penggunaan hormon metiltestosteron alami. *Jurnal Medikal Veterinaria* 8 (2): 128-131.
- Sarida, M., Tarsim., Barades, E. 2010. Penggunaan madu dalam produksi ikan gapi jantan (*Poecilia reticulata*). *Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur* 831-836.
- Sayed, A.E.H and Moneeb, R.H. 2015. Hematological and biochemical characters of monosex tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758) cultivated using methyltestosterone. *The Journal of Basic & Applied Zoology* 72 (5): 36-42.
- Siregar, S., Syaifudin, M., Wijayanti, M. 2018. Maskulinisasi ikan cupang (*Betta splendens*) menggunakan madu alami melalui metode perendaman. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia* 6(2) : 141- 152.
- Soelistiyowati, D.T, Sudrajat, A.O., Arfah, H. 2010. Maskulinisasi pada ikan nila merah (*Oreochromis sp.*) menggunakan bahan alami resin lebah melalui pakan buatan. *Jurnal Akuakultur Indonesia* 9 (2): 178-183.

- Soesanti, S. 2015. Maskulinisasi larva ikan nila (*Oreochromis niloticus*) melalui penggunaan madu dengan konsentrasi berbeda. *Jurnal Budidaya Perairan* 3 (2): 1-6.
- Soltan, M., Hassaan, M.S., El-Nagaar, G.O., Mohammed, W.E. 2013. Effect of rearing temperature and hormone treatment on sex ratio, survival and body weight of *Oreochromis niloticus* fry. *Egypt. J. Biol & Fish* 17 (4): 13-23.
- Tessema, M., Muller-Belecke, A., Horstgen-Schwark, G. 2006. Effect of rearing temperatures on the sex ratios of *Oreochromis niloticus* populations. *Aquaculture* 258: 270-277.
- Tomasoa, A.M dan Azhari, D. 2019. Pemanfaatan tepung biji pepaya (*Carica papaya*) terhadap respons pertumbuhan dan tingkat kelangsungan hidup ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal MIPA UNSRAT*, 8 (3): 160-163.
- Vinarukwong, N., Lukkana, M., Ruangwises, S., Wongtavatchai, J. 2018. Residual levels of 17 $\alpha$ -Methyldihydrotestosterone in nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry following Feeding supplementation. *Cogent Food and Aquaculture* 4: 1-9.
- Wahyuningsih, H., Rachimi., Prasetio, E. 2018. Efektifitas madu lebah terhadap jantanisasi (maskulinisasi) dengan metode perendaman pada larva ikan nila merah (*Oreochromis sp.*). *Jurnal Ruaya* 6 (1) : 23-29
- Yaron, Z and Levavi-Zivan, B. 2011. Endocrine regulation of fish reproduction. In: Farrell A. P., (ed), *Encyclopedia of Fish Physiology: From Genom to Environment*v2: 1500-1508.