

## PERFORMANCE OF PREGNANT MARE SERUM GONADOTROPIN AND VITAMIN MIX IN INDUCING STRIPED CATFISH *Pangasianodon hypophthalmus* REMATURATION

Syifania Hanifah Samara<sup>1,2</sup> · Citra Fibriana<sup>1</sup> · Uthami Nagin Lestari<sup>1</sup> · Agus Oman Sudrajat<sup>1</sup>

**Ringkasan** *The research aimed to assess the performance of Pregnant Mare Serum Gonadotropin (PMSG) and Human Chorionic Gonadotropin (HCG) hormone injection combined with vitamin mix to induce the rematuration of Striped catfish *Pangasianodon hypophthalmus* broodstock. Three PMSG and HCG treatments of 5 and 2,5 IU; 10 and 5 IU; also 20 and 10 IU/kg of broodstock body weight dosage combined with vitamin mix addition to fish feed and one control were used with four replications. The broodstock was reared for four weeks and weekly sampling for GR and SGR as well as hormone injection were performed. For the following two weeks, the broodstock were observed for maturation. Artificial spawning was conducted for broodstock reaching gonadal maturity. Statistic analysis of observed variables showed insignificant differences among the three treatments in rematuration parameters. The rematuration rate was resulted in a 100%*

*pregnancy. Broodstock treated with 10 IU PMSG and 5 IU HCG/kg of spawner body weight was able to reach maturity and spawned with the larval survival rate on the fourth day at 84,81%, thus it can be concluded that 10 IU PMSG and 5 IU HCG/kg of body weight as the best dosage.*

**Keywords** *Striped catfish *Pangasianodon hypophthalmus*, PMSG, HCG, vitamin mix, rematuration*

Received : 02 Februari 2019

Accepted : 23 Maret 2019

### PENDAHULUAN

Ikan patin siam (*Pangasianodon hypophthalmus*) adalah salah satu komoditas budidaya ikan air tawar yang berasal dari Thailand. Ikan patin siam memiliki ciri bentuk tubuh panjang, berwarna putih keperakan pada bagian perut dan biru kehitaman pada bagian punggung. Budidaya ikan patin di Indonesia mulai dirintis oleh Sub Balai Penelitian Perikanan Air Tawar pada tahun 1980. dan menjadi satu-satunya jenis ikan patin yang dibudidayakan di Indonesia (Rummimpunu, 2017; Slembro-

<sup>1</sup>)Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. Jl. Raya Dramaga, Bogor 16680 Indonesia <sup>2</sup>)Departemen Manajemen Kesehatan Ikan dan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Airlangga, Jl. Mulyorejo, Surabaya 60115 Indonesia  
E-mail: syifania.hani@gmail.com

uck, 2005) Ikan patin adalah komoditas perikanan budidaya dengan volume produksi terbesar keenam di Indonesia pada tahun 2017 sebesar 319.967,23 ton. Budidaya ikan patin sudah dilakukan terutama di Lampung, Sumatera Selatan, Jawa Barat, dan Kalimantan.

Peningkatan produksi ikan patin siam menghadapi kendala karena induk patin memijah secara musiman terutama pada musim hujan. Pemijahan induk patin secara alami hanya terjadi 1 kali dalam setahun (Rahadiano, 2012). Hal ini dapat mempengaruhi kontinuitas benih baik dari segi jenis, jumlah, mutu dan harga yang merupakan faktor utama pendukung keberhasilan budidaya ikan.

Salah satu cara untuk meningkatkan produksi benih dapat dilakukan melalui manipulasi hormonal (Lestari 2010). Sejauh ini penelitian tentang manipulasi hormon lebih terfokus banyak pada rekayasa pemijahan dibandingkan dengan rekayasa pematangan gonad. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai rekayasa hormonal pada pematangan gonad terutama pada ikan yang sulit memijah di luar musimnya seperti ikan patin siam.

*Pregnant Mare Serum Gonadotropin* (PMSG) adalah hormon yang terdapat dalam serum famili Equidae, memiliki cara kerja merangsang pertumbuhan sel-sel interstitial dan pembentukan sel-sel lutea (Basuki, 1990). PMSG telah digunakan pada mamalia (babi dan sapi) untuk mempercepat proses maturasi agar dapat berlangsung di luar musim pemijahannya. Kombinasi PMSG dan *Human Chorionic Gonadotropin* (HCG) 10 IU HCG (perlakuan 3) per kilogram berat induk dapat menginduksi ovulasi dan membantu mempertahankan janin pada awal kehamilan (Matsuura, 2002)). Penggu-

naan PMSG dan HCG pada induk ikan patin siam diharapkan dapat memberi solusi dimana kandungan *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) sebagai hormon pengendali vitelogenesis dan *Luteinizing Hormone* (LH) sebagai hormon perangsang ovulasi dapat mempercepat rematurasi induk patin siam. Selain manipulasi hormonal, multivitamin dan antibiotik diberikan dalam bentuk vitamin mix untuk meningkatkan jumlah telur yang dihasilkan (Fibrianan, 2010). Vitamin mix adalah bahan campuran yang berisi Bacitracin MD dan berbagai macam vitamin. Vitamin C dan E dalam vitamin mix terutama bermanfaat dalam meningkatkan fekunditas ikan (Emata, 2000).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui performa PMSG dan vitamin mix dalam menginduksi rematurasi induk ikan patin. Dengan adanya induksi rematurasi ini diharapkan pemijahan ikan patin dapat dilakukan di luar musim pemijahannya.

## MATERI DAN METODE

### *Desain penelitian*

Penelitian ini menggunakan 1 kontrol negatif dan 3 perlakuan dosis penyuntikan hormon dengan 4 ulangan yaitu 5 IU PMSG dan 2,5 IU HCG (perlakuan 1), 10 IU PMSG dan 5 IU HCG (perlakuan 2), dan 20 IU PMSG dan 10 IU HCG (perlakuan 3) per kilogram berat induk. Pakan dengan vitamin mix diberikan pada semua ikan perlakuan dan induk dipelihara selama 4 minggu.

**Tabel 1** Kandungan vitamin mix

BAHAN	KANDUNGAN
Bacitracin MD	55000 mg
Vitamin A	6000000 IU
Vitamin D3	1000000 IU
Vitamin E	2000 mg
Vitamin K3	1000 mg
Vitamin B1	2000 mg
Vitamin B2	5000 mg
Vitamin B6	1000 mg
Vitamin B12	2 mg
Vitamin C	20000 mg
Ca-d-pantothenat	48000 mg
Nicotinic acid	15000 mg
Folic acid	250

### Persiapan dan pemeliharaan induk

Induk patin yang digunakan berasal dari Bogor sejumlah 16 ekor betina dengan berat awal  $0,8 \pm 0,21$  kg. Induk jantan disiapkan terpisah untuk pemijahan buatan setelah perlakuan. Induk yang akan digunakan diperiksa kematangan gonadnya menggunakan kateter lalu dipilih induk yang tidak bunting (tidak berisi telur). Kemudian induk ditimbang beratnya, diukur panjangnya, lalu dipelihara dalam kolam berukuran  $20 \times 10 \times 1,5$  m yang disekat dengan jaring menjadi 4 bagian. Induk dipuaskan selama 3 hari lalu diberi pakan yang dicampur dengan vitamin mix (Tabel 1) merek *egg stimulant* dosis 300 mg untuk 1 kg pakan.

Pakan yang digunakan adalah “Merk 781” produksi PT Central Pangan Peristiwa. Di dalam botol sprayer, 1 liter air hangat dan 3 gram vitamin mix dicampurkan lalu disemprotkan pada 10 kg pakan secara merata dan pakan diangin-anginkan. Setelah kering pakan disimpan dan diberikan pada induk ikan patin sebanyak dua kali sehari pada pagi dan sore dengan FR 3%.

### Aplikasi hormon

Hormon yang digunakan (Intervet, PG-600) mengandung 400 IU PMSG dan 200 IU HCG per ampul, terdiri dari 1 botol berisi bubuk kristal kering berwarna putih yang dibekukan dan 1 botol berisi 5 ml cairan pelarut (*solvent*). Solvent dimasukkan ke dalam botol berisi bubuk kristal dengan menggunakan syringe. Setelah itu hormon diencerkan dengan perbandingan 1 IU PMSG untuk 0,1 ml akuabides. Penghitungan dosis dan persiapan syringe dilakukan satu hari sebelum penyuntikan agar proses penyuntikan dapat berjalan lebih efektif.

Sampling dilakukan setiap minggu untuk mengukur berat dan panjang induk serta kebuntingan induk. Data berat dan pertumbuhan induk berupa *Growth Rate* (GR) dan *Specific Growth Rate* (SGR) dijadikan acuan untuk menentukan jumlah hormon PMSG dan HCG sehingga jumlah yang disuntikkan berbeda pada tiap penyuntikan. Pada pagi hari air kolam disurutkan dan induk dipindahkan ke dalam hapa untuk mempermudah penanganan. Setelah dilakukan pengukuran berat dan panjang, induk diperiksa dengan kateter untuk menentukan kebuntingan ikan. Setelah itu induk disuntik pada pangkal sirip dorsal lalu dikembalikan ke kolam dan air kolam diisi kembali. Sebelum disuntik induk dipuaskan selama 1 hari.

### Pemijahan induk

Setelah penyuntikan keempat induk dipelihara dengan pakan biasa selama dua minggu untuk observasi dan evaluasi tingkat kematangan gonad. Induk yang

sudah matang gonad dipisahkan ke kolam pemijahan, disuntik dengan chorulon. Kemudian induk jantan yang matang gonad dipilih lalu dimasukkan ke dalam kolam pemijahan induk.

#### *Pemeliharaan telur dan larva*

Setelah 24 jam induk betina dan jantan disuntik dengan ovaprim dosis 0,5 ml/kg induk. Dua belas jam setelah penyuntikan dilakukan stripping induk. Telur dan sperma dimasukkan dalam mangkuk, diberi larutan fisiologis NaCl 0,9%, dan dicampur dengan bulu ayam agar telur dan sperma merata. Setelah itu telur diambil dengan sendok makan dan ditebar ke dalam akuarium yang diberi *methylene blue* dan elbaju. Fekunditas induk, *Fertilization Rate* (FR) dan *Hatching Rate* (HR) telur dihitung, dan setelah 4 hari pemeliharaan *Survival Rate* (SR) larva diamati.

#### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Dari hasil penelitian (Tabel 2) dapat dilihat bahwa rematurasi lebih cepat terjadi pada induk perlakuan dimana beberapa induk yang disuntik PMSG matang gonad namun tidak pada induk kontrol. Induk yang mencapai matang gonad sebanyak 50% pada perlakuan PMSG 20 IU dan HCG 10 IU/kg berat induk dan 25% pada perlakuan PMSG 10 IU dan HCG 5 IU/kg berat induk.

Induk matang gonad dipijahkan dan pada perlakuan PMSG 10 IU dan HCG 5 IU/kg berat induk diperoleh data fekunditas sebanyak 154.167 butir/kg, FR 64,86%, HR 81%, dan SR 98,63%. Untuk perlakuan penyuntikan PMSG 20

IU dan HCG 10 IU/kg berat induk diperoleh data fekunditas 121.429±40.407 butir/kg, FR 47,43±1,68%, HR 56,55±2,44% serta SR 84,81±3,7%. Induk perlakuan PMSG 5 IU dan HCG 2,5 IU/kg berat induk tidak mencapai matang gonad dan tidak dipijahkan sehingga data parameter pemijahan dan diameter telur tidak tersedia.

Ikan yang telah menjadi induk pertumbuhan somatiknya relatif lambat, sehingga peningkatan berat akan diasumsikan sebagai berat gonad yang ada dalam tubuh induk. Induk ikan betina yang sedang matang telur mengalami peningkatan berat 10-25% dari berat tubuh awal, sedangkan pada induk jantan penambahan berat hanya 5-10% (Tang, 2001).

Induk-induk yang disuntik hormon PMSG dan HCG pada penelitian ini tidak mengalami peningkatan berat yang signifikan dibanding kontrol pada parameter berat akhir, GR, dan SGR, namun parameter untuk mengukur keberhasilan induksi rematurasi seperti persentase kematangan gonad memberikan hasil yang berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol.

Pemijahan dengan teknik kawin suntik hormonal (*induced breeding*) karena patin termasuk salah satu ikan yang sulit memijah secara alami (Putra, 2019). Tingkat keberhasilan teknik ini tergantung kepada tingkat kematangan gonad induk, kualitas air, pakan dan kecermatan dalam penanganan pelaksanaan penyuntikan (Bui, 2010).

*Hormon Pregnant Mare Serum Gonadotropin* (PMSG) adalah hormon yang berpengaruh terhadap aktivitas gonad. PMSG terdapat dalam konsentrasi tinggipada serum famili Equidae (kuda, keledai, zebra) yang sedang bunting muda dan dihasilkan oleh mangkok-mangkok

**Tabel 2** Hasil pemeliharaan induk ikan patin siam *Pangasianodon hypophthalmus* dengan penyuntikan PMSG dan pemberian vitamin mix pada pakan

Perlakuan	Ulangan	Bobot akhir (kg)	GR (gr/hari)	SGR (%/hari)	Induk matang gonad (%)	Rentang waktu (Minggu ke-)
Kontrol	4	1.10±0.59 a	12.02±17.23 a	0.94±1.26 a	0	N/A
PMSG 5 IU & HCG 2,5 IU	4	1.54±0.48 a	29.33±13.08 a	2.52±0.66 a	0	N/A
PMSG 10 IU & HCG 5 IU	4	1.60±0.63 a	25.96±17.87a	2.07±1.02 a	25	5
PMSG 20 IU & HCG 10 IU	4	0.88±0.19 a	6.73±5.77a	0.91±0.71 a	50	4 dan 6

**Gambar 1** Induk ikan patin siam yang matang gonad dan tidak

endometrium uterus (Allen, 1973). PMSG sudah lebih dulu digunakan dan berhasil untuk proses rematurasi pada mamalia yang berlangsung diluar musim perkawinannya. Penetapan dosis PMSG sebesar 5, 10, dan 20 IU/kg dihitung berdasarkan kalibrasi dari dosis PMSG yang umum digunakan pada hewan terestrial (Samara, 2010).

PMSG terdiri atas *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH), bekerja merangsang terbentuknya folikel, merangsang pertumbuhan sel-sel interstitial dan merangsang terbentuknya sel-sel lutea. *Human Chorionic Gonadotropin* (HCG) adalah hormon yang terdapat dalam darah maupun urine wanita hamil dan telah diketahui dihasilkan oleh plasenta. HCG memiliki potensi LH yang amat kuat dan telah digunakan untuk induksi ovulasi pada beberapa jenis lele Afrika (Tahapari, 2013)). LH dibutuhkan dalam

jumlah kecil selama masa vitelogenesis dan meningkat pada fase pasca vitelogenesis dan mencapai jumlah maksimum pada saat pematangan akhir.

Sinyal lingkungan diterima oleh sistem syaraf pusat dan diteruskan ke hipotalamus. Hipotalamus akan melepaskan *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH) yang bekerja di kelenjar hipofisis. Selanjutnya hipofisis melepaskan FSH yang bekerja pada sel teka dan mensintesis testosteron. Di lapisan granulosa, enzim aromatase akan mengubah testosteron menjadi estradiol-17 $\beta$  yang merangsang hati mensintesis vitelogenin (bakal kuning telur). Vitelogenin dibawa oleh aliran darah dan diserap oleh folikel oosit dan oosit membesar sampai ukuran maksimum yang dikenal dengan proses vitelogenesis. Telur kemudian berada dalam fase dorman menunggu sinyal lingkungan untuk pemijahan (Yaron, 2011).

Bila sinyal lingkungan untuk pemijahan diterima oleh tubuh, hipotalamus melepaskan GnRH ke hipofisis. Sebagai respon, hipofisis akan mensekresikan LH yang juga bekerja pada lapisan teka oosit dan sel teka akan mensintesis hormon  $17\alpha$ -hidroksiprogesteron. Di lapisan granulosa,  $17\alpha$ -hidroksiprogesteron kemudian akan diubah menjadi  $17\alpha,20\beta$ -dihidroksiprogesteron (*Maturation Inducing Steroid*). Steroid ini akan merangsang faktor pemicu kematangan yang menyebabkan inti telur bermigrasi ke arah mikrofil kemudian melebur. Proses pelepasan inti atau *Germinal Vesicle Break Down* (GVBD) menyebabkan folikel telur pecah dan telur akan dikeluarkan menuju rongga ovari (ovulasi). Telur yang sudah ovulasi telah matang secara fisiologis dan siap dibuahi (Zairin Jr, 2003).

Vitelogenesis merupakan proses pembentukan atau sintesis kuning telur. Proses ini diawali dengan hipotalamus melepaskan GnRH yang akan merangsang kelenjar hipofisis mensekresi FSH. Selanjutnya FSH berperan dalam proses vitellogenesis. FSH atau GTH-I bekerja pada lapisan teka di oosit, peningkatan konsentrasi FSH menyebabkan lapisan teka mensintesis testosteron yang selanjutnya pada lapisan granulosa testosteron ini akan diubah menjadi estradiol- $17\beta$  oleh enzim aromatase. Selanjutnya estradiol- $17\beta$  beredar menuju hati, memasuki jaringan dengan cara difusi secara spesifik merangsang sintesis vitellogenin atau bakal kuning telur. Vitellogenin dibawa oleh aliran darah menuju gonad lalu terjadilah penyerapan vitellogenin secara selektif di gonad oleh lapisan folikel oosit yang menyebabkan gonad membesar sampai ukuran maksimal (Herviani, 2007).

Ukuran oosit/gonad yang membesar berpengaruh terhadap bobot induk patin. Oleh karena itu, perkembangan gonad secara tidak langsung dapat diamati dengan melakukan pengukuran laju pertumbuhan harian (GR dan SGR) induk yaitu selisih antara bobot rata-rata akhir pemeliharaan dengan bobot rata-rata awal pemeliharaan dan dibandingkan dengan waktu pemeliharaan. Namun, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa SGR tidak berbeda secara statistik sehingga keberhasilan perkembangan gonad dilihat dari tingkat maturasi induk ikan patin.

Jumlah telur dan fekunditas tidak dipengaruhi oleh hormon (PMSG dan HCG), tetapi oleh egg stimulant yang mengandung BMD (*Bacitracin Methyl Disalicylate*), vitamin, serta mineral yang ada pada pakan. Fekunditas dan kualitas oosit sangat ditentukan oleh kualitas pakan yang diberikan (Abidin, 2006).

BMD adalah antibiotik polipeptida yang berasal dari bakteri *Bacillus subtilis* yang berperan mencegah infeksi bakteri *Clostridium* pada ayam serta mampu meningkatkan efisiensi pakan pada unggas. *B. subtilis* mampu hidup di lingkungan ekstrem dengan cara membentuk spora dan menghasilkan antibiotik untuk menghancurkan sesamanya sebagai cara untuk bertahan hidup. BMD menghambat sintesa dinding sel mikroba seperti *Clostridium walchii* dan menyingkirkan racun yang dihasilkan oleh mikroba tersebut. Dengan demikian, dinding usus menjadi lebih tipis dan penyerapan zat makanan lebih tinggi sehingga efisiensi pakan meningkat. Efisiensi pakan yang meningkat berarti penyerapan nutrisi lebih efisien pada proses metabolisme sehingga ketersediaan jumlah energi yang tersisa untuk pe-

manfaat lebih banyak. Sisa energi tersebut dimanfaatkan untuk reproduksi sehingga fekunditas secara tidak langsung meningkat (Koley, 2011).

Disamping BMD, unsur lain yang berpengaruh terhadap perkembangan telur dan larva adalah vitamin C dan vitamin E yang bekerja secara sinergis sebagai antioksidan dan melindungi asam lemak secara *in vivo* dan *in vitro*. Suplemen vitamin C sebanyak 1000 mg/kg pakan dapat memproduksi telur lebih banyak dibandingkan ikan dengan pakan tanpa penambahan vitamin C. Kandungan vitamin C dalam vitamin mix mencapai 20.000 mg/kg sehingga vitamin mix dapat meningkatkan fekunditas ikan patin (Bendich, 1986). Vitamin E berfungsi sebagai antioksidan untuk melindungi lemak atau asam lemak yang terdapat pada membran sel sehingga proses embriogenesis berjalan dengan normal dan hasil reproduksi dapat ditingkatkan. Hubungan vitamin E dengan vitelogenin dalam perkembangan oosit terkait dengan produksi prostaglandin. Dalam hal ini prostaglandin disintesis secara enzimatis dengan menggunakan asam lemak esensial (Miller, 2012)

Vitamin A pada dosis 1-3 µg karotenoid per gram telur dapat menentukan kualitas telur. Pada dosis tersebut dapat meningkatkan persentase penetasan lebih dari 80% dan karotenoid berfungsi sebagai respirasi dalam telur (Gunasekera, 1997; Palace, 2006). *Folic acid* atau asam folat berfungsi dalam sintesis DNA dan RNA, sangat esensial untuk meningkatkan pertumbuhan, siklus reproduksi di setiap sel, dan bekerja sama dengan vitamin B12 dalam pembentukan sel darah merah. Vitamin B12 juga berfungsi untuk meningkatk-

an pertumbuhan larva dan kelangsungan hidup larva (Waagbo, 2010).

## SIMPULAN

Induksi rematurasi induk ikan patin siam *Pangasianodon hypophthalmus* dapat dilakukan menggunakan hormon 10 IU PMSG, 5 IU HCG dan campuran vitamin mix 300 mg/kg pakan. Performa PMSG dan HCG serta vitamin mix dapat mempercepat rematurasi induk ikan patin selama 4 minggu dan peminjaman dapat dilakukan meskipun diluar musimnya.

## Pustaka

- Abidin, M. Z., Hashim, R., & Chong Shu Chien, A. (2006). Influence of dietary protein levels on growth and egg quality in broodstock female bagrid catfish (*Mystus nemurus* Cuv. & Val.). *Aquaculture Research*, 37(4), 416–418.
- Allen, W. R., Hamilton, D. W., & Moor, R. M. (1973). The origin of equine endometrial cups. II. Invasion of the endometrium by trophoblast. *The Anatomical Record*, 177(4), 485–501.
- Basuki, F. (1990). Pengaruh kombinasi hormon PMSG dan hCG terhadap ovulasi *Clarias gariepinus* (Burrill). Institut Pertanian Bogor.
- Bendich, A., Machlin, L. J., Scandurra, O., Burton, G. W., & Wayner, D. D. M. (1986). The antioxidant role of vitamin C. *Advances in Free Radical Biology & Medicine*, 2(2), 419–444.
- Bui, T. M., Phan, L. T., Ingram, B. A., Nguyen, T. T. T., Gooley, G. J., Nguyen, H. V, ... De Silva, S. S. (2010).

- Seed production practices of striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* in the Mekong Delta region, Vietnam. *Aquaculture*, 306(1–4), 92–100.
- Emata, A. C., Borlongan, I. G., & Damaso, J. P. (2000). Dietary vitamin C and E supplementation and reproduction of milkfish *Chanos chanos* Forsskal. *Aquaculture Research*, 31(7), 557–564.
- Fibriana, C. (2010). REKAYASA REMATURASI IKAN PATIN SIAM *Pangasianodon hypophthalmus* DENGAN KOMBINASI PENYUNTIKAN HORMON PMSG DAN HCG SERTA PENAMBAHAN VITAMIN MIX 100 mg/kg PAKAN. Institut Pertanian Bogor.
- Gunasekera, R. M., Shim, K. F., & Lam, T. J. (1997). Influence of dietary protein content on the distribution of amino acids in oocytes, serum and muscle of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture*, 152(1–4), 205–221.
- Herviani, I., Junior, M. Z., & Carman, O. (2003). Effect of Triiodothyronine in Different Dosages on Growth and Survival Rate of Giant Gouramy (*Osphronemus gouramy* Lac.). *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 2(2), 61–65.
- Kelautan dan Perikanan, K. (2018). Kelautan dan perikanan dalam angka 2017.
- Koley, S., & Samanta, G. (2011). Effect of Dietary Organic Acids on Feed Quality, Performance, Gut Mili-eu and Blood Profile of Starter Khasi Campbell Ducks. *Indian Journal of Animal Nutrition*, 28(3), 325–330.
- Lestari, U. N. (2010). Induksi rematurasi ikan patin siam dengan kombinasi penyuntikan hormon PMSG mix dan penambahan vitamin mix 200 mg/kg pakan. Institut Pertanian Bogor.
- Matsuura, T., Sugimura, M., Iwaki, T., Ohashi, R., Kanayama, N., & Nishihira, J. (2002). Anti-Macrophage Inhibitory Factor Antibody Inhibits PMSG-hCG-Induced Follicular Growth and Ovulation in Mice. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 19(12), 591–595.
- Miller, G. W., Ulatowski, L., Labut, E. M., Lebold, K. M., Manor, D., Atkinson, J., ... Traber, M. G. (2012). The  $\alpha$ -Tocopherol Transfer Protein Is Essential for Vertebrate Embryogenesis. *PLoS ONE*, 7(10), e47402.
- Palace, V. P., & Werner, J. (2006). Vitamins A and E in the maternal diet influence egg quality and early life stage development in fish: a review. *Scientia Marina*, 70(S2), 41–57.
- Putra, H. F. E., Rahardjo, S. S. P., & Permana, A. (2017). Pemijahan Ikan Hias Botia (*Chromobotia macracanthus* Bleeker) Secara Buatan dengan Injeksi Hormon HCG (Human Chorionic Gonadotropin) dan LHRH-A (Luteinizing Hormone Releasing Hormone Analog). *Journal of Aquaculture and Fish Health*, 6(3), 101–106.
- Rahardhianto, A., Abdulgani, N., & Triyani, N. (2012). Pengaruh Konsentrasi Larutan Madu dalam NaCl Fisiologis Terhadap Viabilitas dan Motilitas Spermatozoa Ikan Patin (*Pangasius pangasius*) Selama Masa Penyimpanan. *Jurnal Sains & Seni ITS*, 1(1), 58–63.
- Rumimpunu, A., Andaki, J. A., & Manoppo, V. E. N. (2017). POTENSI PENGEMBANGAN USAHA BUDIDAYA IKAN PATIN (*Pangasius SP*) DI DESA TATELU KABUPATEN MINAHASA UTARA. *Akulturas*, 5(9), 713–716.



- Samara, S. H. (2010). Rekayasa rematurasi ikan patin siam *Pangasianodon hypophthalmus* dengan penyuntikan hormon PMSG dan HCG serta penambahan Vitamin mix 300 mg/kg pada pakan. Institut Pertanian Bogor.
- Slembrouck, J., Komarudin, O., Masukur, M., & Legendre, M. (2005). Technical Manual For Artificial Propagation Of The Indonesian Catfish, *Pangasius djambal*. (S. Sudarto, R. Gustiano, & J. Subagja, Eds.). Jakarta: IRD, BRPBAT, BRPB, BRKP.
- Tahapari, E., & Dewi, R. R. S. S. P. (2013). PENINGKATAN PERFORMA REPRODUKSI IKAN PATIN SIAM (*Pangasianodon hypophthalmus*) PADA MUSIM KEMARAU MELALUI INDUKSI HORMONAL. *Berita Biologi*, 12(2), 203–209.
- Tang, U. M., & Affandi, R. (2001). Biologi reproduksi ikan. Intimedia. Waagbø, R. (2010). Water-soluble vitamins in fish ontogeny. *Aquaculture Research*, 41 (5), 733–744.
- Yaron, Z., & Levavi-Sivan, B. (2011). Endocrine regulation of fish reproduction. In *Encyclopedia of fish physiology: from genome to environment* (Vol. 2, pp. 1500–1508). Academic Press San Diego, CA.
- Zairin Jr, M. (2003). Endokrinologi dan perannya bagi masa depan perikanan Indonesia. Orasi Ilmiah Guru Besar Tetap Ilmu Fisiologi Reproduksi dan Endokrinologi Hewan Air Fakultas Perikanan dan Kelautan IPB. Bogor (Vol. 55).