

LAPORAN AKHIR
PENELITIAN STRATEGIS NASIONAL INSTITUSI



**Percepatan Penyiapan Induk Ikan Lele (*Clarias sp*) Matang Gonad Dan Pengadaan Benih
Sekala Massal Melalui Teknologi Laserpunctur Dipadukan Dengan Teknologi Bioflok
Untuk Mendukung Program Industrialisasi Benih**

Penelitian ini Dibiayai oleh:
Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat
Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi, dan
Pendidikan Tinggi
Nomer: 041/SP2H/LT/K7/KM/2018 Tanggal 26 Februari 2018

Dr.Ir. Pungky Slamet Wisnu Kusuma.,MSi (Ketua Tim Peneliti)
NIDN. 0728075701
Dr. Ir. Dyah Hariani., MSi (Anggota Tim Peneliti)
NIDN. 0006035807

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS PGRI ADI BUANA SURABAYA
November, 2018

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Percepatan Penyiapan Induk Ikan Lele (*Clarias sp*) Matang Gonad Dan Pengadaan Benih Sekala Massal Melalui Teknologi Laserpunktur Dipadukan Teknologi Bioflok Untuk Mendukung Program Industrialisasi Benih

Peneliti/Pelaksana

Nama Lengkap : Dr. Ir PUNGKY SLAMET WISNU KUSUMA, M.Si
Perguruan Tinggi : Universitas PGRI Adi Buana
NIDN : 0728075701
Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
Program Studi : Biologi
Nomor HP : 085655085599
Alamat surel (e-mail) : slametswk@yahoo.com

Anggota (1)

Nama Lengkap : Dr. Ir DYAH HARIANI M.Si
NIDN : 0006035807
Perguruan Tinggi : Universitas Negeri Surabaya

Institusi Mitra (jika ada)

Nama Institusi Mitra : Unit Pelaksana Teknik Pelatihan Teknik Perikanan
: Budidaya dan Pengolahan Produk Kelautan dan Perikanan
(UPT PTPBP2KP)


Alamat : Jl. Trunojoyo No. 12 Kepanjen Malang
Penanggung Jawab : Dewi Nur Setyorini, S.Pi, M Ling
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 1 dari rencana 3 tahun
Biaya Tahun Berjalan : Rp 130,000,000
Biaya Keseluruhan : Rp 518,303,500

Mengetahui,
Dekan FMIPA



(Dra. Wara Pramesti, MSi)
NIP/NIK 8705185/DY

Kota Surabaya, 5 - 11 - 2018
Ketua,



(Dr. Ir PUNGKY SLAMET WISNU
KUSUMA, M.Si)
NIP/NIK 8505084/DY

Menyetujui,
Kepala LPPM



(Dr. Dra. Sukarjati, M.Kes)
NIP/NIK 196405261989032002

DAFTAR ISI

Halaman Sampul	i
Halaman Pengesahan	ii
DAFTAR ISI	iii
RINGKASAN	iv
Bab.1 PENDAHULUAN	1
Bab.2 TINJAUAN PUSTAKA	6
Bab.3 TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	11
Bab.4 METODE PENELITIAN	12
Bab.5 HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI	15
Bab.6 RENCANA TAHAP BERIKUTNYA	48
Bab.7 KESIMPULAN DAN SARAN	49
REFERENSI	50

RINGKASAN

Ikan lele merupakan salah satu komoditas perikanan memiliki prospek ekonomis serta peluang pasar cukup tinggi hingga saat ini. Akan tetapi permasalahan yang sering dihadapi para pembudidaya lele di sentra pembudidaya lele matang gonad untuk dipijahkan sedikit dan tidak serempak sehingga ketersediaan benih tidak kontinu hal ini dapat menghambat produktivitas ikan lele itu sendiri. Oleh karena itu perlu dilakukan pengembangan budidaya ikan lele secara lebih intensif melalui teknologi laserpunktur dipadukan dengan teknologi bioflok untuk mempercepat penyediaan induk ikan lele matang gonad siap dipijahkan guna memperoleh benih secara massal dan kontinu.

Penelitian Strategis Nasional institusi ini akan dibuktikan bahwa teknologi laserpunktur dipadukan dengan teknologi bioflok dapat mempercepat penyediaan induk ikan lele matang gonad siap dipijahkan guna pengadaan benih ikan lele secara massal dan kontinu akan segera tercapai. Untuk menunjang keberhasilan, keberlanjutan dan perkembangan budidaya ikan lele dimasyarakatkan, khususnya para pembudidaya ikan lele di sentra-sentra pembudidaya.

Tujuan khusus penelitian ini: ¹⁾ mempercepat penyediaan *induk* ikan lele matang gonad siap dipijahkan guna pengadaan benih berkualitas skala massal melalui pemanfaatan laserpunktur dipadukan teknologi bioflok, ²⁾ penerapan teknologi laserpunktur dipadukan teknologi bioflok untuk meningkatkan efisiensi pakan guna meminimalisir *cost production* dalam penyiapan induk ikan lele matang gonad siap dipijahkan untuk memproduksi benih skala massal berkualitas dan kontinu, ³⁾ aplikasi dan sosialisasi teknologi laserpunktur dipadukan teknologi bioflok dalam penyediaan induk ikan lele matang gonad siap dipijahkan guna produksi benih berkualitas skala massal dan alami ke UPR disekitar wilayah Malang melalui UPT PTPBP2KP Kepanjen Kabupaten Malang. Penelitian dilaksanakan secara bertahap selama 3 tahun mulai tahun 2018 hingga 2020.

Tahun pertama: Mempercepat penyediaan induk ikan lele matang gonad siap dipijahkan melalui pemanfaatan teknologi laserpunktur dipadukan teknologi bioflok. Metode eksperimen, parameter yang diukur pertumbuhan, kematangan gonad, fekunditas, keberhasilan pemijahan, kelangsungan hidup benih, FCR dan siklus reproduksi induk. Luaran kegiatan tahun pertama journal internasional, pemakalah pertemuan ilmiah nasional. Hasil penelitian tahun pertama menunjukkan bahwa pemberian pakan fermentasi dan induksi laserpunktur dapat mempercepat pematangan gonad induk lele betina dan jantan. Waktu pematangan gonad induk lele betina tercepat dicapai 31-41 hari sedang pada induk lele jantan dicapai 32-37 hari pada perlakuan pakan fermentasi dan di induksi laserpunktur. Pemberian pakan fermentasi dan induksi laserpunktur pada induk lele betina dan jantan sebelum induk dipijahkan terbukti dapat meningkatkan persentase FR, HR dan SR benih yang dihasilkan.

Tahun kedua: Penerapan teknologi laserpunktur dipadukan teknologi bioflok untuk meningkatkan efisiensi pakan (FCR) guna meminimalisir *cost production* dalam penyiapan induk ikan lele matang gonad siap dipijahkan. Metode eksperimen, parameter yang diukur SGR. Akhir penelitian tahun kedua menghasilkan berbagai keuntungan baik dari aspek produksi benih ikan lele maupun aspek ekonominya, penerapan teknologi tepat guna, pemakalah pertemuan ilmiah nasional dan HAKI sederhana.

Tahun ketiga: Aplikasi dan sosialisasi teknologi laserpunktur dipadukan teknologi bioflok dalam penyediaan induk ikan lele matang gonad siap dipijahkan guna memproduksi benih berkualitas skala massal dan alami dengan biaya murah. Metode pelatihan, akhir tahun ketiga produksi dan pendapatan masyarakat yang bergerak dalam pembesaran dan pembudidayaan ikan lele

meningkat. Selain itu imbas yang dapat dirasakan dengan menggunakan teknologi ini selain meningkatkan pendapatan juga menguatkan UPR yang telah ada atau bahkan dapat menumbuhkan UPR-UPR baru di lain desa.

Kata kunci: Laserpunktur, bioflok, matang gonad, rangsang pemijahan

BAB 1. PENDAHULUAN

Ikan lele merupakan salah satu komoditas perikanan yang memiliki prospek ekonomis serta peluang pasar cukup tinggi hingga saat ini. Potensi ikan lele sebagai ikan budidaya cukup besar, karena memiliki beberapa kelebihan yaitu mudah berkembang biak, pertumbuhan relatif cepat, kandungan protein cukup tinggi dan dapat dipelihara dengan kepadatan tebar tinggi. Konsumen ikan lele tidak terbatas pada masyarakat kelas menengah ke bawah saja, melainkan dari masyarakat menengah keatas juga menggemari makan ikan lele ini. Permintaan akan komoditas ikan lele ini terus meningkat. Oleh karena itu perlu dilakukan pengembangan budidaya ikan lele secara lebih intensif, terutama penyediaan induk siap dipijahkan untuk mendapatkan benih secara massal, kontinyu dan murah melalui usaha pembenihan yang tepat dan baik.

Penyediaan benih tidak terlepas dari ketersediaan stok induk (*broodstock*), baik jantan maupun betina. Ikan lele sudah saatnya mendapat perhatian untuk dibudidayakan secara lebih intensif. Mengingat permintaan pasar akan ikan lele ini terus meningkat, sementara di sisi ketersediaan induk matang gonad dan benih semakin menurun, sehingga perlu dicari alternatif pemecahannya, antara lain melalui usaha pembenihan dan budidaya ikan lele dengan menggunakan teknologi tepat guna agar ketersediaan induk dan benih ikan lele, terutama jumlah benih unggul, baik jumlah, ukuran dan kontinuitasnya dapat berlangsung terus menerus tanpa menggantungkan hasil suplai dari daerah lain. Teknologi tepat guna yang akan dilakukan dalam penelitian ini adalah pemanfaatan laserpunktur sebagai biostimulator dipadukan teknologi bioflok bertujuan untuk penyediaan induk ikan lele matang gonad siap dipijahkan agar penyediaan benih ikan lele secara massal dan kontinyu tercapai. Mengingat kebutuhan benih semakin meningkat terutama di sentra-sentra pembesaran lele, seperti di daerah Blitar, Tulung Agung, Nganjuk, Kampung Lele di Jateng maupun daerah-daerah lain.

Permasalahan utama dihadapi para pembenih lele di sentra-sentra pembenih lele cara budidayanya masih konvensional, lele yang telah memijah memerlukan waktu recovery untuk dapat memijah kembali \pm 3 bulan kemudian, dengan demikian ketersediaan benih di masyarakat terbatas dan tidak kontinyu, sehingga secara langsung maupun tidak langsung dapat menghambat produktivitas usaha budidaya ikan lele. Penerapan teknologi tepat guna untuk pengembangan usaha budidaya, khususnya pembenihan (*hatchery*) ikan lele belum tersebar di masyarakat, walaupun ada mungkin merupakan teknologi lama yang telah banyak digunakan. Oleh karena itu,

di dalam kegiatan penelitian strategis nasional intitusi ini akan disosialisasikan suatu teknologi tepat guna laserpunktur sebagai biostimulator dipadukan teknologi bioflok ini untuk mempercepat penyediaan induk ikan lele matang gonad siap dipijahkan guna pengadaan benih ikan lele secara massal dan kontinyu guna menunjang keberhasilan, keberlanjutan dan perkembangan budidaya ikan lele di masyarakat, khususnya para pembenih ikan lele di sentra-sentra pembenih. Penelitian dan penerapan teknologi tepat guna ini akan dilaksanakan di Kabupaten Malang tepatnya di Unit Pelaksana Teknik Pelatihan Teknis Perikanan Budidaya dan Pengolahan Produk Kelautan dan Perikanan (UPT PTPBP2KP) Kepanjen sebagai pilot proyek, dikarenakan pada UPT PTPBP2KP tersebut berperan dalam pelaksanaan bimbingan, pelatihan dan penyebaran informasi teknis perikanan budidaya dan pengolahan produk kelautan dan perikanan, sehingga UPT PTPBP2KP Kepanjen sangat layak untuk dijadikan pilot proyek dalam penelitian yang akan dilaksanakan ini. Disamping itu disekitar wilayah UPT PTPBP2KP diketahui banyak para pembudidaya yang memiliki beberapa keunggulan, seperti salah satu contohnya di Desa Maguan Kecamatan Ngajum Malang merupakan sentra-sentra pembenih dan pembesaran ikan lele yang memiliki keunggulan antara lain : ¹⁾ potensi perikanan khususnya budidaya ikan air tawar sangat besar, ²⁾ hampir semua penduduk memiliki mata pencaharian utama pertanian disamping usaha lainnya seperti budidaya ikan (khususnya ikan lele), ³⁾ potensi lahan budidaya sangat besar dengan luasnya areal atau kolam yang dimiliki masyarakat, ⁴⁾ tiap pembudidaya ikan rata-rata memiliki lebih dari empat (4) kolam budidaya ikan lele untuk pembenihan dengan minimal kepemilikan 8 sampai 15 kolam dengan ukuran kolam 3 X 4,3 m² sampai 5,3 X 7 m² , ⁵⁾ sumber air tawar tersedia sepanjang tahun, ⁶⁾ jumlah benih air yang ada masih sesuai untuk budidaya ikan (khususnya ikan lele), ⁷⁾ relatif tidak ada pencemaran terhadap jumlah benih air dari limbah pabrik yang membahayakan untuk budidaya ikan, ⁸⁾ potensi pemasaran ikan lele yang sangat luas hingga ke luar daerah bahkan ekspor ke luar Pulau Jawa (salah satunya Pulau Bali), ⁹⁾ pengetahuan masyarakat pembudidaya ikan relatif tinggi dan ¹⁰⁾ potensi minat serta keingintahuan masyarakat terhadap perkembangan ilmu budidaya ikan yang sangat tinggi.

Penelitian dan penerapan teknologi laserpunktur ini telah dilakukan di beberapa daerah, baik Jawa Timur maupun Jawa Tengah. Pemanfaatan teknologi laserpunktur ini telah berhasil dilakukan oleh (Kusuma, 2000) di daerah Pasuruan Jawa Timur dari hasil penelitiannya terbukti teknologi laserpunktur dapat mempercepat pematangan gonad dan memperpendek siklus

reproduksi ikan nila Gift, selain itu juga dilakukan penelitian di Kabupaten Demak Jawa Tengah (Kusuma dkk., 2006) dapat mempercepat pertumbuhan dan perkembangan telur kepiting bakau serta telah diterapkan di daerah Boyolali Jawa Tengah sebagai sentra budidaya ikan lele di Jawa Tengah yang terkenal dengan sebutan “Kampung Lele” hasil penelitian menunjukkan ikan lele dapat dipijahkan sepanjang tahun (Kusuma dkk., 2007). Tujuan yang diharapkan dari hasil penelitian yang telah diaplikasi di beberapa daerah dapat dijadikan sebagai dasar pengembangan lebih lanjut penelitian dan penerapan teknologi tepat guna untuk kawasan potensial pengembangan budidaya ikan, khususnya ikan lele sebagai produk unggulan di Kabupaten Malang, sehingga diharapkan nantinya dapat dijadikan sebagai rujukan bagi pengembangan ikan lele, khususnya yang bergerak disektor pembesaran dan pembenihan menjadi “Kampung Lele” di Kabupaten Malang.

Berdasarkan latar belakang penelitian yang ingin dicapai dalam penelitian strategis nasional institusi ini peneliti membagi menjadi tiga tahapan yaitu **tahun pertama** bertujuan mempercepat penyediaan induk ikan lele matang gonad siap dipijahkan guna pengadaan benih berjumlah benih skala masal melalui pemanfaatan teknologi laserpunktur dipadukan teknologi bioflok. Kegiatan penelitian skala pilot proyek ini dilaksanakan di UPT PTPBP2KP Kepanjen Malang UPT ini nantinya sebagai tempat pelaksanaan penelitian, bimbingan, pelatihan dan penyebaran informasi teknis budidaya perikanan. Diharapkan luaran kegiatan tahun pertama diperoleh induk ikan lele matang gonad siap dipijahkan, journal internasional dan pemakalah pertemuan ilmiah nasional. Hasil penelitian tahun pertama menunjukkan bahwa Pemberian pakan fermentasi dan induksi laserpunktur dapat mempercepat pematangan gonad induk lele betina dan jantan. Waktu pematangan gonad induk lele betina tercepat dicapai 31-41 hari sedang pada induk lele jantan dicapai 32-37 hari pada perlakuan pakan fermentasi dan di induksi laserpunktur. Pemberian pakan fermentasi dan induksi laserpunktur dapat meningkatkan jumlah benih yang dihasilkan dari pemijahan induk lele.

Tahun kedua bertujuan untuk penerapan teknologi laserpunktur dipadukan teknologi bioflok dan pakan fermentasi untuk meningkatkan efisiensi pakan guna meminimalisir *cost production* dalam menyiapkan induk ikan lele matang gonad sehat dan siap dipijahkan. Diharapkan penerapan penelitian tahun kedua ini mampu membantu memecahkan permasalahan di masyarakat khususnya pembudidaya ikan lele di UPR tentang besarnya biaya produksi akibat besarnya biaya pakan. Akhir dari kegiatan tahun ke dua ini secara nyata dapat menghasilkan berbagai

keuntungan baik dari aspek produksi maupun aspek ekonomi, journal internasional, seminar nasional dan HKI (paten sederhana).

Tahun ketiga bertujuan untuk mensosialisasi kemasyarakatan pembudidaya di seputar UPT PTPBP2KP Kepanjen Malang tentang aplikasi teknologi laserpunctur dipadukan teknologi bioflok dalam penyediaan induk ikan lele matang gonad siap dipijahkan guna memproduksi benih sekala massal dan alami. Akhir dari kegiatan tahun ke tiga peneliti bekerjasama dengan UPT PTPBP2KP Kepanjen Malang yang nantinya berperan sebagai tempat pelaksanaan bimbingan, pelatihan dan penyebaran informasi teknis budidaya perikanan di Kabupaten Malang banyak terkait dengan kecamatan-kecamatan tempat sentra perikanan dengan cara penyuluhan dan praktek dilapangan.

Secara keseluruhan kontribusi hasil penelitian tahun pertama sampai ketiga ini terhadap sektor lain dari segi iptek akan meningkatkan penguasaan iptek bagi masyarakat pengguna teknologi laserpunctur. Bagi peneliti akan digunakan sebagai bahan ajar mahasiswa terkait dengan mata kuliah struktur perkembangan hewan pada pokok bahasan rekayasa reproduksi ikan selain itu hasil penelitian ini sangat bermanfaat bagi mahasiswa untuk menunjang praktikum lapangan di masyarakat saat mahasiswa terjun di UPT milik pemerintah yang bergerak di bidang perikanan, selain itu hasil penelitian ini bermanfaat bagi peneliti untuk penulisan artikel journal nasional dan penyusunan materi buku ajar tentang teknologi tepat guna.

Tabel 1. Rencana Target Capaian Tahunan

No.	Jenis Luaran				Indikator Capaian		
	Kategori	Sub Kategori	Wajib	Tambahan	TS ¹	TS ²	TS ³
1	Artikel Ilmiah dimuat di jurnal ²⁾	Internasional bereputasi	ada	ada	draf	submitted	accepted
		Nasional terakkreditasi	tidak ada	tidak ada	tidak ada	tidak ada	tidak ada
2	Artikel Ilmiah dimuat di prosiding ³⁾	Internasional terindeks	tidak ada	tidak ada	tidak ada	tidak ada	tidak ada
		Nasional	tidak ada	tidak ada	tidak ada	tidak ada	tidak ada
3	<i>Invited speaker</i> dalam temu ilmiah ⁴⁾	Internasional terindeks	tidak ada	tidak ada	tidak ada	tidak ada	tidak ada
		Nasional	ada	ada	terdaftar	dilaksanakan	terdaftar
4	<i>Visiting Lecturer</i> ⁵⁾	Internasional	tidak ada	tidak ada	tidak ada	tidak ada	tidak ada
5	Hak Kekayaan Intelektual (HKI)	Patent	tidak ada	tidak ada	tidak ada	tidak ada	tidak ada
		Patent Sederhana	ada	ada	draf	draf	terdaftar
		Hak Cipta	tidak ada	tidak ada	tidak ada	tidak ada	tidak ada
		Merek dagang	tidak ada	tidak ada	tidak ada	tidak ada	tidak ada
		Rahasia dagang	tidak ada	tidak ada	tidak ada	tidak ada	tidak ada
		Desain Produk Industri	tidak ada	tidak ada	tidak ada	tidak ada	tidak ada
		Indikasi Geografis	tidak ada	tidak ada	tidak ada	tidak ada	tidak ada
		Perlindungan Varietas Tanaman	tidak ada	tidak ada	tidak ada	tidak ada	tidak ada
Perlindungan Topografi Sirkuit Terpadu	tidak ada	tidak ada	tidak ada	tidak ada	tidak ada	tidak ada	

6	Teknologi Tepat Guna ⁷⁾	ada	ada	penerapan	penerapan	penerapan
7	Model/Purwarupa/Desain/Karya Seni/Rekayasa Sosial ⁸⁾	tidak ada	tidak ada	tidak ada	tidak ada	tidak ada
8	Bahan Ajar ⁹⁾	ada	ada	draf	edit	terbit
9	Tingkat Kesiapan Teknologi (TKT) ¹⁰⁾	ada	ada	3	4	5

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA DAN STUDI PENDAHULUAN

Pemanfaatan teknologi laserpunktur telah berhasil dilakukan (Kusuma, 2002) di daerah Pasuruan Jawa Timur dari hasil penelitiannya menunjukkan jika induk ikan nila di induksi laserpunktur tepatnya pada 1/3 bagian ventral tubuh selama 6 detik terbukti dapat mempercepat tingkat kematangan gonad (TKG IV) induk ikan nila siap dipijahkan dan dapat memperpendek siklus reproduksinya. Selanjutnya hasil penelitian (Kusuma *et al.*, 2007) dicobakan pada ikan lele (*Clarias sp*) di induksi laserpunktur selama 15 detik tepatnya pada 2/3 bagian ventral tubuh dengan frekuensi sekali dalam seminggu memberi pengaruh optimal dalam waktu 15 hari dicapai tingkat kematangan gonad (TKG IV) induk siap dipijahkan, ternyata baik pada ikan nila ataupun ikan lele jika di induksi laserpunktur pada titik reproduksinya terbukti dapat memberikan pengaruh yang sama dapat mempercepat pematangan gonad dan memperpendek siklus reproduksinya. Dimana induksi laserpunktur pada titik reproduksi diyakini memberi pengaruh terhadap meningkatnya *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH) dikeluarkan hipotalamus. GnRH selanjutnya merangsang pelepasan hormon gonadotropin (GtH-I dan GtH-II) hipofisis (Rocha and Rocha, 2006) . GtH-I dan GtH-II akan bekerja pada sel teka pada gonad untuk menghasilkan testosteron (Nagahama, 1983). Testosteron masuk ke dalam lapisan granulosa dan diubah menjadi estradiol-17 β dengan bantuan enzim aromatase (Yaron, 1995). Estradiol-17 β berperan dalam biosintesis vitellogenin di hati. Di samping itu, estradiol-17 β dalam darah memberikan umpan balik terhadap hipotalamus menghasilkan GnRH untuk merangsang hipofisis melepaskan hormon gonadotropin (GtH-I dan GtH-II). Kontrol hormonal ini terus berjalan selama terjadinya proses vitellogenesis (Matty, 1985; Nagahama, 1983; Yaron, 1995).

Hasil penelitian dan penerapan teknologi laserpunktur ini telah diuji cobakan dan digunakan di beberapa daerah, baik Jawa Timur maupun Jawa Tengah. Contohnya yang telah dilakukan Kusuma (2000) di daerah Pasuruan Jawa Timur tepatnya di UPBAT Umbulan teknologi laserpunktur dicobakan pada ikan nila hitam varietas GIFT terbukti dapat mempercepat pematangan gonad dan memperpendek siklus reproduksi ikan nila Gift. Selain itu penerapan teknologi laserpunktur juga telah diterapkan di daerah Boyolali Jawa Tengah sebagai sentra budidaya ikan lele di Jawa Tengah yang dikenal dengan sebutan “Kampung Lele” (Kusuma dkk., 2007).

Teknologi laserpunktur telah diaplikasikan di beberapa daerah menarik untuk ditindak lanjuti dan diaplikasikan di daerah lain. Seperti yang akan dilakukan dalam penelitian ini adalah teknologi laserpunktur dipadukan teknologi bioflok merupakan teknologi tepat guna aplikatif dan sederhana cara mengoperasiannya nantinya apakah juga memberikan pengaruh yang sama dapat meningkatkan efisiensi pakan (FCR) guna meminimalisir *cost production* dalam penyiapan induk ikan lele matang gonad siap dipijahkan guna mempercepat penyediaan benih ikan lele secara massal dan kontinyu.

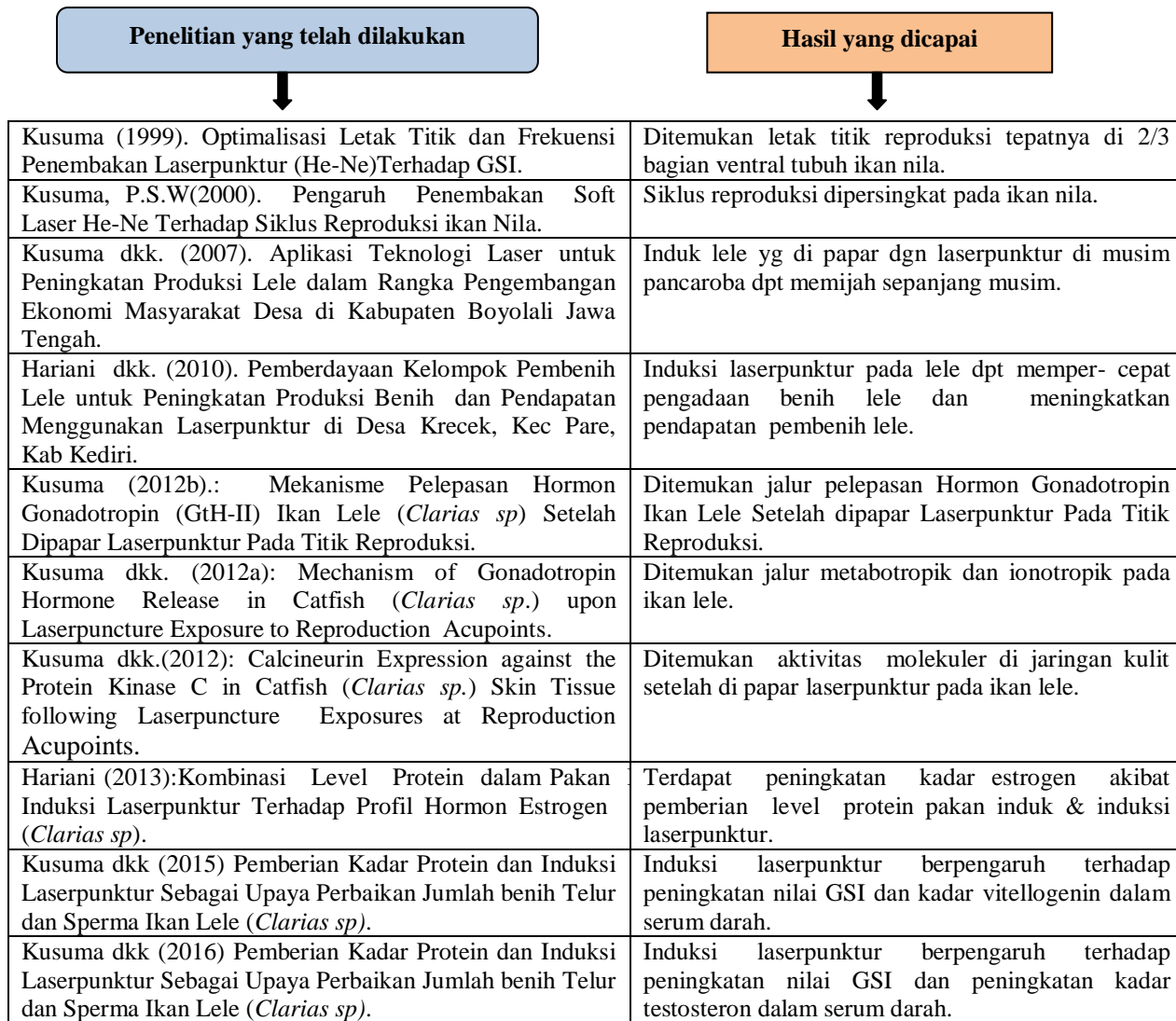
Teknologi laserpunktur ini selain mudah diaplikasikan di masyarakat khususnya yang bergerak dalam pembesaran dan pembenihan ikan lele dapat juga diaplikasikan pada industri perbenihan ikan seperti di *hatchery* terutama balai-balai benih ikan milik pemerintah, bahkan dapat dijadikan landasan bagi peningkatan jumlah benih benih komoditas ikan lainnya.

Proses dan produk teknologi selanjutnya akan ditransfer melalui kerjasama dengan UPT PTPBP2KP Kepanjen Malang ke masyarakat khususnya yang bergerak dalam pembesaran dan pembenihan ikan lele melalui pelatihan untuk mempercepat penyediaan induk ikan lele matang gonad siap dipijahkan guna untuk memproduksi benih berjumlah benih secara massal dan kontinyu.

Proses dan teknologi ini diharapkan dapat memperbaiki proses dan produksi benih ikan lele yang ada di masyarakat selama ini masih menggunakan metode tradisional dengan hasil produksi relatif rendah akan meningkat dengan teknologi laserpunktur dipadukan teknologi bioflok.

Studi Pendahuluan yang Telah Dilaksanakan dan Hasil yang Sudah Dicapai, Termasuk Bagan Alir Penelitian.

Penelitian yang terkait dengan induksi laserpunktur untuk pematangan gonad telah dilakukan dan hasil yang telah dicapai dapat di lihat pada Gambar 1 berikut ini.



Gambar 1. Studi pendahuluan yang telah dilaksanakan dan hasil yang telah dicapai.

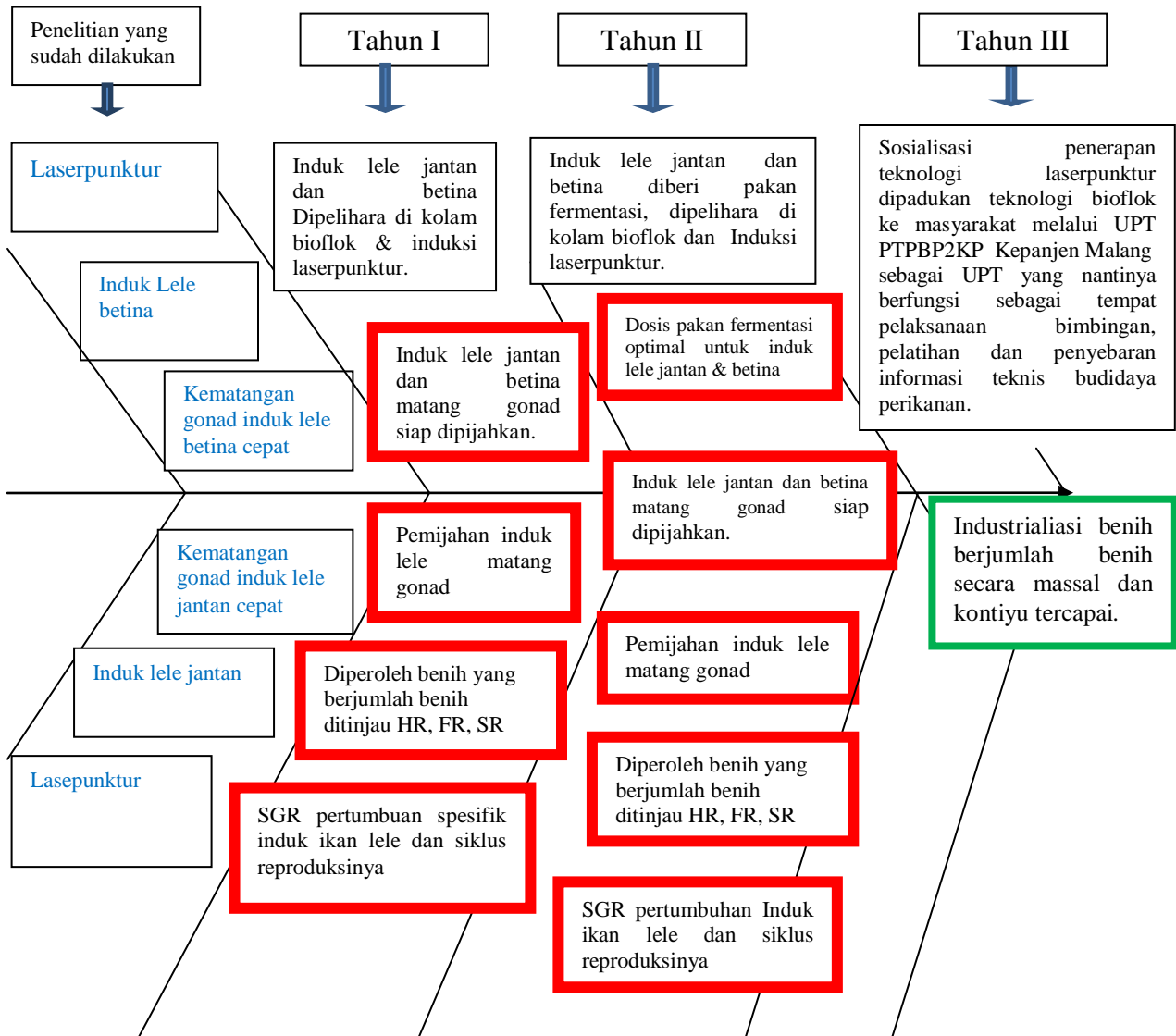
Kaitan hasil penelitian yang pernah dilaksanakan dengan proposal yang akan diajukan dengan judul: Percepatan Penyiapan Induk Ikan Lele (*Clarias sp*) Matang Gonad Dan Pengadaan Benih Sekala Massal Melalui Teknologi Laserpunktur Dipadukan Teknologi Bioflok Untuk Mendukung Program Industrialisasi Benih. Judul yang diajukan sangat terkait dengan hasil

penelitian yang telah dilakukan. Selain itu dalam penelitian ini juga akan diteliti tentang efisiensi pakan guna meminimalisir *cost production* dalam penyiapan induk ikan lele yang matang gonad sehat dan siap dipijahkan serta sosialisasi penerapan teknologi laserpunktur dipadukan teknologi bioflok ke masyarakat melalui UPT PTPBP2KP Kepanjen Malang sebagai UPT yang nantinya berfungsi sebagai tempat pelaksanaan bimbingan, pelatihan dan penyebaran informasi teknis perikanan budidaya perikanan di Jawa Timur yang memiliki potensi besar dalam pengembangan budidaya ikan, diutamakan yang bergerak si budidaya ikan lele, seperti Tulung Agung, Trenggalek dan Blitar dengan potensi lahan budidaya ikan air tawar sangat besar dan juga memiliki potensi pembenihan ikan lele sangat besar. Pada akhirnya hasil penelitian ini diharapkan akan berkembang teknologi laserpunktur dipadukan teknologi bioflok merupakan teknologi tepat guna aplikatif dan sederhana cara mengoperasiannya menjadi teknologi baru untuk memajukan potensi budidaya ikan lele khususnya yang bergerak dibidang pembesaran dan pembenihan serta dapat segera menyebar ke daerah yang lebih luas.

Selain itu diharapkan hasil penelitian ini mampu membantu memecahkan masalah di masyarakat khususnya pembudidaya ikan lele tentang besarnya biaya produksi akibat besarnya biaya pakan. Akhir dari aplikasi penerapan teknologi laserpunktur dipadukan dengan teknologi bioflok ini secara nyata dapat menghasilkan berbagai keuntungan baik dari aspek produksi maupun aspek ekonomi. Hasil penelitian akan melembaga dan berimbas secara langsung pada Universitas PGRI Adi Buana dengan demikian akhir dari kegiatan penelitian ini terjadi kolaborasi antara lembaga dan masyarakat yang bergerak dalam pembesaran dan pembenihan ikan lele yang akan membangun budaya ke arah karakter bangsa dimana inovasi teknologi laserpunktur berasal dari akademisi dan bermuara pada pihak masyarakat digunakan sebesar-besarnya digunakan kemanfaatannya bagi masyarakat Indonesia.

Kontribusi hasil penelitian ini dari segi iptek akan meningkatkan penguasaan iptek bagi masyarakat pengguna teknologi laserpunktur sedangkan bagi peneliti akan digunakan sebagai salah satu bahan ajar mahasiswa terkait dengan praktikum lapangan di masyarakat atau saat penerjuran mahasiswa di UPT milik pemerintah dan swasta yang bergerak di bidang perikanan, selain itu juga sangat bermanfaat bagi peneliti untuk bahan penulisan artikel dalam journal dan penyusunan buku tentang teknologi tepat guna.

Secara ringkas desain penelitian selama 3 tahun dapat dilihat pada bagan alir berikut :



Gambar 2. Bagan alir penelitian selama 3 tahun

Keterangan :

- Biru : sudah dilakukan
- Merah : akan dilakukan
- Hijau : hasil akhir

BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

Berdasarkan latar belakang penelitian yang ingin dicapai dalam penelitian strategis nasional institusi ini peneliti membagi menjadi tiga tahapan yaitu:

Tahun pertama bertujuan mempercepat penyediaan induk ikan lele matang gonad siap dipijahkan guna pengadaan benih berjumlah benih sekala masal melalui pemanfaatan teknologi laserpunktur dipadukan teknologi bioflok. Kegiatan penelitian skala pilot proyek ini dilaksanakan di UPT PTPBP2KP Kepanjen Malang UPT ini nantinya sebagai tempat pelaksanaan penelitian, bimbingan, pelatihan dan penyebaran informasi teknis budidaya perikanan. Diharapkan luaran kegiatan tahun pertama diperoleh induk ikan lele matang gonad siap dipijahkan, journal internasional dan pemakalah pertemuan ilmiah nasional.

Tahun kedua bertujuan untuk penerapan teknologi laserpunktur dipadukan teknologi bioflok dan pakan fermentasi untuk meningkatkan efesiensi pakan guna meminimalisir *cost production* dalam penyediaan induk ikan lele matang gonad sehat dan siap dipijahkan. Diharapkan penerapan penelitian tahun kedua ini mampu membantu memecahkan permasalahan di masyarakat khususnya pembudidaya ikan lele di UPR tentang besarnya biaya produksi akibat besarnya biaya pakan. Akhir dari kegiatan tahun ke dua ini secara nyata dapat menghasilkan berbagai keuntungan baik dari aspek produksi maupun aspek ekonomi, journal internasional, seminar nasional dan HKI (paten sederhana).

Tahun ketiga bertujuan untuk mensosialisasi kemasyarakatan pembenih di seputar UPT PTPBP2KP Kepanjen Malang tentang aplikasi teknologi laserpunktur dipadukan teknologi bioflok dalam penyediaan induk ikan lele matang gonad siap dipijahkan guna memproduksi benih sekala massal dan alami. Akhir dari kegiatan tahun ke tiga peneliti bekerjasama dengan UPT PTPBP2KP Kepanjen Malang yang nantinya berperan sebagai tempat pelaksanaan bimbingan, pelatihan dan penyebaran informasi teknis budidaya perikanan di Kabupaten Malang banyak terkait dengan kecamatan-kecamatan tempat sentra perikanan dengan cara penyuluhan dan praktek dilapangan.

BAB 4. METODE PENELITIAN

- a. Lokasi penelitian: UPT PTPBP2KP Kepanjen Malang sebagai tempat pilot projek yang nantinya berfungsi sebagai tempat pelaksanaan bimbingan, pelatihan dan penyebaran informasi teknis tentang budidaya perikanan.
- b. Teknik pengumpulan data

Penelitian tahun pertama metode eksperimen tentang pemberian pakan khusus untuk induk jantan dan betina dengan kandungan protein pakan 38% jenis pellet PF-128 produksi PT. Matahari Sakti Surabaya. Pakan diberikan sebanyak 5% dari bobot badannya diberikan dua kali sehari yaitu pukul 10.00 WIB dan pukul 16.00 WIB. Setelah itu induk lele baik jantan maupun betina diinduksi laserpunter pada titik reproduksi tepatnya di 2/3 bagian ventral tubuh selama 15 detik. Selanjutnya induk lele jantan dan betina setelah diinduksi laserpunter dipelihara dalam kolam bioflok yang terpisah guna mempersiapkan induk matang gonad. Induk yang matang gonad dipijahkan untuk menghasilkan benih berjumlah benih. Parameter yang diukur adalah jumlah benih ditinjau dari tingkat keberhasilan pemijahan induk (FR), derajat penetasan telur yang dibuahi (HR), kelangsungan hidup benih sampai umur 3 bulan (SR).

Fertilization rate (FR)

Jumlah telur pada kakaban sampling yang dibuahi dari hasil pemijahan induk lele jantan dengan betina dihitung secara manual kemudian hasilnya dibandingkan dengan jumlah total telur yang ada di kakaban sampling. Derajat pembuahan merupakan persentase telur dibuahi dari telur yang diovulasikan. Pengamatan terhadap kondisi telur dilakukan 8 jam setelah pemijahan. Telur yang dibuahi berwarna kuning kehijauan, sedangkan telur yang tidak dibuahi berwarna putih keruh. Derajat pembuahan telur tergantung pada jumlah benih telur dan jumlah benih maupun kuantitas sperma yang dihasilkan oleh induk jantan. Derajat pembuahan telur dihitung dengan menggunakan rumus seperti berikut :

$$FR (\%) = \frac{\text{Jumlah telur yang dibuahi}}{\text{Jumlah telur awal}} \times 100 \text{ (Adebayo, 2006).}$$

Hatching Rate (HR)

Derajat penetasan adalah persentase jumlah telur pada kakaban sampling yang menetas dari jumlah telur total yang dibuahi pada pemijahan induk lele jantan dengan betina. Pengamatan telur yang menetas dilakukan dengan menghitung secara manual mulai dari 3 hari setelah pemijahan sampai tidak terdapat lagi telur yang menetas. Telur yang menetas ditandai adanya

gerakan telur yang memutar didasar akuarium, sedangkan telur yang tidak menetas berwarna kuning keruh tetap menempel pada kakaban sampling. Derajat penetasan telur dihitung dengan menggunakan rumus seperti berikut:

$$HR (\%) = \frac{a}{a+b+c} \times 100 \text{ (Adebayo, 2006).}$$

Keterangan :

a = Jumlah telur menetas normal

b = Jumlah telur menetas cacat

c = Jumlah telur tidak menetas

Survival Rate (SR)

Tingkat kelangsungan hidup benih hasil pemijahan induk lele jantan dengan betina. Diukur dengan menghitung jumlah benih pada akhir pemeliharaan dibandingkan dengan jumlah benih pada saat 9 hari setelah awal penebaran benih. Penghitungan tingkat kelangsungan hidup benih dihitung menggunakan rumus berikut:

$$SR (\%) = \frac{Nt}{No} \times 100 \text{ (Adebayo, 2006)}$$

Keterangan :

SR : Tingkat kelangsungan hidup ikan

Nt : Jumlah ikan pada akhir pemeliharaan

No : Jumlah ikan pada awal penebaran

Penelitian tahun kedua metode eksperimen tentang pemberian pakan fermentasi, bioflok dan penerapan teknologi laserpunktur untuk meningkatkan efisiensi pakan guna meminimalisir *cost production* dalam penyiapan induk lele matang gonad sehat dan siap dipijahkan. Diharapkan mampu membantu memecahkan masalah di masyarakat khususnya pembudidaya ikan lele di UPR tentang besarnya biaya produksi akibat besarnya biaya pakan. Akhir dari penelitian tahun ke dua ini secara nyata dapat menghasilkan berbagai keuntungan baik dari aspek produksi maupun aspek ekonomi. Parameter efisiensi pakan dapat diukur dari Laju pertumbuhan spesifik (*specific growth rate*, SGR). Pertumbuhan berat ikan diukur tiap 10 hari sekali untuk mengetahui pengaruh pemberian pakan fermentasi, bioflok dan penerapan teknologi laserpunktur terhadap peningkatkan pertumbuhan ikan lele. Laju pertumbuhan spesifik ikan lele dihitung dengan menggunakan rumus :

$$SGR (\%) = \frac{\ln Wt - \ln Wo}{t} \times 100 \quad \text{(Verdegem. M dan Eding. E, 2010)}$$

Keterangan :

SGR = *Specific Growth Rate* (Laju pertumbuhan spesifik, %/hari)
Wt = *Final Body Weight* (Rata-rata bobot ikan uji akhir penelitian, g)
Wo = *Initial Body Weight* (Rata-rata bobot ikan uji awal penelitian, g)
t = *Time* (Lama pemeliharaan, hari)

Penelitian tahun ketiga sosialisasi aplikasi teknologi laserpunktur dipadukan teknologi bioflok untuk penyediaan induk ikan lele matang gonad siap dipijahkan guna memproduksi benih sekala massal dan alami. Sosialisasi ini peneliti bekerjasama dengan UPT PTPBP2KP Kepanjen Malang nantinya berperan sebagai tempat pelaksanaan bimbingan, pelatihan dan penyebaran informasi teknis perikanan budidaya perikanan di Kabupaten Malang yang banyak terkait dengan kecamatan-kecamatan tempat sentra perikanan di Kabupaten Malang dengan cara penyuluhan dan praktek dilapangan. Parameter untuk mengetahui tingkat keberhasilan bimbingan, pelatihan dan penyuluhan pada masyarakat pembudidaya ikan lele diukur secara diskriptif.

Analisa Data

Untuk mengetahui optimalisasi FR, HR, SR dan SGR pada hasil pemijahan induk jantan dan betina antara kontrol dan perlakuan induksi laserpunktur dipadukan dengan pakan fermentasi dalam penyediaan induk ikan lele matang gonad siap dipijahkan guna memproduksi benih sekala massal dan alami pada penelitian tahun pertama dan kedua digunakan ANAVA. Apabila hasilnya signifikan maka dilanjutkan dengan Uji Beda Duncan. Sedangkan hasil penelitian untuk tahun ketiga digunakan analisa diskriptif.

BAB V. HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI

1. Pengaruh pakan fermentasi dan induksi laserpunktur terhadap kecepatan waktu pematangan gonad induk jantan dan betina

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian pakan fermentasi sebelum induk dipijahkan terbukti berpengaruh signifikan ($P < 0.05$) terhadap waktu pematangan gonad pada induk betina maupun jantan pada kelompok yang diinduksi laserpunktur lebih cepat dibandingkan tanpa diinduksi laserpunktur seperti ditunjukkan pada tabel 1 dan 2 berikut dibawah ini :

Tabel 1. Rata-rata Waktu Pematangan Gonad Induk Betina Antara yang Diberikan Pakan Fermentasi dan di Induksi Laserpunktur serta Tanpa di Induksi Laserpunktur

Perlakuan	Dosis (ml)	Waktu (hari)
Pakan Fermentasi	0	$62,00 \pm 7,07^a$
	5	$46,43 \pm 2,51^b$
	10	$45,00 \pm 3,37^b$
Pakan Fermentasi dan Induksi Laserpunktur	0	$61,71 \pm 5,88^a$
	5	$36,86 \pm 3,85^c$
	10	$36,29 \pm 5,12^c$

Nilai pada kolom diikuti oleh superskrip berbeda menunjukkan berbeda signifikan ($P < 0,05$).

Tabel 2. Rata-rata Waktu Pematangan Gonad Induk Jantan Antara yang Diberikan Pakan Fermentasi dan di Induksi Laserpunktur serta Tanpa di Induksi Laserpunktur

Perlakuan	Dosis (ml)	Waktu (hari)
Pakan Fermentasi	0	$63,29 \pm 7,11^a$
	5	$48,00 \pm 2,77^b$
	10	$45,00 \pm 3,83^b$
Pakan Fermentasi dan Induksi Laserpunktur	0	$61,86 \pm 5,76^a$
	5	$36,57 \pm 2,64^c$
	10	$34,71 \pm 2,81^c$

Nilai pada kolom diikuti oleh superskrip berbeda menunjukkan berbeda signifikan ($P < 0,05$).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa induk lele betina dan induk lele jantan yang diberikan penambahan probiotik 5 ml dalam pakan fermentasi memberi pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) yaitu dapat mempercepat waktu pematangan gonad induk betina maupun jantan ikan lele

sebelum induk dipijahkan. Hal ini dimungkinkan karena pemberian pakan fermentasi dapat meningkatkan nutrisi pakan karena peran bakteri yang terdapat dalam probiotik memiliki kemampuan untuk menghasilkan beberapa enzim pencernaan seperti: amylase, protease, lipase dan selulose. Enzim-enzim ini sangat membantu dalam menghidrolisis karbohidrat, protein dan lemak dalam nutrisi pakan menjadi molekul yang lebih sederhana, sehingga dapat mempermudah proses pencernaan dan penyerapan dalam saluran pencernaan ikan, selain itu beberapa studi menunjukkan bahwa bakteri yang ada dalam probiotik dapat meningkatkan nilai gizi dengan mensintesis nutrisi penting seperti (vitamin, protein dan asam lemak esensial) dan enzim (amilase, protease dan lipase) (Irianto dan Austin, 2002; Ghosh *et al*, 2008 dan Putra, 2010).

Dari hasil analisis kandungan nutrisi dalam pakan fermentasi ditemukan ada beberapa jenis asam amino non esensial seperti alanine, asparagine, aspartate, glutamate, glycine, serine, tyrosine. Dimana lah satu skandungan asam amino glutamate berperan sebagai transmitter mayor di otak, berfungsi sebagai mediator untuk menyampaikan transmisi post sinaptik. Selain itu juga glutamat juga berfungsi sebagai prekursor neurotransmitter *Gamma Ammino Butiric Acid* (GABA). GABA akan merangsang pelepasan hormon gonadotropin (GnRH) dari hipotalamus. Selanjutnya GnRH ini akan merangsang hipofisis untuk merangsang pelepasan hormon gonadotropin FSH dan LH (GtH-I dan GtH-II).

Pelepasan GtH-I berperan merangsang gonad untuk menghasilkan hormon steroid seperti estrogen. Estrogen yang dihasilkan oleh sel granulosa dari folikel ovarium selanjutnya dibawa aliran darah menuju sel hepar akan berpengaruh merangsang proses vitellogenesis untuk memproduksi vitelogenin. Selanjutnya vitelogenin ini dibawa oleh aliran darah menuju oosit sedang berkembang untuk diabsorpsi dan diakumulasikan dan akibatnya oosit akan menjadi besar dan matang. Shafei Sabet *et al.*, 2009 dan Taghizadeh *et al.*, 2013 menyatakan bahwa perubahan kadar estrogen erat hubungannya dengan perkembangan oosit. Pelepasan GtH-II berperan merangsang pematangan akhir gonad, ovulasi dan pemijahan ikan lele betina.

Ditegaskan oleh Arukwe dan Goksøyr, 2003 bahwa proses sintesis prekursor protein yolk adalah vitelogenin akibat rangsangan dari estradiol-17 β . Vitelogenin disekresikan hepar dan dibawa melalui aliran darah menuju ke ovarium untuk diabsorpsi oosit yang sedang berkembang. Perkembangan oosit menjadi besar dan matang ini ditandai dengan meningkatnya nilai *Hepato Somatic Indeks* (HIS) dan *Gonado Somatic Indeks* (GSI) (Cerda *et al.*, 2007).

Selanjutnya Araoye, 2001; Laleye *et al.*, 2006 dan Shinkafi *et al.*, 2012 menyatakan nilai HIS dan GSI mencapai maksimum sebelum pemijahan dan selanjutnya menurun setelah ikan memijah.

Pematangan oosit pada kelompok ikan bertulang keras dirangsang oleh adanya pelepasan luteinizing hormone (LH) atau GtH-II dari hipofisis. GtH-II berperan mentrigger sel granulosa melepaskan *Maturation Inducing Hormone* (MIH). MIH berperan mengaktifkan MPF dengan fosforilasi-amino sehingga oosit mengalami pematangan akhir. MIH mengaktifkan sitoplasma pematangan mempromosikan faktor (MPF), yang terdiri dari dua subunit: cyclin B (subunit regulasi) dan cdc2 (catalytic subunit). Pada ikan zebra, MIH merangsang sintesis de novo dari cyclin B. Cyclin B mengikat cdc2 untuk membentuk MPF. MPF yang baru dibentuk selanjutnya diaktifkan oleh fosforilasi cdc2. Aktifnya MPF ini kemudian merangsang semua perubahan yang berhubungan dengan pematangan oosit, seperti *Germinal Vesikel Breakdown* (GVBD), pembentukan spindle, kondensasi kromosom dan memungkinkan transisi dari G2/M fase meiosis.

Nutrisi induk merupakan salah satu hal yang paling banyak diteliti disebabkan mekanisme biologis, seperti pematangan gonad merupakan proses yang sangat kompleks (Izquierdo *et al.*, 2001). Perkembangan gonad dan fekunditas dipengaruhi oleh beberapa nutrisi, terutama berhubungan dengan pemijahan ikan yang berlangsung dengan periode vitelogenesis singkat (Izquierdo *et al.*, 2001). Pengaruh kualitas pakan yang diberikan pada ikan penting dalam pematangan gonad ikan dan perkembangan telur. Protein dan lipid merupakan komponen utama dari kuning telur, bertindak sebagai sumber nutrisi yang digunakan selama biosintesis embriogenesis ikan (Izquierdo *et al.*, 2001), dan memungkinkan kelangsungan hidup yang lebih besar dari embrio dan larva (Izquierdo *et al.*, 2001). Menurut Brooks *et al.*, 1997 protein yang terdapat didalam telur ikan, seperti lipoprotein, hormon, dan enzim, menentukan kualitas telur akibatnya akan menentukan produksi benih dalam skala besar.

Menurut para penulis ini, meskipun upaya besar yang telah diarahkan untuk mengungkap pentingnya komponen pakan yang menentukan kualitas telur, terbukti bahwa mutu pakan secara langsung dapat mempengaruhi kualitas telur informasinya sangat terbatas. Secara umum, status nutrisi pakan pada ikan betina dapat mempengaruhi perkembangan gonad dan membatasi jumlah dan kualitas telur yang dihasilkan (Coldebella *et al.*, 2011) menyatakan bahwa level protein pakan induk mempengaruhi kelangsungan hidup larva, dengan tingkat kadar protein pakan yang

sangat rendah (10-20%) dapat menghasilkan tingkat fertilisasi telur yang rendah dan persentase abnormal larva yang lebih besar. Hasil penelitian (Coldebella *et al.*, 2011) menunjukkan bahwa peningkatan kadar protein 28%, 34%, 40% dalam formula ransum pakan dapat meningkatkan fertilisasi telur dan persentase larva normal yang lebih besar.

2. Jumlah benih lele yang dihasilkan antara kelompok yang diberikan pakan fermentasi dan di Induksi Laserpunktur serta tanpa di Induksi laserpunktur

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian pakan fermentasi sebelum induk dipijahkan terbukti berpengaruh signifikan ($P < 0.05$) terhadap jumlah benih yang dihasilkan setelah induk lele dipijahkan antara kelompok yang diinduksi laserpunktur jumlah benih yang dihasilkan lebih tinggi dibandingkan tanpa diinduksi laserpunktur seperti ditunjukkan pada tabel 3 berikut dibawah ini :

Tabel 3. Jumlah Benih Antara Kelompok yang Diberikan Pakan Fermentasi dan di Induksi Laserpunktur dan Tanpa di Induksi Laserpunktur.

Perlakuan	Ukuran Benih (cm)	Jumlah Benih
Kontrol	1 - 2	7214,28 ± 3967,13 ^e
	2,1 - 3	18285,71 ± 7674,94 ^d
Pakan Fermentasi	1 - 2	32964,29 ± 13807,03 ^b
	2,1 - 3	29271,43 ± 9550,04 ^{bc}
Pakan Fermentasi dan Induksi Laserpunktur	1 - 2	23557,14 ± 3899,08 ^{cd}
	2,1 - 3	62268,57 ± 4926,01 ^a

Nilai pada kolom diikuti oleh superskrip berbeda menunjukkan berbeda signifikan ($P < 0,05$).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa induk lele betina dan induk lele jantan yang diberikan pakan fermentasi yang diinduksi laserpunktur berpengaruh signifikan ($P < 0.05$) terhadap jumlah benih yang dihasilkan dibandingkan tanpa diinduksi laserpunktur sebelum induk dipijahkan. Hal ini dimungkinkan karena pemberian pakan fermentasi pada induk lele betina maupun induk lele jantan sebelum induk dipijahkan dapat meningkatkan jumlah telur matang dan sperma fertil yang dihasilkan induk lele.

Pemberian pakan fermentasi pada induk lele betina dan induk lele jantan sebelum induk dipijahkan dapat memeningkat kadar vitelogenin dalam serum darah serta meningkatkan jumlah sperma fertil yang dihasilkan sehingga apabila induk-induk dipijahka dapat meningkatkan jumlah telur yang terfertilisasi, telur yang terfertilisasi selanjutnya menetas dan larva yang

dihasilkan mampu bertahan hidup sampai hari kelima dengan nilai rata-rata larva yang dihasilkan pada kelompok yang diinduksi laserpunktur di atas 90%. Hal ini membuktikan pemberian pakan fermentasi optimal untuk pertumbuhan, perkembangan serta tahapan oogenesis dan spermatogenesis pada induk lele betina maupun induk lele jantan sebelum induk dipijahkan.

Tinggi rendahnya jumlah benih yang dihasilkan dari pemijahan ini sangat dipengaruhi oleh kandungan protein dalam kuning telur karena protein dalam telur berperan penting selama proses embriogenesis. Keberadaan protein dalam telur sangat menentukan keberhasilan fertilisasi selain itu keberhasilan fertilisasi harus didukung oleh kualitas sperma yang baik karena sangat menentukan kualitas penetasan selain itu juga berperan untuk perkembangan larva sampai hari ke-5. Hal ini membuktikan bahwa pemberian pakan fermentasi akan berpengaruh terhadap protein dalam telur yang selanjutnya menentukan pada jumlah telur yang dihasilkan pada induk sebelum dipijahkan.

Jumlah benih yang dihasilkan dari pemijahan induk lele betina dan induk lele jantan baik yang induksi laserpunktur maupun tanpa diinduksi laserpunktur sangat dipengaruhi oleh ukuran diameter telur. Ukuran diameter telur yang besar terbukti akan menghasilkan larva berukuran besar dan tahan terhadap perubahan lingkungan bila dibandingkan dengan telur yang berdiameter kecil akan menghasilkan larva berukuran kecil. Hubungan positif antara ukuran larva dan ukuran telur telah dilaporkan oleh Kjorsvik *et al.* 2003; Giménez *et al.* 2006 menyatakan bahwa telur yang berukuran besar menghasilkan persentase kelangsungan hidup *Survival Rate* (SR) yang lebih tinggi, larva yang dihasilkan sehat ditandai dengan pertumbuhannya cepat dan ketahanannya tinggi terhadap perubahan lingkungan.

Hal ini dimungkinkan karena induk sebelum dipijahkan diberikan pakan dengan pakan fermentasi dan diinduksi laserpunktur terbukti akan mempercepat proses sintesis vitelogenin dan absorpsi vitelogenin serta mengakumulasi dalam oosit. Akumulasi vitelogenin dalam oosit ini ditandai dengan pertumbuhan dan perkembangan oosit memasuki tahap akhir vitelogenik. Tahap akhir vitelogenik dapat terjadi akibat inisiasi saat pemasakan oosit yang dipengaruhi oleh pemberian protein pakan induk dan keberadaan hormon GtH-II, MIH dan MPF akan meningkat lebih cepat agar terjadi GVBD. Kondisi inilah yang memungkinkan bila induk segera dipasangkan maka induk akan segera mijahkan, telur yang fertilisasi banyak, telur banyak yang menetas dan perkembangan larva menjadi benih berjalan cepat.

Diduga aktivitas fisiologi didalam tubuh induk betina dan induk jantan ini setelah diberikan pakan dengan pakan fermentasi proses fisiologi dipercepat. Hal ini terbukti jika ikan lele betina maupun induk jantan sebelum dipijahkan setelah diinduksi laserpunktur akan meningkatkan aktivitas seluler dan aktivitas seluler ini sangat membutuhkan asupan energi yang berasal dari protein pakan induk. Di samping itu tidak menutup kemungkinan bahwa faktor lingkungan seperti suhu juga sangat menentukan dalam keberhasilan dalam proses pemijahan, karena suhu lingkungan antara 26⁰C-30⁰C adalah optimal dan ideal untuk pertumbuhan dan perkembangan larva menjadi lebih cepat, demikian juga laju metabolisme dalam tubuh ikan meningkat. Hasil penelitian ini didukung oleh (Soetomo, 2000, Khairuman dan Amri, 2002, Yustina dan Darmawati, 2003) menyatakan bahwa keberhasilan penetasan telur ikan ada kaitannya dengan kondisi lingkungan seperti suhu. Suhu optimal untuk inkubasi adalah 26⁰C-30⁰C. Pada suhu tersebut absorpsi protein dalam telur berakhir 3 hari setelah telur menetas ditunjukkan dengan adanya perubahan larva menjadi benih.

Kemampuan hidup larva sangat tergantung pada komposisi biokimia telur, hal ini dapat menggambarkan bahwa kebutuhan embryo terhadap nutrisi terkait dengan pertumbuhan dan perkembangan larva. Demikian juga komposisi biokimia telur ini merupakan komponen esensial untuk kehidupan organisme. Oleh karena itu, komponen biokimia telur merupakan salah satu parameter jumlah benih telur yang dapat digunakan untuk mengevaluasi jumlah benih telur sebelum fertilisasi. Diketahui bahwa komponen biokimia telur merupakan faktor penting yang diperlukan selama perkembangan telur. Komponen biokimia telur ini selanjutnya akan digunakan secara langsung untuk sintesis jaringan embrionik dan untuk energi metabolisme tubuh ikan.

Hasil penelitian secara keseluruhan dapat mengungkapkan bahwa pemberian pakan fermentasi pada induk lele betina maupun induk lele jantan dan di induksi laserpunktur sebelum induk dipijahkan terbukti dapat meningkatkan jumlah benih yang dihasilkan lebih tinggi dibandingkan kelompok tanpa di induksi laserpunktur. Hasil rata-rata jumlah benih ukuran 2,1-3cm kelompok kontrol sebesar (918285,71±7674,94), kelompok pakan fermentasi sebesar (29271,43±9550,04) dan kelompok yang diberikan pakan fermentasi dan di induksi laserpunktur sebesar (62268,57 ± 4926,01). Hal ini menunjukkan bahwa untuk menyiapkan induk lele yang akan dipijahkan agar cepat matang gonad dan menghasilkan benih, maka induk perlu diberikan pakan fermentasi dan di induksi laserpunktur.

3. Kualitas benih yang dihasilkan dari pemijahan induk lele betina dan jantan kelompok yang diberikan pakan fermentasi dan diinduksi laserpunktur dan tanpa diinduksi laserpunktur berdasarkan persentase *Fertilization Rate* (FR), *Hatching Rate*(HR) dan *Survival Rate*(SR).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kualitas benih hasil pemijahan induk lele betina dan jantan yang diberikan pakan kontrol, fermentasi, fermentasi dan di induksi laserpunktur dan tanpa di induksi laserpunktur berdasarkan persentase *Fertilization Rate* (FR), *Hatching Rate* (HR) dan *Survival Rate* (SR) menunjukkan ada pengaruh signifikan ($P < 0.05$) dibandingkan pakan fermentasi dan kontrol seperti ditunjukkan pada tabel 4 berikut dibawah ini :

Tabel 4. Persentase Rataan FR, HR dan SR Antara Kelompok yang diberikan pakan kontrol, fermentasi, fermentasi dan di iinduksi laserpunktur dan tanpa induksi laserpunktur.

Perlakuan	FR	HR	SR
Kontrol	81.39 ± 4.694 _c	80.85 ± 4.591 _c	80.39 ± 4.497 _c
Pakan Fermentasi	86.48 ± 2.248 _b	85.99 ± 2.375 _b	85.38 ± 2.516 _b
Pakan Fermentasi & Laserpunktur	88.55 ± 2.096 _a	97.41 ± 2.090 _a	97.37 ± 2.075 _a

Pemberian pakan fermentasi dan di induksi laserpunktur pada induk lele betina dan induk lele jantan sebelum induk dipijahkan dapat memeningkat kadar vitelogenin dalam serum darah serta meningkatkan kualitas sperma yang dihasilkan sehingga apabila induk-induk dipijahkan akan dapat meningkatkan kualitas telur yang terfertilisasi, telur yang terfertilisasi selanjutnya menetas dan larva yang dihasilkan mampu bertahan hidup sampai hari kelima dengan nilai rataan larva yang dihasilkan pada kelompok yang diberikan pakan fermentasi dan di induksi laserpunktur yang dinduksi laserpunktur SR yang diperoleh di atas 90%. Hal ini membuktikan pemberian pakan pakan fermentasi dan di induksi laserpunktur optimal untuk pertumbuhan, perkembangan serata tahapan oogenesis dan spermatogenesis baik pada induk lele betina maupun induk lele jantan sebelum induk dipijahkan.

Kualitas benih yang dihasilkan dari pemijahan induk lele betina dengan ikan lele jantan ini merupakan refleksi dari kuning telur (yolk) yang sangat dipengaruhi oleh nutrisi dalam pakan induk lele sebelum induk dipijahkan. Nutrisi khususnya protein dalam pakan induk lele dalam pemeliharaan sebelum induk dipijahkan adalah merupakan faktor penting yang dapat mempengaruhi kualitas benih yang dihasilkan karena protein pakan akan digunakan sebagai bahan dasar untuk sintesis hormon dan sintesis vitelogenin pada induk betina maupun

spermatogenesis pada induk jantan.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian pakan fermentasi dan di induksi laserpunktur sebelum induk lele dipijahkan terbukti dapat mempercepat sintesis vitelogenin di hepar pada induk lele betina dan spermatogenesis dalam testis pada induk lele jantan. Vitelogenin selanjutnya akan digunakan sebagai bahan dasar pembentukan protein telur pada induk lele betina serta merangsang sel sertoli untuk mensintesis ABP (*Androgen Binding Protein*) pada induk lele jantan. ABP yang diproduksi oleh sel sertoli nantinya akan berperan untuk spermatogenesis dalam pembentukan spermatozoa.

Hasil penelitian ini didukung oleh hasil penelitian Kapateh (2009) yang menyatakan bahwa protein dalam pakan berperan dalam pembentukan protein kuning telur dan spermatogenesis pada ikan nila. Dengan demikian, maka ketersediaan nutrisi terutama protein dalam pakan untuk induk lele betina yang akan dipijahkan menjadi penting karena protein dalam pakan akan digunakan dalam vitelogenesis untuk sintesis vitellogenin di sel hepasosit hepar. Selanjutnya vitellogenin akan diubah menjadi protein kuning telur. Protein kuning telur yang banyak didalam oosit ini penting untuk menghasilkan telur berkualitas. Karena protein kuning telur yang dihasilkan banyak maka diharapkan telur yang terfertilisasi juga banyak, sehingga persentase FR yang dihasilkan tinggi dengan persentase HR yang tinggi pula apabila kondisi lingkungan untuk penetasan telur juga mendukung.

Hal ini membuktikan bahwa induk lele betina dan jantan yang diberikan pakan fermentasi dan diinduksi laserpunktur terbukti dapat meningkatkan kualitas protein kuning telur dan spermatozoa yang selanjutnya protein akan digunakan untuk proses fertilisasi, telur yang terfertilisasi ini selanjutnya akan menetas menjadi larva dan larva yang dihasilkan banyak. Hal ini dimungkinkan karena kualitas protein pakan yang diberikan pada induk yang akan dipijahkan telah memenuhi standart untuk menghasilkan kualitas telur dan sperma yang baik. Mekanismenya sebagai berikut pakan fermentasi yang diberikan pada induk lele betina maupun jantan selanjutnya akan digunakan sebagai sumber energi pada induk yang akan dipijahkan. Mula-mula pakan yang telah diuraikan oleh mikroba dalam proses fermentasi ini akan masuk ke dalam sistem pencernaan makanan, selanjutnya akan didegradasi oleh enzim pencernaan dari bentuk kompleks menjadi bentuk sederhana dan akan diserap oleh epitel usus secara endositosis. Dari epitel usus selanjutnya nutrisi dibawa aliran darah menuju ke hepar, otak dan gonad. Didalam hepar nutrisi akan digunakan sebagai bahan dasar untuk sintesis vitelogenin, didalam

otak nutrien digunakan untuk sintesis hormon gonadotropin sedangkan di gonad nutrien digunakan untuk perkembangan dan pematangan telur dan spermatozoa.

Vitelogenin diketahui merupakan prekursor kuning telur induk lele betina yang diperoleh dari nutrisi pakan. Sintesis vitelogenin dapat berjalan dengan baik apabila nutrisi dalam pakan induk khususnya protein yang amat penting untuk pembentukan kuning telur maupun spermatozoa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian pakan fermentasi dan induksi laserpunktur pada induk lele betina maupun jantan dengan kandungan nutrisi yang tinggi sebelum induk lele dipijahkan terbukti dapat meningkatkan kadar vitellogenin pada induk lele betina dan kadar testosteron dalam serum darah pada induk lele jantan. Hasil penelitian ini didukung oleh Nilsson *et al.* (2001), Ohkubob dan Matsubara (2002), Kapateh (2009) menyatakan bahwa protein dalam pakan berperan penting dalam pembentukan protein yolk. Dengan demikian maka ketersediaan nutrisi khususnya protein dalam pakan induk lele harus mengandung protein tinggi, karena protein ini nantinya diperlukan untuk proses vitelogenesis dan spermatogenesis guna menghasilkan benih yang berkualitas dan tahan terhadap perubahan lingkungan jika induk dipijahkan.

Kualitas larva yang dihasilkan dari pemijahan induk lele betina dan induk lele jantan yang diberikan pakan fermentasi dan di induksi laserpunktur terbukti ukuran diameter telurnya lebih besar. Ukuran diameter telur yang besar terbukti akan menghasilkan larva yang berukuran besar tahan terhadap perubahan lingkungan bila dibandingkan dengan telur yang memiliki diameter kecil karena larva yang dihasilkan berukuran kecil. Hubungan positif antara ukuran larva dan ukuran telur telah dilaporkan oleh Kjorsvik *et al.* (2003), Giménez *et al.* (2006) menyatakan bahwa telur yang berukuran besar menghasilkan persentase kelangsungan hidup (SR) tinggi, larva yang dihasilkan sehat ditandai dengan pertumbuhannya cepat dan ketahanannya tinggi terhadap perubahan lingkungan.

Di samping itu tidak menutup kemungkinan bahwa faktor lingkungan seperti suhu juga sangat menentukan dalam menunjang keberhasilan dalam proses pemijahan induk lele, karena suhu lingkungan antara 26⁰C-30⁰C adalah optimal dan ideal untuk pertumbuhan dan perkembangan larva menjadi lebih cepat, demikian juga laju metabolisme dalam tubuh ikan meningkat. Hasil penelitian ini didukung oleh Kelly (2004), Oyelese (2006) dan Puvaneswari *et al.* (2009) menyatakan bahwa keberhasilan penetasan telur ikan ada kaitannya dengan kondisi lingkungan seperti suhu. Suhu optimal untuk inkubasi 26⁰C-30⁰C, dimana pada suhu tersebut

absorpsi protein dalam telur berakhir 3 hari setelah telur menetas ditunjukkan dengan adanya perubahan larva menjadi benih.

Kemampuan hidup larva sangat tergantung pada komposisi biokimia telur, hal ini dapat menggambarkan bahwa kebutuhan embryo terhadap nutrisi terkait dengan pertumbuhan dan perkembangan larva. Demikian juga komposisi biokimia telur ini merupakan komponen esensial untuk kehidupan organisme. Oleh karena itu, komponen biokimia telur merupakan salah satu parameter kualitas telur yang dapat digunakan untuk mengevaluasi kualitas telur sebelum fertilisasi. Diketahui bahwa komponen biokimia telur merupakan faktor penting yang diperlukan selama perkembangan telur. Komponen biokimia telur ini selanjutnya akan digunakan sebagai sumber energi metabolisme yang secara langsung digunakan untuk sintesis jaringan embrionik tubuh ikan.

Hasil penelitian secara keseluruhan dapat mengungkapkan bahwa pemberian pakan fermentasi dan induksi laserpunktur pada induk lele betina maupun induk lele jantan sebelum induk dipijahkan terbukti dapat meningkatkan persentase FR, HR dan SR benih yang dihasilkan dibandingkan induk lele yang hanya diberikan pakan pada kelompok kontrol dan pakan fermentasi.

Produk/ Luaran yang dicapai :

1. HAKI : Paten Sederhana

No.	Tahun	Judul/Tema HKI	Jenis HKI*	Status (Terdaftar/Nomor P/ID Granted)**
1	2016	Metode Induksi Laserpunktur Untuk Mempercepat Pematangan Gonad dan Pemijahan Ikan Air Tawar	Paten Sederhana	Tanggal Pengajuan: 15 Desember 2016. Nomer Pemohon: P00201608662. Diumumkan: Tanggal 17 November 2017 dengan Nomor Publikasi: 2017/12468
2	2018	Pakan Formula Probiotik Dipadukan Induksi Laserpunktur Guna Mempercepat Induk Lele (Clarias sp) Matang Gonad Siap Dipijahkan	Paten Sederhana Non UMKM	Nomor e-Filling : WFP2018042967 Tanggal Pengajuan: 22 Juni 2018 Nomer Pemohon: SID 201804501
3	2018	Proses Isolasi Protein Pili Escherichia coli Sebagai Bahan Spermisida	Paten Sederhana Non UMKM	Nomor e-Filling : WFP2018038993 Tanggal Pengajuan: 10 Mei 2018 Nomer Pemohon: SID 201803441

Deskripsi

“PAKAN FORMULA PROBIOTIK DIPADUKAN INDUKSI LASERPUNKTUR UNTUK MEMPERCEPAT INDUK LELE (*Clarias sp*) MATANG GONAD SIAP DIPIJAHKAN”

Bidang Teknik Invensi

Invensi ini berhubungan dengan metode pemberian pakan formula probiotik dipadukan induksi laserpunktur untuk program efisiensi pakan dalam mempercepat penyiapan induk lele matang gonad sehat dan siap untuk dipijahkan (*Clarias sp*).

Latar Belakang Invensi

Ikan lele merupakan sumber protein hewani penting bagi kesehatan manusia karena memiliki kandungan asam lemak omega-3 yang berperan melindungi jantung yaitu dapat menurunkan kolestrol darah, mencegah terjadinya penggumpalan darah dan sangat diperlukan untuk pembentukan otak dibandingkan sumber protein lainnya seperti daging, ayam dan telur (Fajar, 2009). Melihat potensi ini sekarang banyak pembudidaya berlomba untuk membudidayakan ikan lele ini. Karena ikan lele memiliki nilai ekonomis tinggi, selain itu juga memiliki beberapa kelebihan diantaranya: mudah berkembang biak, pertumbuhan relatif cepat, kandungan protein cukup tinggi dan dapat dipelihara dengan kepadatan tebar tinggi. Namun dilapangan banyak ditemukan kendala yang dihadapi para pembudidaya ikan lele dengan tingginya harga pakan pabrikan membuat para pembudidaya banyak merugi dan tidak melanjutkan usahanya karena keuntungan yang diperoleh sedikit. Tujuan invensi penerapan metode pemberian pakan formula probiotik dipadukan induksi laserpunktur ini diajukan untuk membantu memecahkan permasalahan di masyarakat khususnya pembudidaya induk lele untuk meningkatkan efisiensi pakan guna meminimalisir besarnya biaya produksi akibat besarnya biaya pakan dalam penyiapan induk lele matang gonad sehat dan siap dipijahkan. Selain itu invensi yang diajukan belum pernah dipatenkan di Indonesia maupun dunia. Patent yang sudah ada di Amerika no : [A23K50/75 Feeding-stuffs specially adapted for particular animals for birds for poultry](#), sedangkan invensi yang akan dipatenkan adalah penerapan metode pemberian pakan formula probiotik dipadukan induksi laserpunktur untuk meningkatkan efisiensi pakan guna meminimalisir besarnya biaya produksi akibat besarnya biaya pakan dalam penyiapan induk lele matang gonad sehat dan siap dipijahkan.

Uraian Singkat Invensi

Kegagalan budidaya ikan banyak disebabkan oleh kualitas gamet yang dihasilkan baik oleh induk jantan maupun betina, sedangkan kualitas gamet sangat dipengaruhi kualitas pakan yang diberikan pada induk lele. Pakan berkualitas berkaitan erat dengan biaya yang harus disiapkan oleh para pembudidaya ikan lele. Hal inilah merupakan salah satu unsur penting yang harus diperhatikan dalam budidaya ikan untuk mendukung pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan yang dibudidaya. Pakan dalam kegiatan budidaya ikan umumnya berasal dari pakan formula buatan pabrik dimana biaya pakan yang dibutuhkan dalam budidaya menghabiskan sekitar 60-70% total biaya produksi. Inilah sebabnya mengapa pakan dalam budidaya ikan menjadi penting sehingga penelitian harus dilakukan untuk memperbaiki nilai gizi pakan dengan penambahan probiotik dalam pakan formula diberikan dipadukan induksi laserpunktur guna meminimalisir besarnya biaya produksi akibat besarnya biaya pakan dalam penyiapan induk i lele matang gonad sehat dan siap dipijahkan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan probiotik dalam pakan dipadukan induksi laserpunktur terbukti dapat merangsang penggunaan energi lebih efisien untuk pertumbuhan, mempercepat induk lele matang gonad serta dapat meningkatkan jumlah folikel vitellogenic, meningkatkan nilai *Gonado Somatic Index* (GSI) dan telur yang diovolusi tinggi. Seperti hasil penelitian (Irianto dan Austin, 2002; Ghosh et al, 2008) menunjukkan bahwa penambahan probiotik dalam pakan terbukti dapat memperbaiki keseimbangan komunitas mikroorganisme saluran pencernaan, sehingga keberadaan mikroba ini sangat membantu proses penguraian dan penyerapan makanan serta dapat meningkatkan nilai gizi dengan sintesis nutrisi penting dalam tubuh ikan seperti (vitamin, protein dan asam lemak esensial) dan enzim (amilase, protease dan lipase. Selain itu penambahan probiotik dalam pakan dipadukan induksi laserpunktur yang telah diaplikasikan para pembudidaya dalam penyiapan induk lele jantan dan betina terbukti dapat meningkatkan efisiensi pakan *Feed Conversion Ratio* (FCR) hingga 1 kg pakan untuk menghasilkan 1 kg ikan. Selain itu penambahan probiotik dalam pakan induk lele jantan dan betina dipadukan induksi laserpunktur terbukti dapat mempercepat waktu pemeliharaan ikan, tingkat kematian benih kecil, daging ikan yang dipanennya menjadi lebih padat dan ukuran ikan yang dihasilkan seragam jika dibanding tanpa probiotik dan induksi laserpunktur.

Uraian Lengkap Invensi :

Seperti yang telah diuraikan pada latar belakang invensi bahwa metode pemberian pakan formula probiotik dipadukan induksi laserpunktur untuk program efisiensi pakan dalam penyiapan induk lele matang gonad sehat dan siap untuk dipijahkan. Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa penambahan probiotik dalam pakan formula dengan dosis tepat dapat meningkatkan proses metabolisme didalam tubuh ikan yang selanjutnya memberi pengaruh positif pada laju pertumbuhan dan konversi pakan yang lebih baik jika dibandingkan hanya diberi pakan komersil saja. Hasil penelitian ini ditunjukkan seperti dalam tabel 1 dan 2 berikut dibawah ini :

Tabel 1. Rata-rata dan Standar Deviasi *Gonado Somatic Index* (GSI) Induk Lele Betina Antara Kelompok Yang Diberi Pakan Probiotik dan Induksi Laserpunktur dengan Kontrol.

Dose of Probiotic (ml)	N	Mean \pm Standard Deviation (GSI)
0	3	85,0 \pm 7,5 ^b
5	3	119,7 \pm 6,1 ^a
10	3	95,7 \pm 5,8 ^b
15	3	96,0 \pm 6,2 ^b

Catatan: Nilai pada kolom diikuti oleh superscript yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$).

Table 2. Rata-rata dan Standar Deviasi *Gonado Somatic Index* (GSI) Induk Lele Jantan Antara Kelompok Yang Diberi Pakan Probiotik dan Induksi Laserpunktur dengan Kontrol

Dose of Probiotic (ml)	N	Mean \pm Standard Deviation (GSI)
0	3	5,9 \pm 0,4 ^b
5	3	14,6 \pm 0,9 ^a
10	3	6,3 \pm 0,7 ^b
15	3	5,4 \pm 0,3 ^b

Catatan: Nilai pada kolom diikuti oleh superscript yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$).

Dilihat dari analisis data pada Tabel 1 dan 2 diketahui bahwa penambahan 5 ml dosis probiotik pada pakan memberikan pengaruh signifikan ($P < 0,05$) dibandingkan dengan dosis 0 ml, 10 ml, dan 15 ml. Dosis 5 ml terbukti optimal untuk meningkatkan nilai GSI pada lele jantan dan betina. Hal ini disebabkan penambahan probiotik dalam pakan membantu meningkatkan makronutrien

dan mikronutrien untuk menghasilkan enzim untuk meningkatkan daya cerna pada tubuh ikan. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa bakteri probiotik memperbaiki nutrisi dengan sintesis nutrisi penting seperti (vitamin, protein, dan asam lemak esensial) dan enzim (amilase, protease, dan lipase) (Irianto dan Austin, 2002; Ghosh *et al*, 2008). Diketahui bahwa nutrisi dalam pakan probiotik dapat mempengaruhi aktivitas reproduksi, seperti gametogenesis pada induk lele jantan dan betina. Hubungan antara aktivitas nutrisi dan reproduksi sangat penting untuk memastikan bahwa aktivitas reproduksi harus selaras dengan ketersediaan nutrisi dalam pakan untuk meningkatkan kelangsungan hidup benih yang dihasilkan (Scaramuzzi *et al.*, 2006). Sotolu (2010) menyatakan bahwa kandungan protein dalam pakan mempengaruhi peningkatan ukuran dan berat gonad. Selain itu, Akankali dkk. (2011) menyatakan bahwa induk lele harus diberi pakan yang mengandung protein, lemak, kalsium dan fosfat yang cukup baik untuk menghasilkan kuning telur. Sedangkan induk lele yang diberikan pakan meningkatkan sintesis hormon testosteron steroid yang berperan dalam spermatogenesis. Hasil penelitian ini sama dengan yang disebutkan oleh Msiska (2002), bahwa penambahan probiotik pada pakan dapat membantu memperbaiki kinerja reproduksi dan pematangan gonad. Hal itu juga konsisten dengan hasil yang dilaporkan oleh Ghosh *et al.* (2007) bahwa kinerja reproduksi meningkat pada makan ikan probiotik dalam pakannya. Hal ini dapat dikaitkan dengan produksi nutrisi penting yang seimbang (dalam asam lemak esensial tertentu) oleh bakteri probiotik usus (Irianto dan Austin, 2002). Kecukupan protein pada pakan lele terkait dengan kecukupan asam amino yang terkandung dalam pakan dan menentukan kandungan protein telur untuk meningkatkan ukuran dan bobot induk gonad lele. Pada tahap akhir vitellogenin, diameter oosit meningkat dan kadar vitellogenin mencapai maksimum. Semakin banyak akumulasi kuning telur, semakin besar diameter oosit dan GSI juga lebih tinggi. Dengan meningkatnya jumlah oosit yang terisi kuning telur, ovarium semakin membesar dan berat, berat badan lebih berat dan GSI meningkat. Sebagai ilustrasi, menurut Effendie (2002) nilai GSI berkisar 1-25%. Ikan dengan nilai GSI 19% bisa tergeletak telur matang. Kontribusi probiotik pada peningkatan fase pertumbuhan folikel ditunjukkan oleh kenaikan nilai *Gonado Somatic Index* (GSI) (Gioacchini *et al.*, 2010). Hal itu juga ditunjukkan dari pengamatan histologis pada pengobatan ikan ovarium yang diberi probiotik, peningkatan folikel vitellogenic ditunjukkan (Gioacchini *et al*, 2010). Penurunan tingkat kadar estrogen mempengaruhi tingkat penurunan kadar vitellogenin dalam serumdarah dan nilai GSI. Studi yang sama dilakukan Utomo dkk. (2006) pada ikan zebra betina bahwa

penurunan nilai GSI terjadi saat vitellogenesis selesai. Kondisi yang sama terjadi pada kelompok kontrol dan probiotik dalam pakan dengan dosis 10 ml dan 15 ml dimana pada kelompok ini mengalami penurunan nilai GSI bersamaan dengan selesainya vitellogenesis.

Nilai rata-rata GSI pada lele jantan dan betinayang diberi perlakuan pada pakan formula probiotik dipadukan dengan induksi laserpunktur menunjukkan perbedaan signifikan ($P < 0,05$) bila dibandingkan dengan kontrol. Hal ini dikarenakan pemberian pakan formula probiotik dipadukan dengan induksi laserpunktur terbukti dapat meningkatkan nilai GSI pada lele jantan dan betina dapat memperbaiki keseimbangan komunitas mikroorganisme di saluran pencernaan. Selain itu juga peran induksi laserpunktur panjang gelombang 632,8 nm, luas keluaran cahaya $0,2 \text{ cm}^2$ dan daya 5 mW/cm^2 dengan lama induksi 15 detik pada titik reproduksi tepatnya pada 2/3 bagian ventral satu kali paparan laserpunktur dalam seminggu terbukti optimal untuk mempercepat pematangan gonad yaitu dalam waktu 15 hari dicapai tingkat kematangan gonad (TKG IV) dan induk lele siap dipijahkan. Hal ini dikarenakan laserpunktur yang dipaparkan pada titik reproduksi pada induk lele jantan maupun betina dapat menyebabkan terjadinya aktifitas seluler. Aktifitas seluler seperti proses pelepasan dan penyimpanan ion kalsium (Ca^{2+}) dari *Retikulum Endoplasma* (RE) dapat terjadi karena energi gelombang elektromagnetik yang dipancarkan dari sinar laser yang dipaparkan pada titik reproduksi dipermukaan kulit, selanjutnya energi gelombang elektromagnetik ini dapat menembus epidermis sampai dermis untuk menginduksi reseptor membran sel syaraf seperti protein G subunit α akan mengalami fosforilasi dimana *guanosin trifosfat* (GTP) akan diubah menjadi *guanosin monofosfat* (GMP) untuk melepaskan 2 fosfat energi tinggi yang berguna untuk mengaktivasi enzim *fosfolipase C* (PLC). Enzym fosfolipase C akan menghidrolisis *fosfatidil inositol bifosfat* (PIP_2) menghasilkan *inositol trifosfat* (IP_3) dan *diasilglyserol* (DAG). Dalam sitosol IP_3 akan berikatan dengan reseptor RE untuk menstimulasi pelepasan Ca^{2+} . Jalur aktifitas seluler seperti tersebut ini dikenal sebagai jalur metabotropik (Wahl dan Carpenter, 1991). Akan tetapi tidak menutup kemungkinan paparan laserpunktur pada titik reproduksi dapat melalui jalur ionotropik, diawali dari paparan laserpunktur mengenai titik reproduksi pancaran sinar laser akan diubah menjadi sinyal listrik. Sinyal listrik akan menyebabkan depolarisasi membran sel syaraf. Akibat depolarisasi ini akan menyebabkan potensial aksi dimana membran sel syaraf akan merespon dengan terbukanya saluran ion Ca^{2+} ekstraseluler. Ca^{2+} ekstraseluler akan masuk melalui *calcium sensing receptor* (CaSR) atau melalui *voltage-gated Ca^{2+} channels* (VGCC)

(Berridge *et al.*, 2000; Clapham, 2007). Akibat masuknya Ca^{2+} ekstraseluler ini Ca^{2+} akan bertemu dengan gelembung-gelembung sinaptik dan gelembung membran terbuka untuk melepaskan neurotransmitter ke celah sinaptik dengan cara eksositosis akan masuk ke celah sinap. Selanjutnya neurotransmitter akan berikatan dengan reseptor membran sel postsinap akibatnya dapat positif (eksitatori) atau negatif (inhibitori) pada membran sel postsinaptik. Jika ikatan reseptor dengan neurotransmitter cocok, maka impuls akan dilanjutkan sampai menuju ke otak (Wahl dan Carpenter, 1991). Didalam otak impuls akan mengaktifkan enzim *Glutamic Acid Decarboxylase Isoform 65* (GAD-65). Aktifnya GAD-65 ini akan merangsang neuron GABAergic untuk mensintesis GABA. Selanjutnya melalui hubungan antar neuron GABA, neuron hipotalamus dan neuron hipofisis inilah GABA akan menstimulasi pelepasan GnRH dari hipotalamus. GnRH selanjutnya merangsang pelepasan hormon gonadotropin (GtH-I dan GtH-II) dari hipofisis. GtH-I dan GtH-II akan merangsang steroidogenesis di gonad untuk sintesis estradiol-17 β dan estradiol-17 β akan merangsang proses vitellogenesis dalam mensintesis vitellogenin di sel hepatosit hepar. Vitellogenin hasil sintesis merupakan precursor vitelin selanjutnya vitelin sebagai protein kuning telur dilepas dalam peredaran darah menuju ke gonad untuk diserap secara endositosis oleh oosit dan ukuran oosit semakin meningkat. Peningkatan ukuran oosit ini dapat digunakan sebagai salah satu indikator pematangan gonad ditandai dengan peningkatan nilai *Gonado Somatic Indeks* (GSI) dan waktu untuk memijah akan dipercepat 9 jam setelah dipapar laserpunktur. Hasil invensi secara keseluruhan menunjukkan bahwa paparan laserpunktur pada titik reproduksi dapat meningkatkan aktifitas selluler seperti peningkatan ekspresi Calcineurin dan PKC di jaringan kulit dan sintesis GABA di neuron GABAergic jaringan otak, pelepasan GABA dapat merangsang pelepasan GnRH dari hipotalamus. GnRH merangsang pelepasan hormon gonadotropin (GtH-I dan GtH-II) dari hipofisis, GtH-I dan GtH-II berfungsi mengontrol pematangan gonad dan mempercepat waktu pemijahan induk lele (*Clarias sp*) melalui jalur metabotropik dan ionotropik. Hasil invensi ini mampu mendukung program pemerintah khususnya pembudidaya induk lele jantan maupun betina untuk mempercepat penyediaan induk lele matang gonad dalam jumlah besar, berkualitas, kontinyu dan dalam waktu serempak yang pada akhirnya target kebutuhan protein berasal dari ikan segera terpenuhi. Prosedur induksi laserpunktur pada titik reproduksi induk lele dengan langkah-langkah sebagai berikut :

- a) Disiapkan induk lele jantan maupun betina umur 1 tahun dan memiliki berat minimal 950-1015 gram untuk induk jantan dan 1005-1015 gram untuk induk betina dan kondisi induk yang digunakan harus dalam keadaan sehat.
- b) Induk lele jantan maupun betina sebelum diberi perlakuan induksi laserpunktur diadaptasikan dalam kolam tanah/bak/kolam semen selama 2 minggu secara terpisah agar tidak terjadi pememijahan sebelum induk diberi perlakuan.
- c) Selama pemeliharaan diberikan pakan kandungan protein 36% buatan pabrik Pokphand 781-3 yang diproduksi oleh CP Prima sebanyak 5% dari bobot badan. Pakan diberikan setiap pagi dan sore hari.
- d) Setelah adaptasi masing-masing induk diambil untuk sampling dan diamati kondisi perkembangan gonad melalui pengamatan eksternal dan saat pengambilan induk lele diusahakan tidak stres.
- e) Selanjutnya induk lele sebelum diberi perlakuan induksi laserpunktur terlebih dahulu dipegang dengan posisi terlentang dengan bagian perut di atas, bagian permukaan perut di lap basah dan bagian punggungnya dialasi dengan handuk basah dan jangan lupa mata ikan ditutup, selama perlakuan posisis ikan ditempatkan dekat kolam ternaungi atau tempat yang teduh agar tidak stres.
- f) Seorang operator lain memberi perlakuan induksi laserpunktur pada titik reproduksi pada 2/3 bagian ventral tubuh tepatnya didepan pertemuan sirip abdominal (perut) dengan pertemuan sirip pectoral (dada) selama 15 detik dengan frekuensi satu kali dalam seminggu dengan cara menempelkan probe laserpunktur pada titik tersebut.

Klaim

Berdasarkan uraian invensi membuktikan bahwa penambahan probiotik dalam pakan formula dipadukan induksi laserpunktur pada induk lele jantan dan betina terbukti dapat meningkatkan efisiensi pakan guna meminimalisir *cost production* dalam mempercepat penyiapan induk lele matang gonad sehat dan siap dipijahkan. Untuk mencapai target tersebut diatas maka pembudidaya induk lele harus mengikuti langkah-langkah sebagai berikut :

1. Siapkan kolam pemeliharaan induk lele jantan dan induk lele betina secara terpisah agar tidak terjadi pemijahan sebelum induk diberi perlakuan.
2. Ukuran kolam yang digunakan 1,5 m x 2m x 60 cm sebanyak 8 kolam yang telah dibersihkan dan dikeringkan di bawah sinar matahari selama dua hari. Setelah kering masing-masing kolam diisi air sampai ketinggian ± 50 cm.
3. Selanjutnya 4 kolam diisi masing-masing 6 ekor induk lele jantan dengan kisaran berat 950-1015 gram dan 4 kolam lainnya diisi masing-masing 6 ekor induk lele betina dengan kisaran berat 1005 sampai 1015 gram.
4. Sebelum induk lele jantan dan betina diberi perlakuan, terlebih dahulu induk diadaptasi selama 2 minggu dan diberi pakan formula dengan kandungan protein 36% buatan pabrik Pokphand 781-3 yang diproduksi oleh CP Prima sebanyak 5% dari berat badan. Pakan diberikan setiap pagi dan sore hari.
5. Setelah induk lele jantan maupun betina diadaptasi induk diberikan pakan dengan kandungan protein 36% yang telah ditambahkan probiotik 5 ml dan diinduksi laserpunktur selama 15 detik setiap 2 minggu sekali pada titik reproduksi tepatnya pada 2/3 bagian ventral tubuh yaitu didepan pertemuan sirip abdominal (perut) dengan pertemuan sirip pectoral (dada) lama pemberian perlakuan 1 bulan.
6. Laserpunktur yang digunakan untuk induksi memiliki panjang gelombang 632,8 nm, luas keluaran cahaya $0,2 \text{ cm}^2$ dan daya 5 mW/cm^2
7. Setelah 1 bulan diambil secara sampling induk lele jantan maupun betina ditimbang dan dibiopsi untuk diambil dan ditimbang gonadnya. Hasil penimbangan bobot badan dan bobot gonad digunakan untuk menentukan tingkat kematangan gonad (GSI) secara tepat.
8. Selanjutnya induk lele jantan maupun betina yang telah matang gonad diinduksi laserpunktur untuk merangsang proses pemijahan.

Abstrak

PAKAN FORMULA PROBIOTIK DIPADUKAN DENGAN INDUKSI LASERPUNKTUR UNTUK MEMPERCEPAT INDUK LELE (*Clarias sp*) MATANG GONAD DAN SIAP DIPIJAHKAN.

Invensi ini berhubungan dengan metode pemberian pakan formula probiotik dipadukan induksi laserpunktur untuk program efisiensi pakan dalam percepatan penyiapan induk lele matang gonad sehat dan siap untuk dipijahkan. Induk lele jantan dan betina diberikan pakan kandungan protein 36% ditambahkan probiotik 5 ml, selanjutnya masing-masing induk diinduksi laserpunktur selama 15 detik setiap 2 minggu sekali pada titik reproduksi tepatnya di 2/3 bagian ventral tubuh. Setelah 1 bulan masing-masing induk diamati anatomi dan morfologi gonadnya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian pakan formula probiotik dipadukan induksi laserpunktur terbukti berpengaruh mempercepat pematangan gonad induk lele ditunjukkan dalam waktu 15 hari dicapai tingkat kematangan gonad (TKG IV) dan induk lele siap dipijahkan untuk menghasilkan benih berkualitas, seragam, kontiyu dan sekala massal. Hasil penelitian ini dapat direkomendasikan sebagai salah satu alternatif untuk mempercepat pematangan gonad dan rangsang pemijahan induk lele yang optimal.

Deskripsi

PROSES ISOLASI PROTEIN PILI *Escherichia coli* SEBAGAI BAHAN SPERMISIDA

Bidang Teknik Invensi

Bidang invensi ini berhubungan dengan isolasi protein Pili *Escherichia coli* (*E. coli*) yang dapat digunakan sebagai bahan spermisida. Untuk mengisolasi protein pili *E. coli* dengan hasil yang optimal diperlukan suatu proses.

Latar Belakang Invensi

E. coli merupakan pathogen yang sering menginfeksi saluran reproduksi pria. Dampak dari infeksi saluran reproduksi pria adalah terjadinya epididimitis, prostatovesikulitis maupun orchitis yang berakibat kualitas spermatozoa menurun. Mekanisme penurunan kualitas spermatozoa tersebut salah satunya karena *E. coli* mempunyai kemampuan melekat ke spermatozoa. *E. coli* melekat pada kepala maupun ekor spermatozoa. Hal ini dapat diyakini bahwa reseptor *E. coli* pada spermatozoa manusia terdapat pada kepala dan ekor spermatozoa. Reseptor *E. coli* pada spermatozoa ada pada kepala dan ekor spermatozoa dan merupakan bagian dari protein membran spermatozoa. Menurut Lindenthal dan Elsinghorst (1999), perlekatan sel eukariotik dengan bakteri umumnya diperantarai oleh interaksi protein-protein atau protein–karbohidrat antara ligan bakteri dan reseptor sel eukariotik. Beberapa penelitian telah menetapkan kemampuan bakteri melekat secara selektif ke permukaan mukosa. Protein adhesin sebagai ligan akan berikatan dengan molekul reseptor pada sel hospes. Ikatan antara ligan dan reseptor bersifat spesifik (Salyers dan Whitt, 2002). Molekul reseptor berperan dalam melokalisasi tempat yang tepat untuk melekatnya bakteri. Perlekatan *E. coli* ke spermatozoa dengan menggunakan Pili. Struktur pili adalah seperti rambut kuat dengan diameter 2-5 nm atau bentuk batang dengan diameter 6-8 nm. Panjangnya bervariasi antara 0,2 – 20 µm dan menyebar pada permukaan bakteri (Krogfelt, 1991). Pili bentuk batang (rod fimbrial) disusun seratus sampai ribuan kopi sub unit protein frimbilin.

Akibat dari perlekatan *E. coli* ke spermatozoa adalah menurunnya motilitas, viabilitas, terjadinya kerusakan membran spermatozoa sehingga kualitas spermatozoa menurun dan fungsi spermatozoa terganggu. Protein Pili *E. coli* dapat dimanfaatkan untuk menghambat fungsi spermatozoa. Dengan demikian protein pili dapat digunakan sebagai bahan spermisida untuk pengontrolan fertilitas. Pada saat ini, banyak produk spermisida telah dipasarkan. Sebagian besar

dari spermisida mengandung deterjen sebagai bahan aktif, seperti Isononyl- phenyl- polioksietilena ether atau Nonoxynol 9 (N-9), p methanyl- phenyl- polioksietilena ether atau Menfegol, dan Isooctyl- phenyl- polioksietilen eter atau Octoxynol 9 (Zaneveld, et al., 2002; Digenis, et.al.,1999). Kelemahan utama menggunakan N-9 atau yang saat ini digunakan surfaktan spermisida lain adalah deterjen berpengaruh negatif terhadap sel-sel epitel dan flora normal vagina (D'Cruz, et.al, 2001; Krebs, et.al., 2000). Penggunaan berulang surfaktan ini sebagai kontrasepsi vagina telah dikaitkan dengan peningkatan risiko infeksi vagina atau serviks, iritasi dan ulserasi (Heeshma, C, et al., et.al., 2008). Jenis spermisida deterjen mengubah flora bakteri vagina, dan gangguan lingkungan mikroba vagina dapat menyebabkan infeksi oportunistik yang mengakibatkan meningkatnya ISK (Infeksi Saluran Kemih) dan juga penularan HIV/IMS (Human Immunodeficiency Virus/Infeksi menular seksual) (Zanneveld, 2002). Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa N- 9 kurang efektif digunakan sebagai spermisida (Reddy, KVR., et al., 2004). Oleh karena itu, diperlukan pengembangan produk spermisida baru yang tidak toksik dalam hal ini menggunakan protein pili E. coli.

Invensi sebelumnya yaitu Preparasi subunit pili bakteri dan vaksin yang berisi subunit pili bakteri, paten US 4702911A. Paten tersebut menjelaskan tentang preparasi subunit pili bakteri menggunakan larutan N-tris (hydroxymethyl) methyl-2-aminoethane sulfonic acid (TES). Larutan penyangga TES, pH nya disesuaikan sampai di bawah pH 2, dan lebih disukai sekitar pH 1,8, dengan penambahan hidrogen klorida. Larutan pH rendah ini kemudian dimasukkan ke dalam bak air mendidih selama sekitar lima menit sehingga terjadi gangguan pada pili utuh. Setelah dikeluarkan dari bak air mendidih, larutan pH rendah dibiarkan mendingin sampai suhu kamar, dan pHnya kemudian disesuaikan sampai sekitar pH 10 dengan penambahan natrium hidroksida. Larutan pH 10 disentrifugasi, dan pellet yang terbentuk selama sentrifugasi dibuang sementara supernatan yang mengandung pili dipertahankan. Mengatur pH supernatan menjadi substansi yang netral dengan menambahkan garam amonium sulfat. Panen subunit pilus sebagai pelet setelah sentrifugasi. Pelet subunit pili yang dihasilkan kemudian dapat disiapkan menjadi vaksin subunit.

Paten US 4472302 A tentang isolasi protein bakteri menggunakan metode Heat shock (kejutan panas) menjelaskan bahwa Proses isolasi protein pili dari sel bakteri E. coli yang terdiri dari perlakuan kejutan panas dengan suhu dari 60 °C selama 20 menit dalam larutan penyangga buffer fosfat; menginkubasi bahan yang telah diberi perlakuan kejutan panas tersebut pada suhu

4° C selama 16 jam sebelum sentrifugasi.

Pada invensi ini, proses pemotongan pili E.coli dilakukan dengan menggunakan alat omnimixer. E.coli sebelum dipotong pili nya dikultur pada media Thioprolin Carbonat Glutamat (TCG) untuk menumbuhkan pili E. coli. Pili E. coli dipotong menggunakan larutan penyangga Phosphat Buffer Saline (PBS) pH 7.4. Potongan pili yang dihasilkan dilakukan dialisis. Hasil dialisis dilakukan elektroforesis menggunakan metode SDS PAGE untuk mengetahui profil protein pili E. coli. Hasil elektroforesis dilakukan elektroelusi dan dialisis.

Uraian Singkat Invensi

Invensi yang diusulkan ini pada prinsipnya adalah menjelaskan proses isolasi protein pili E. coli. E. coli di tumbuhkan pada media Mc. Conkey selama 24 jam. Kemudian dari media Mc. Conkey, E. coli di tumbuhkan pada media BHI selama 48 jam. Suspensi E. coli dalam media BHI selanjutnya di tuang pada media TCG. E. coli yang ditumbuhkan pada media TCG di inkubasi selama 48 jam. Setelah 48 jam E. coli di panen dan ditambah TCA 3 %, selanjutnya diaduk menggunakan magnetic stirrer pada suhu 4⁰ C selama 1 jam (dalam almari pendingin). Selanjutnya dilakukan sentrifugasi pada 6000 rpm, 4⁰ C selama 10 menit. Pelet yang dihasilkan ditambah PBS pH 7.4 untuk dilakukan pencucian sebanyak 3 kali dengan cara dilakukan penambahan PBS pH 7.4 dan disentrifus pada 6.000 rpm pada suhu 4⁰ C selama 15 menit. Pencucian dilakukan sebanyak 3 kali dengan proses yang sama, hal ini dilakukan untuk menghilangkan sisa TCA. Setelah dilakukan pencucian, E. coli dipotong menggunakan omnimixer. Pemotongan dilakukan sampai suspensi E. coli jernih. Hasil setiap kali pemotongan dilakukan sentrifugasi 12.000 rpm suhu dingin. Supernatan di tampung dalam tabung dan pellet dipotong lagi, begitu seterusnya hingga suspensi E. coli jernih. Supernatan hasil sentrifugasi 12.000 rpm selanjutnya di lakukan dialisis menggunakan PBS pH 7.4 selama 48 jam suhu dingin, dan setiap 24 jam PBS diganti. Dialisat yang di peroleh dilakukan elektroforesis dengan metode SDS PAGE. Hasil elektroforesis dilakukan elektroelusi dan dialisis.

Uraian Lengkap Invensi

Escherichia coli dikultur pada medium agar Mc Conkey suhu 37⁰ C selama 24 jam. Kemudian biakan dari agar Mac Conkey di inokulasi ke Erlenmeyer berisi 500 ml medium BHI steril dan diinkubasi selama 24 jam. Selanjutnya biakan *Escherichia coli* dituang ke 25 botol 250 ml yang telah berisi medium agar miring TGC 25 ml, masing-masing 10 ml dan diatur supaya agar TCG

terendam BHI serta agar BHI tidak mencapai tutup botol supaya tidak terkontaminasi. Dilakukan inkubasi 37⁰ C selama 48 jam. Biakan *Escherichia coli* dipanen dengan cara menuang suspensi BHI yang berisi *Escherichia coli*, dan lapisan tipis yang mengandung *Escherichia coli* dikerok. Hasil panen dikumpulkan jadi satu dalam tabung Erlenmeyer 1000 ml. Suspensi BHI yang berisi *Escherichia coli* pada Erlenmeyer 1000 ml di tuang ke dalam tabung sentrifus 30 ml, ditambah Trichloroacetic acid (TCA) 3 %, Dilakukan pengadukan menggunakan magnetic stirrer selama 1 jam pada suhu 4⁰C kemudian dilakukan pencucian sebanyak 3 kali untuk menghilangkan sisa TCA. Pencucian dilakukan dengan cara dilakukan sentrifugasi pada 6000 rpm, 15 menit pada 4⁰ C. Supernatan di buang, pellet di tambah PBS steril pH 7,4 sebanyak 5 kali volum. dan disentrifus pada 6.000 rpm pada suhu 4⁰ C selama 15 menit. Pencucian dilakukan sebanyak 3 kali dengan proses yang sama. Setelah dilakukan pencucian maka pili E. coli siap dipotong.

Prosedur pemotongan pili ini sebagai berikut: Suspensi *Escherichia coli* siap potong di masukkan ke dalam tabung omnimixer steril dan di set pada alat omnimixer, kemudian dilakukan pemotongan pili menggunakan alat omnimixer pada suhu 4⁰C, 3000 rpm selama 30 detik. Setelah di omnimixer, kemudian sampel disentrifus pada 4⁰C, 6000 rpm selama 15 menit. Supernatan ditampung pada tabung dan diberi label supernatan 1 (hasil potongan pertama) dan pellet disuspensi dengan PBS pH 7,4 dengan perbandingan 1:1. Kemudian dilakukan pemotongan lagi dengan omnimixer pada 4⁰C, 3000 rpm selama 30 detik. Setelah itu disentrifus pada 4⁰C, 6000 rpm selama 15 menit. Supernatan ditampung pada tabung dan diberi label supernatan 2 (hasil pemotongan ke dua) dan pellet disuspensi dengan PBS steril pH 7,4 dengan perbandingan 1:1. Proses pemotongan ini di ulang sampai 5 kali dengan prosedur yang sama. Dari prosedur ini, diperoleh supernatan 1, supernatan 2, supernatan 3, supernatan 4, dan supernatan 5 serta pellet yang merupakan sel bakteri (*Whole cell pellet*). Selanjutnya supernatan 1, supernatan 2, supernatan 3, supernatan 4 dan supernatan 5 masing masing dipindahklan pada *microtube eppendorf* 1,5 ml dan disentrifuse 12.000 rpm, 4⁰C selama 15 menit. Pada proses ini diperoleh supernatan dan pellet. Supernatan merupakan fraksi pili dan pellet adalah sel bakteri tanpa pili (*Whole cell supernatan*). Selanjutnya pada masing masing fraksi pili diberi label pili 1 (pili hasil pemotongan pertama), pili 2 (pili hasil pemotongan ke dua), pili 3 (pili hasil pemotongan ke tiga), pili 4 (pili hasil pemotongan ke empat) dan pili 5 (pili hasil pemotongan ke lima). Demikian juga pada pellet juga di beri label sesuai hasil pemotongan.

Fraksi pili yang di peroleh, dilakukan proses dialisis menggunakan larutan PBS pH 7,4

pada suhu 4⁰C selama 2x24 jam. Selanjutnya dialisat diendapkan dengan ammonium sulfat 35 %, dan disentrifuse 6000 rpm 4⁰C selama 10 menit. Supernatan di buang, pellet disuspensi dengan PBS pH 7.4 secukupnya dan dilakukan dialisis kembali. Selanjutnya hasil dialisis dilakukan elektroforesis. Elektroforesis dilakukan dengan prosedur menyiapkan sampel, membuat plat gel yang terdiri main gel 12,5 % dan *stacking gel* serta membuat *running buffer*. Plat gel di buat dengan merangkai dua plat kaca dengan jarak antar plat kira-kira 1 mm. Gel dibuat 2 lapis yaitu *stacking gel* sebagai tempat pengumpulan sampel dan main gel/separating gel sebagai media untuk pemisahan protein. *Main gel* dituang dalam plate yang telah di siapkan. Dibiarkan selama 30 menit hingga terbentuk gel. Berikutnya *stacking gel* dituang diatas main gel/separating gel dan dipasang sisir hingga terbentuk gel beserta sumurannya. Kemudian plate gel dipasang pada apparatus elektroforesis. Sampel disiapkan dengan cara sampel dicampur dengan RSB (*Reducing Sample Buffer*) dengan perbandingan 1:1. Kemudian dipanaskan pada *water bath* selama 3 menit. Setelah dingin, 10 µl sampel dimasukkan pada sumuran. Kemudian *running buffer* dituangkan pada chamber elektroforesis hingga terendam. Anoda dihubungkan dengan reservoir bawah dan katoda dihubungkan dengan reservoir atas. Power supply dihidupkan dengan arus listrik sebesar 30 mA. Proses pemisahan (*running*) dihentikan setelah warna biru dari penanda berjarak kurang lebih 0,5 cm dari batas bawah plat gel (± 90 menit).

Pewarnaan protein dilakukan dengan merendam gel dalam larutan 0,25 % *Comassie brilliant blue* selama 30 menit.

Gel hasil elektroforesis yang terdapat pita protein pili pada posisi berat molekul yang diinginkan, dipotong secara mendatar pada sisi atas dan bawah pita. Kemudian masing masing potongan pita protein dikumpulkan pada tabung yang berisi aquades dan diberi label sesuai dengan nomor pita protein. Selanjutnya pita protein dimasukkan membran selofan yang telah dipersiapkan. Membran selofan dipersiapkan dengan cara memotong membran sesuai kebutuhan (kira kira 10 cm), kemudian direbus dalam aquades yang telah diberi EDTA selama 20 menit. Selanjutnya aquades dibuang dan direbus dengan PBS selama 10 menit. Membran siap digunakan. Membran di jepit di satu sisi dan diberi label, kemudian dibilas dengan *running buffer* dan diisi dengan *running buffer*. Selanjutnya potongan pita protein dimasukkan pada membran sesuai label pita protein, dan membran dijepit. Membran yang telah berisi potongan pita protein dilakukan elektroelusi menggunakan apparatus elektroforesis horizontal, dengan larutan penyangga elektroforesis *running buffer*, aliran listrik 125 volt selama 2 jam. Hasil elektroelusi dilakukan

dialisis dengan larutan PBS selama 2x24 jam. PBS diganti setiap 24 jam. Setelah 48 jam, dilakukan panen protein dengan langkah langkah sebagai berikut: membran selofan dikeluarkan dari PBS. Penjepit pada salah satu sisi di buka. Cairan yang ada pada membran selofan di pipet dengan hati hati jangan sampai gel terikut. Cairan tersebut di tampung pada eppendorf yang telah diberi label sesuai potongan gel pita protein. Kemudian cairan yang mengandung protein tersebut di tambah alkohol absolut dengan perbandingan 1:1, didiamkan semalam pada almari es untuk presipitasi. Setelah semalam, selanjutnya dilakukan sentrifugasi pada 12.000 rpm, 4 °C selama 15 menit. Supernatan dibuang dengan cara dituang, peletnya merupakan protein spesifik. *Microtube* eppendorf yang berisi protein tersebut selanjutnya di simpan dalam lemari es semalam dengan posisi terbalik, untuk menguapkan sisa sisa ethanol absolut. Hasilnya disimpan di dalam suhu - 20 °C untuk digunakan bila diperlukan.

Klaim

Suatu proses isolasi protein pili *E. coli* dengan tahapan sebagai berikut:

1. *Escherichia coli* dikultur pada medium agar Mc Conkey suhu 37⁰ C selama 24 jam. Kemudian biakan dari agar Mac Conkey di inokulasi ke Erlenmeyer berisi 500 ml medium BHI steril dan diinkubasi selama 24 jam. Selanjutnya biakan *Escherichia coli* dituang ke 25 botol 250 ml yang telah berisi medium agar miring TGC 25 ml, masing-masing 10 ml dan diatur supaya agar TCG terendam BHI serta agar BHI tidak mencapai tutup botol supaya tidak terkontaminasi. Dilakukan inkubasi 37⁰ C selama 48 jam.
2. Bahan pembuatan satu liter media TCG pada Klaim nomor 1 adalah 10 gram Tripton, 2 gram ekstrak yeast, 5 gram NaCl, 20 gram Bacto agar, Thioprolin 0,2 gram, NaHCO₃ 3 gram, Monosodium N Glutamat 1 gram, Ades 1 liter. Semua bahan dilarutkan kemudian dipanaskan tidak sampai mendidih.
3. Biakan *Escherichia coli* dipanen dengan cara menuang suspensi BHI yang berisi *Escherichia coli*, dan lapisan tipis yang mengandung *Escherichia coli* dikerok. Hasil panen dikumpulkan jadi satu dalam tabung Erlenmeyer 1000 ml.
4. Suspensi BHI yang berisi *Escherichia coli* pada Erlenmeyer 1000 ml di tuang ke dalam tabung sentrifus 30 ml, ditambah Trichloroacetic acid (TCA) 3 %. Dilakukan pengadukan menggunakan magnetic stirrer selama 1 jam pada suhu 4⁰C.
5. Dilakukan pencucian untuk menghilangkan sisa TCA. Pencucian dilakukan dengan cara dilakukan sentrifugasi pada 6000 rpm, 15 menit pada 4⁰ C. Supernatan di buang, pellet di tambah PBS steril pH 7,4 sebanyak 5 kali volum. dan disentrifus pada 6.000 rpm pada suhu 4⁰ C selama 15 menit. Pencucian dilakukan sebanyak 3 kali dengan proses yang sama. Setelah dilakukan pencucian maka pili *E. coli* siap dipotong.
6. Pili dipotong menggunakan alat omnimixer.
7. Prosedur pemotongan pili ini sebagai berikut: Suspensi *Escherichia coli* siap potong di masukkan ke dalam tabung omnimixer steril dan di set pada alat omnimixer, kemudian dilakukan pemotongan pili menggunakan alat omnimixer pada suhu 4⁰C, 3000 rpm selama 30 detik.
8. Setelah di omnimixer, kemudian sampel disentrifus pada 4⁰C, 6000 rpm selama 15 menit. Supernatan ditampung pada tabung dan diberi label supernatan 1 (hasil potongan pertama) dan pellet disuspensi dengan PBS pH 7,4 dengan perbandingan 1:1. Kemudian

dilakukan pemotongan lagi dengan omnimixer pada 4⁰C, 3000 rpm selama 30 detik. Pemotongan ini dilakukan sebanyak 5 kali. Dari prosedur ini, diperoleh supernatan 1, supernatan 2, supernatan 3, supernatan 4, dan supernatan 5 serta pellet yang merupakan sel bakteri (*Whole cell pellet*).

9. Selanjutnya supernatan dipindahkkan pada *microtube* eppendorf 1,5 ml dan disentrifuse 12.000 rpm, 4⁰C selama 15 menit. Pada proses ini diperoleh supernatan dan pellet. Supernatan merupakan fraksi pili dan pellet adalah sel bakteri tanpa pili (*Whole cell supernatan*).
10. Fraksi pili yang di peroleh, dilakukan proses dialisis menggunakan larutan PBS pH 7,4 pada suhu 4⁰C selama 2x24 jam.
11. Selanjutnya dialisat diendapkan dengan ammonium sulfat 35 %, dan disentrifuse 6000 rpm 4⁰C selama 10 menit. Supernatan di buang, pellet disuspensi dengan PBS pH 7.4 secukupnya dan dilakukan dialisis kembali.
12. Hasil dialisis dilakukan elektroforesis menggunakan metode SDS PAGE
13. Gel hasil elektroforesis yang berisi pita protein dilakukan elektroelusi. Prosedur elektroelusi adalah sebagai berikut: pita protein pili dipotong secara mendatar pada sisi atas dan bawah pita. Kemudian masing masing potongan pita protein dikumpulkan pada tabung yang berisi aquades dan diberi label sesuai dengan nomor pita protein. Selanjutnya pita protein dimasukkan membran selofan yang telah dipersiapkan. Membran selofan dipersiapkan dengan cara memotong membran sesuai kebutuhan (kira kira 10 cm), kemudian direbus dalam aquades yang telah diberi EDTA selama 20 menit. Selanjutnya aquades dibuang dan direbus dengan PBS selama 10 menit. Membran siap digunakan. Membran di jepit di satu sisi dan diberi label, kemudian dibilas dengan running buffer dan diisi dengan running buffer. Selanjutnya potongan pita protein dimasukkan pada membran sesuai label pita protein, dan membran dijepit. Membran yang telah berisi potongan pita protein dilakukan elektroelusi menggunakan aparatus elektroforesis horizontal, dengan larutan penyangga elektroforesis running buffer, aliran listrik 125 volt selama 2 jam.
14. Hasil elektroelusi dilakukan dialisis dengan larutan PBS selama 2x24 jam. PBS diganti setiap 24 jam.
15. Dilakukan panen protein dengan langkah langkah sebagai berikut: membran selofan

dikeluarkan dari PBS. Penjepit pada salah satu sisi di buka. Cairan yang ada pada membran selofan di pipet dengan hati hati jangan sampai gel terikut. Cairan tersebut di tampung pada eppendorf yang telah diberi label sesuai potongan gel pita protein.

16. Cairan yang mengandung protein tersebut di tambah alkohol absolut dengan perbandingan 1:1, didiamkan semalam pada almari es untuk presipitasi. Setelah semalam, selanjutnya dilakukan sentrifugasi pada 12.000 rpm, 4 °C selama 15 menit. Supernatan dibuang dengan cara dituang, peletnya merupakan protein spesifik. *Microtube* eppendorf yang berisi protein tersebut selanjutnya di simpan dalam lemari es semalam dengan posisi terbalik, untuk menguapkan sisa sisa ethanol absolut. Hasilnya adalah protein pili yang selanjutnya disimpan di dalam suhu -20 °C untuk digunakan bila diperlukan.

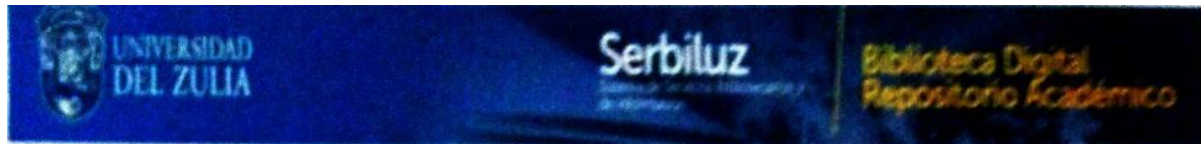
Abstrak

Invensi ini berhubungan dengan proses isolasi protein pili *Escherichia coli* (*E. coli*) sebagai bahan sfermisida. Pada proses ini dilakukan preparasi *E. coli*, pemotongan pili *E. coli*, isolasi protein pili *E. coli* dan pemurnian protein pili *E. coli*. Preparasi *E. coli* dilakukan dengan menanam *E. coli* pada media Mc. Conkey selama 24 jam, selanjutnya dari biakan Mc. Conkey *E. coli* ditumbuhkan pada media BHI dan diinkubasi selama 24 jam. Untuk memperbanyak Pili *E. coli* maka biakan *E. coli* dari media BHI di tumbuhkan pada media TCG dan diinkubasi selama 48 jam. Setelah biakan *E. coli* pada media TCG berumur 48 jam dilakukan panen *E. coli* dengan cara menuang suspensi yang berisi *E. coli* dari media TCG dan ditampung pada labu Erlenmeyer, pertumbuhan *E. coli* yang melekat pada media TCG di panen dengan cara mengeroknya. Biakan *E. coli* pada Erlenmeyer selanjutnya di tambah TCA 3% diaduk dengan magnetic stirrer pada suhu 4⁰C. Kemudian dilakukan pencucian 3 kali menggunakan PBS pH 7.4. Hasilnya *E. coli* siap dilakukan pemotongan pili. Pemotongan pili *E. coli* dilakukan menggunakan omnimixer. Pemotongan dilakukan sebanyak 5 kali sampai suspensi *E. coli* jernih. Supernatan yang dihasilkan dilakukan sentrifugasi 12.000 rpm, 4⁰C selama 15 menit. Supernatan yang dihasilkan di lakukan dialisis. Dialisat dipanen dan dilakukan elektroforesis. Pita protein yang terbentuk pada gel dipotong dan dilakukan elektroelusi. Hasil elektroelusi dilakukan dialisis 48 jam menggunakan PBS pH 7.4 suhu 4⁰C. Dialisat yang dihasilkan ditambah alcohol absolute dan didiamkan semalam. Selanjutnya disentrifus 12.000 rpm selama 15 menit, supernatan dibuang dengan cara di tuang. Peletnya disimpan pada almari es dengan posisi terbalik untuk menghilangkan sisa protein. Protein tersebut merupakan protein pili *E. coli*.

2. PRODUK PENELITIAN LAIN :

1. SOP Laserpunktur (terlampir)
2. SOP Pakan formula (terlampir)

3. Jounal Internasional terindeks Scopus Q-3 tahun 2018



Date: 04/08/2018

Revista Científica,
ISSN: 0798-2258

Increasing Of Vitellogenin Level And Gonado Somatic Index By Laserpuncture Exposure At Post Any Protein Level Of Dietary On Catfish Broodstock (Clarias Sp.)

Pungky Slamet Wisnu Kusuma^{1*}, Dyah Hariani²

*1Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of PGRI Adi Buana, Jalan Sigagal Dadi IIB/37 Wonokromo, Surabaya 60245, East Java, Indonesia
2Departement of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, State University of Surabaya, Jalan Ketintang Wiyata No. 48, Gayungan, Surabaya 60231, East Java, Indonesia*

Acceptance letter

After a thorough peer review, I am pleased to inform you that your manuscript titled "Increasing Of Vitellogenin Level And Gonado Somatic Index By Laserpuncture Exposure At Post Any Protein Level Of Dietary On Catfish Broodstock (Clarias Sp.)" Revista Científica / Volume 28/ Num 1/ 2018."

Kindly make payment 550\$ publishing fee and send us a copy of receipt .

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'F. J.', is written over a horizontal line.

Publication Manager



**UNIVERSIDAD
DEL ZULIA**

*www.luz.edu.ve
www.serbi.luz.edu.ve
produccioncientifica.luz.edu.ve*

Malang, Oktober 22th 2018

Dear Mr/Mrs/Ms

Pungky Slamet Wisnu Kusuma

Congratulation. On behalf of the committee, we are pleased to inform you that your submitted full-paper entitled “**Utilization of Probiotics in Feed to Increase Hepatosomatic Index (HSI) and Gonadosomatic Index (GSI) of Catfish (*Clarias* sp.) Broodstock**” is accepted to be published in the Plant and Animal Research Journal for Volume 1, Number 3, 2018.

Authors and affiliation of this article:

Pungky Slamet Wisnu Kusuma ¹, Dyah Hariani ², Mohamad Fadjar ³

¹ Department of Biology, Faculty of Mathematics and Science, Adi Buana PGRI University, Surabaya, East Java, Indonesia

² Department of Biology, Faculty of Mathematics and Science, Universitas Negeri Surabaya, East Java, Indonesia

³ Department of Aquaculture, Faculty of Fisheries and Marine Science, Brawijaya University, Malang, East Java, Indonesia

Should you need further assistance, please feel free to contact us by sending your email to parjournals@gmail.com or our website <http://parjournal.com>

Thank you for your cooperation and contribution

Best Regards,



Prof. Widodo, Ph.D.Med.Sc.

Editor in Chief – Plant and Animal Research Journal

BAB VI. RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA

1. Apakah pemberian pakan fermentasi dan induksi laserpunktur yang dibesarkan dalam kolam bioflok efisien untuk pematangan gonad induk lele betina dan jantan.
2. Apakah pemberian pakan fermentasi dapat mempesingkat waktu pemeliharaan induk dan benih lele diukur dari laju pertumbuhan spesifik (*specific growth rate, SGR*).
3. Akhir dari penelitian tahun ke dua ini secara nyata dapat menghasilkan berbagai keuntungan baik dari aspek produksi maupun aspek ekonomi.

BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN

1. Pemberian pakan fermentasi dan induksi laserpunktur dapat mempercepat pematangan gonad induk betina dan jantan ikan lele.
2. Waktu pematangan gonad induk betina tercepat dicapai 31-41 hari sedang pada induk jantan dicapai 32-37 hari pada perlakuan pakan fermentasi dan di induksi laserpunktur.
3. Pemberian pakan fermentasi dan induksi laserpunktur dapat meningkatkan jumlah benih yang dihasilkan dari pemijahan induk lele.
4. Pemberian pakan fermentasi dan induksi laserpunktur pada induk lele betina dan jantan sebelum induk dipijahkan terbukti dapat meningkatkan persentase FR, HR dan SR benih yang dihasilkan.

SARAN

1. Untuk mempersiapkan induk lele agar cepat matang gonad maka induk perlu diberi pakan fermentasi dan di induksi laserpunktur.
2. Jumlah benih ikan lele dapat ditingkatkan apabila dalam mempersiapkan induk sebelum dipijahkan diberikan pakan fermentasi dan di induksi laserpunktur.

DAFTAR PUSTAKA

- Adebayo OT (2006) Reproductive performance of African clariid catfish *Clarias gariepinus*.
- Araoye, P.A. 2001. Morphology of the gonads in the reproductive cycle of *Synodontis schall* (Pisces: Mochokidae) in Asa Lake, Ilorin, Nigeria. *Journal of Aquatic Science*, 16(2):105-110.
- Arukwe, A. and A. Goksøyr. 2003. Review. Eggshell and egg yolk proteins in fish: hepatic proteins for the next generation: oogenetic, population, and evolutionary implications of endocrine disruption. *Comparative Hepatology*, 2:21pp. March 2003. Springer Link broodstock on varying maternal stress. *J.Fish.Int.* 1(1-2):17-20.
- Brooks, S., Tyler, C. R. and J.P Sumpter. 1997. Egg quality in fish: what makes a good egg. In *Reviews in Fish Biology and Fisheries Volume 7*. Chapman & Hall: 387-416.
- Cerda, J., M. Fabra. and D. Raldua. 2007. Physiological and molecular basis of fish oocyte. Hydration. In: Babin, P.J., Cerda, J., Lubzens, E. (Eds.). *The Fish Oocyte, From Basic Studies to Biotechnological Applications*. Springer, Dordrecht, pp.350-387.
- Chong, A.S.C., Ishak, S.D., Osman, Z. and Hashim.R., 2004. Effect of dietary protein level on the reproductive performance of female swordtails *Xiphophorus helleri* (Poeciliidae). *Aquaculture* 234:381-392.
- Coldebella, I.J., Radünz Neto, J., Mallmann, C.A., Veiverberg, C.A., Bergamin, G.T., Pedron, F.A., Ferreira, D. and Barcellos, L.J.G., 2011. The effects of different protein levels in the diet on reproductive indexes of *Rhamdia quelen* females. *Aquaculture* 312:137-144.
- Ghosh, S., A. Sinha and C. Sahu, 2008. Dietary probiotic supplementation in growt and healt of live-bearing ornamental fishes. *Aquacult. Nutr.*, 14: 289-299.
- Gimenez, G., Estévez, A., Lahnsteiner, F., Zecevic, B., Bell, J.G., Henderson, R.J., Piñera J.A. and Sanchez-Prado, J.A. 2006. Egg quality criteria in common dentex (*Dentex dentex*), *Aquaculture*, 260: 232-243.
- Hariani D. 2013. Kombinasi Level Protein dalam Pakan Induk dan Induksi Laserpunktur Terhadap Profil Hormon Estrogen Ikan Lele (*Clarias* sp). Laporan Penelitian Hibah Disertasi Doktor. Univeritas Negeri Surabaya. Desember 2013.
- Hariani D., Kusuma P.S.W. dan Widodo M.S. 2010. Pemberdayaan kelompok pembenih lele untuk peningkatan produksi benih menggunakan laserpunktur sebagai upayapeningkatan pendapatan di Desa Krecek, Kecamatan Pare, Kabupaten Kediri. *Jurnal Aksi*. Vol. 12.No. 2. Hal 80-88.
- Irianto, A. and B. Austin, 2002. Probiotics in aquaculture. *J. Fish Dis.*, 25: 633-642.

- Izquierdo, M.S., H. Fernández-Palacios & A.G.J. Tacon. 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture*, 197: 25-42.
- Kapateh A.H. 2009. Effect of dietary lipid sources on the reproductive performance of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. PhD. Thesis. University of Stirling. Scotldan. UK.
- Kelly A.M. 2004. Revision. Channel catfish broodfish management. SRAC Publication No. 1802. United States Department of Agriculture, Cooperative State Research, Education, and Extension Service.
- Khairuman dan K. Amri. 2002. Budidaya Ikan lele Dumbo Secara Intensif. Agro Media. Jakarta.
- Kjorsvik, E., Hoehne-Reitan, K. and Reitan, K.I. 2003. Egg and larval quality criteria as predictive measures for juvenile production in turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture*, 227: 9-20.
- Kusuma dkk. 2015. Pemberian Kadar Protein dan Induksi Laserpunktur Sebagai Upaya Perbaikan Jumlah benih Telur dan Sperma Ikan Lele (*Clarias sp*). Laporan Akhir Hibah Bersaing.
- Kusuma dkk. 2016. Pemberian Kadar Protein dan Induksi Laserpunktur Sebagai Upaya Perbaikan Jumlah benih Telur dan Sperma Ikan Lele (*Clarias sp*). Laporan Akhir Hibah Bersaing.
- Kusuma P.S.W., Marhendra A.P.M., Aulanni'am. dan Marsoedi. 2012b. *Mekanisme Pelepasan Hormon Gonadotropin (GtH-II) Ikan Lele (Clarias sp) Setelah Di Induksi Laserpunktur Pada Titik Reproduksi*. *Journal Sains Dan Teknologi Indonesia*. Vol :12 No: 3. 209-2016.
- Kusuma P.S.W., Marhendra A.P.M., Aulanni'am. dan Marsoedi. 2012. Calcineurin Expression against the Protein Kinase C in Catfish (*Clarias sp.*) Skin Tissue following Laserpuncture Exposures at Reproduction Acupoints. *IJET-IJENS* Vol:12 No:05, Oktober, 2012.
- Kusuma P.S.W., Marhendra A.P.M., Aulanni'am. dan Marsoedi. 2012a. Mechanism of gonadotropin hormone release in catfish (*Clarias sp*) upon laserpuncture exposure to reproduction acupoint. *International Journal of Basic dan Applied Sciences IJBAS-IJENS*. December. 2012, 12(06):177-182.
- Kusuma, P.S.W. 1999. *Optimalisasi Letak Titik Dan Frekuensi Penembakan Laserpunktur (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 Peningkatan 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.
- Laleye, P., A. Chikou., P. Gnohossou., P. Vandewalle., J.C. Phillipart. and G. Teugels. 2006. Studies on the biology of two species of catfish, *Synodontis schall* and *Synodontis nigrita* (*Ostariophysi mochokidae*) from the Oueme River, Benin. *Belgium Journal of Zoology*, 136(2):193-201.
- Matty, A.J. 1985. *Fish Endocrinology*. Timber Press. Portland.
- Nagahama, Y. 1983. The Functional morphology of Teleost gonads. In. WS Hoar, Randall DJ, Donaldson EM (Eds.). *Fish physiology IX B*. Acad Press New York. pp 223 -275.
- Nilsson, S., S., Mäkelä., E. Treuter., M. Tujague., J. Thomsen., G.R. Anderson., E.Enmark., M.Warner. and J.A.Gustafsson. 2001. Reviews. Mechanisms of estrogen action. *Physiological*, 81(4), October 2001. Printed in U.S.A.
- Oyelese, O.A. 2006. Water temperature a determinant of fertilization and hatchability rates in artificially induced breeding of *Clarias gariepinus* (Teleostei: Clariidae). *Research Journal of Biological Sciences*, 1(1-4): 83-87.
- Puvaneswari, S., K. Marimuthu., R. Karuppasamy. and M.A. Haniffa. 2009. Early embryonic and larval development of Indian catfish, *Heteropneustes fossilis*. *EurAsia J BioSci*,3:84-96.
- Putra, A. N. 2010. *Kajian Probiotik, Prebiotik dan Sinbiotik Untuk Meningkatkan Kinerja Pertumbuhan Ikan Nila (Oreochromis niloticus)*. Tesis. Program Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 91 hal.
- Rocha, M. J. and E. ROCHA. 2006. Morphofunctional aspects of reproduction from synchronous to asynchronous fishes- An Overview. In: REINECKE, M., ZACCONE, G. & KAPOOR, B. (eds.) *Fish endocrinology*. Science Publishers,18,571-624.
- Shafiei Sabet, S., M.R. Imanpoor., B. Aminian Fatideh and S., Gorgin. 2009. Study on sexual maturity and levels of gonad steroid hormones in female kutum (*Rutilus frisii kutum*) Kamenskii, (1901) during spawning season from River Sefid-Rood of the southern Caspian Sea. *J Cell Animal Biol*, 3:208–215.
- Shinkafi, B.A. and J.K. Ipinjolu. 2012. Gonadosomatic index, fecundity and egg size of *Auchenoglanis occidentalis* (Cuvier and Valenciennes) in River Rima, North-Western Nigeria. *Nigerian Journal of Basic and Applied Science* (September, 2012), 20(3): 217-224.ISSN 0794-5698.
- Soetomo, M. 2000. *Teknik Budidaya Ikan lele Dumbo*. Cet.3. Sinar Baru Algensindo. Bandung.

- Taghizadeh, V., M.R. Imanpoor. and N. Mehdinejad. 2013. Study the seasonal steroid hormones of common carp in Caspian Sea, Iran. Springer *Open Journal.SpringerPlus*. 2:193. 4pp.
- Verdegem, M and E. Edding, 2010. *Aquaculture Production System*. Lectur Note. Aquaculture And Fisheries Wagenigem University.
- Yaron, Z., 1995. Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in the carp. *Aquaculture*. 129 : 49-73.
- Yustina, A. dan Darmawati. 2003. Daya Tetas dan Laju Pertumbuhan Larva Ikan Hias Betta Splendens di Habitat Buatan. *Jurnal Natur Indonesia* 5(2):129-132.