

**INDUKSI LASERPUNKTUR PADA TITIK REPRODUKSI TERHADAP
PENINGKATAN KADAR TESTOSTERON DAN PENINGKATAN NILAI GONADO
SOMATIC INDEX (GSI) INDUK LELE JANTAN (*CLARIAS SP*)**

Pungky Slamet Wisnu Kusuma, Dyah Hariani
Universitas PGRI Adi Buana
pungky@unipasby.ac.id, dyahhariani@unesa.ac.id

ABSTRAK. Untuk mendukung aktivitas reproduksi induk lele jantan dibutuhkan nutrisi yang cukup terutama protein pakan, namun pemberian protein pakan saja tanpa diimbangi dengan induksi laserpunktur diduga kualitas sperma yang dihasilkan rendah. Tujuan penelitian untuk menguji pengaruh induksi laserpunktur pada titik reproduksi dan pemberian protein pakan 30% induk lele jantan terhadap peningkatan kadar testosteron dalam serum darah dan GSI. Penelitian eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial: faktor A (laserpunktur dan kontrol) dan faktor B lama waktu minggu (1, 2, 3 dan 4) dan diulang 3 kali. Ikan uji 32 ekor induk lele jantan matang gonad pertama kali memijah dengan bobot badan 900-1500 gram, umur sekitar 1-1,5 tahun. Parameter yang diamati pada minggu ke-1 sampai minggu ke-4 adalah menimbang berat badan, mengambildarah dan mengambil gonad dari 4 ekor induk pada setiap perlakuan. Kadar testosteron dalam serum darah diuji menggunakan metode ELISA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa induksi laserpunktur dan pemberian pakan dengan kandungan protein 30% pada induk lele terbukti dapat meningkatkan kadar testosteron dalam serum darah dan peningkatan nilai GSI sangat signifikan ($P < 0.05$). Induksi laserpunktur dan pemberian pakan dengan kandungan protein 30% pada minggu ke-3 adalah efektif untuk meningkatkan kadar testosteron dalam serum darah maupun peningkatan nilai GSI.

Kata Kunci : *laserpunktur; protein pakan; testosteron; GSI*

PENDAHULUAN

Ikan lele *Clarias* sp. merupakan salah satu komoditas ikan air tawar yang bernilai ekonomis tinggi terutama di kawasan Asia Tenggara (Thien *et al.*, 2007). Budidaya lele masih sangat diminati oleh masyarakat Indonesia karena ikan lele termasuk jenis ikan yang cepat tumbuh dan mampu mencapai ukuran besar dalam waktu relatif singkat. Permintaan pasar akan benih ikan lele terus meningkat, sementara di sisi lain ketersediaan stok induk matang gonad masih sedikit, karena sulit diproduksi dalam jumlah besar secara terus-menerus sehingga perlu dicari alternatif pemecahannya, agar ketersediaan stok induk matang gonad berkualitas unggul, baik jumlah dan dapat berlangsung terus menerus. Target produksi ikan lele yang tinggi tersebut harus diikuti dengan ketersediaan benih yang kontinu. Ketersediaan benih ikan lele bergantung pada kegiatan pemijahannya sehingga diperlukan kualitas induk yang baik. Kualitas induk yang baik ditentukan dari kualitas sperma yang baik, kualitas sperma sangat dipengaruhi salah satunya adalah pakan yang mengandung kadar protein sebesar 30-40%. Namun pemberian protein pakan saja tanpa diimbangi dengan induksi laserpunktur diduga kualitas sperma yang dihasilkan rendah.

Untuk mengatasi permasalahan tersebut diharapkan dapat segera diatasi dengan teknologi laserpunktur sebagai biostimulasi reproduksi untuk mempercepat pengadaan stok induk matang gonad. Perkembangan *germ cell* pada ikan jantan diatur oleh kelenjar pituitari yang merupakan kelenjar utama yang mengatur reproduksi dan spermatogenesis secara umum. Spermatogenesis diatur oleh hormon-hormon steroid yang dapat ditingkatkan melalui pemberian pakan berkualitas mengandung protein pakan yang memadai. Hipofisis mengontrol fungsi testis dengan memproduksi follicle stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH). Hormon FSH menstimulasi proses spermatogenesis, melalui pengaruh peran sel-sel Sertoli, sementara itu hormon LH menstimuli produksi androgen melalui peran sel-sel interstisial (sel-sel Leydig). Produksi hormon-hormon hipofisis yaitu FSH dan LH dipengaruhi oleh sekresi hormon GnRH yang diproduksi oleh hipotalamus. Sehingga secara keseluruhan peningkatan kadar GnRH

akan meningkatkan kematangan gonad pada hewan jantan (Goldstein, 2000). Untuk mempercepat proses pematangan gonad itu diperlukan teknologi yaitu melalui induksi laserpunktur. Induksi laserpunktur terbukti dapat dipakai sebagai biostimulasi reproduksi untuk mempercepat pematangan gonad induk lele betina \pm 3 minggu (Kusuma dkk., 2007) dan untuk induk lele jantan \pm 4 minggu (Mantayborbir, 2013).

Induksi laserpunktur dititik reproduksi pada induk lele betina tepatnya di 2/3 bagian ventral tubuh terbukti dapat meningkatkan produksi hormon gonadotropin (GtH) dan mempercepat pelepasan GtH dalam aliran darah (Kusuma dkk., 2012a), serta memacu proses oogenesis dan peningkatan kadar hormon estrogen dalam serum darah (Hariani, 2013), sedangkan pengaruh induksi laserpunktur pada induk ikan lele dan pemberian pakan dengan kandungan protein 30% belum diketahui apakah dapat meningkatkan kadar testosteron dalam serum darah yang selanjutnya akan mempengaruhi proses pematangan gonad induk lele jantan. Laserpunktur yang digunakan sebagai biostimulasi dalam penelitian ini adalah jenis *soft laserhelium neon* (He-Ne) yang memiliki panjang gelombang 632,8 nm, luas keluaran cahaya 0,2 cm² dan daya keluaran 5 mW/cm².

Laserpunktur yang digunakan ini memiliki panjang gelombang kisaran aman untuk dipakai sebagai biostimulasi organ biologi (Karu, 2000). Induksi laserpunktur dapat meningkatkan aktivitas seluler lebih cepat 3 minggu dibandingkan kontrol. Hal ini disebabkan induksi laserpunktur pada titik reproduksi merupakan jalur yang tercepat karena induksi laserpunktur dapat langsung menembus epidermis sampai ke dermis yang diduga mengenai ujung syaraf perifer.

Akibat depolarisasi, membran syaraf akan mengalami potensial aksi dan membran akan merespon dengan terbukanya saluran Ca²⁺ ekstraseluler. Ca²⁺ ekstraseluler akan masuk melalui *calcium sensing receptor* (CaSR) atau melalui *Voltage Gated Calcium Channels* (VGCC) (Berridge dkk., 2000; Clapham, 2007). Akibat masuknya Ca²⁺ ekstraseluler ini, Ca²⁺ akan bertemu dengan gelembung-gelembung sinaptik dan gelembung membran terbuka untuk melepaskan neurotransmitter dengan cara eksositosis ke dalam celah sinap. Selanjutnya neurotransmitter akan berikatan dengan reseptor di postsinap, dampaknya pada membran sel postsinap dapat positif (eksitatori) atau negatif (inhibitori). Jika ikatan reseptor dengan neurotransmitter di postsinap ini cocok, maka impuls akan dilanjutkan sampai akhirnya menuju otak. Di jaringan otak akan terjadi serangkaian reaksi fisiologi dalam mengaktifkan enzim *Glutamic Acid Decarboxylase-65* (GAD-65), enzim ini akan merangsang neuron GABAergik untuk mensintesis *Gama Amino Butiric Acid* (GABA) di jaringan otak. GABA akan merangsang neuron hypothalamus dan neuron hipofisis (Kusuma dkk., 2012c).

Ditegaskan oleh Kusuma dkk., (2012b) bahwa GABA merangsang neuron hypothalamus untuk melepaskan hormon gonadotropin (GnRH). GnRH selanjutnya akan merangsang neuron hipofisis untuk melepaskan hormon gonadotropin (GtH-I dan GtH-II). Selanjutnya GtH-I dan GtH-II dilepaskan secara sistemik, sehingga kadar GtH-I dan GtH-II dalam serum darah meningkat. GtH-I dan GtH-II berperandalam oogenesis dan spermatogenesis yang merangsang gonad untuk menghasilkan hormon steroid yaitu testosteron dan 17 β -estradiol. GtH-I berfungsi untuk merangsang perkembangan dan proliferasi sel Sertoli untuk menghasilkan ABP (*Androgen Binding Protein*) yang akan memacu spermatogonium untuk memulai proses spermatogenesis. GtH-II berfungsi merangsang sel intersital atau sel Leydig agar mensekresikan hormon testosteron (androgen). ICSH (*Interstitial Cell Stimulating Hormone*) berfungsi mempengaruhi dan merangsang perkembangan tubulus seminiferus dan sel Sertoli untuk menghasilkan ABP (*Androgen Binding Protein*) yang memacu pembentukan sperma.

Testosteron dan *Androgen Binding Protein* (ABP) secara bersama-sama mengendalikan proses spermatogenesis dalam menstimulasi inisiasi perkembangan spermatogenik. Umumnya perkembangan spermatogenik ini ditandai dengan bertambahnya berat gonad pada ikan jantan berkisar antara 5-10% (Cerda dkk., 1996). Salah satu indikator yang dapat digunakan untuk menilai kematangan gonad adalah bertambahnya nilai *Gonado Somatic Index* (GSI) (Poompoung dkk., 2012). Nilai GSI pada induk ikan lele dapat ditentukan secara morfologi dan histologi (Çek dan Yilmaz, 2007; Rao dan Krishnan, 2009; Poompoung dkk., 2012).

METODE PENELITIAN

Sampel penelitian ini induk lele jantan umur 1 tahun sebanyak 32 ekor dengan kisaran berat antara 850-1000 gram. Induk lele setelah ditangkap perlu diaklimatisasi pada kolam terpal berukuran 90cm x 2m x 2m yang telah diberi aerasi. Induk lele selama dalam pemeliharaan diberi pakan dengan kandungan protein 30% buatan pabrik Pokphar 781-3 produksi CP Prima diberikan sebanyak 4% dari bobot badannya. Frekuensi pemberian pakan diberikan dua kali sehari yaitu pukul 10.00 WIB dan pukul 16.00 WIB. Proses aklimatisasi induk lele jantan selama dua minggu. Setelah aklimatisasi induk lele diambil dan diinduksi laserpunktur pada titik reproduksi tepatnya di 2/3 bagian ventral tubuh selama 15 detik/minggu selama 4 minggu dan sebagai pembanding kelompok tanpa diinduksi laserpunktur. Laserpunktur yang digunakan sebagai biostimulasi dalam penelitian ini adalah jenis *soft laser* He-Ne yang memiliki panjang gelombang 632,8 nm, luas keluaran cahaya 0,2 cm² dan daya keluaran sinar laser 5 mW/cm² ekuivalen dengan 0,375 Joule/cm². Laser jenis *soft laser helium neon* (He-Ne) ini memiliki panjang gelombang kisaran aman untuk dipakai sebagai biostimulasi organ biologi (Karu, 2000). Setiap minggu induk lele jantan baik untuk kelompok kontrol maupun perlakuan diambil dan ditimbang untuk mendapatkan berat badan, diambil darahnya untuk diuji kadar hormon testosteronnya dan diambil untuk mendapatkan berat gonadnya.

Metode yang digunakan dalam pengumpulan data adalah metode eksperimen. Pada metode ini digunakan untuk menguji pengaruh induksi laserpunktur dan pemberian protein pakan 30% pada induk jantan lele terhadap peningkatan kadar testosteron dalam serum darah dan peningkatan nilai *Gonado Somatic Index* (GSI). Kadar testosteron dalam serum darah diuji dengan menggunakan KIT Elisa. Sedangkan untuk mengukur peningkatan nilai GSI dengan cara menimbang bobot badan dan penimbangan berat gonad. Hasil penimbangan bobot badan dan berat gonad diperlukan untuk penentuan nilai *Gonado Somatic Index* (GSI).

$$GSI \% = \frac{Wg}{Wt - Wg} \times 100$$

GSI : *Gonado Somatic Index*

Wg : *Weight gonad* atau berat gonad (g)

Wt : *Weight body* atau bobot badan (g) (Effendie, 2002).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa induksi laserpunktur dan pemberian pakan dengan kandungan protein 30% pada induk lele jantan terbukti dapat meningkatkan kadar testosteron dalam serum darah sangat signifikan ($P < 0.05$). Induksi laserpunktur dan pemberian pakan dengan kandungan protein 30% pada minggu ke-3 adalah efektif untuk meningkatkan kadar testosteron dalam serum darah seperti pada table 1 dibawah ini.

Tabel 1. Nilai rerata dan simpangan baku kadar testosteron (ng/ml) dalam serum darah induk lele jantan (*Clarias sp*) antara kelompok kontrol dan yang diinduksi laserpunktur.

Perlakuan	Minggu	Rerata ± Simpangan Baku Kadar Testosteron (ng/ml)
Kontrol	1	2,625 ± 0,015 ^e
	2	2,689 ± 0,043 ^e
	3	3,389 ± 0,391 ^d
	4	4,752 ± 0,425 ^b
Laserpunktur dan Pakan	1	2,647 ± 0,011 ^e
	2	4,097 ± 0,196 ^c
	3	5,811 ± 0,099 ^a
	4	2,530 ± 0,069 ^e

Nilai dalam kolom diikuti oleh huruf superscript berbeda menunjukkan berbeda secara signifikan ($P < 0,05$).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa induksi laserpunktur dan pemberian pakan dengan kandungan protein 30% berpengaruh signifikan terhadap peningkatan kadar testosteron dalam serum

darah induk lele jantan jika dibandingkan tanpa di induksi laserpunktur ($P < 0,05$). Hal ini membuktikan bahwa pemberian induksi laserpunktur pada titik reproduksi dan pemberian pakan dengan kandungan protein 30% berpengaruh terhadap peningkatan kadar testosteron dalam serum darah induk lele. Bergink dan Wallace (1974) juga menyatakan bahwa kandungan protein pada pakan memberi pengaruh terhadap peningkatan kadar testosteron dan kualitas spermatozoa yang akan dihasilkan oleh induk lele jantan. Pemberian induksi laserpunktur dan pemberian pakan 30% terbukti berpengaruh terhadap peningkatan spermatogenesis karena testosteron yang diproduksi oleh sel Leydig meningkat dan selanjutnya akan berpengaruh dalam peningkatan nilai GSI pada induk lele jantan.

Pada tahap akhir tahap perkembangan dalam spermatogenesis jumlah spermatozoa yang matang semakin banyak dan kadar testosteron dalam serum darahnya maksimal dan GSI tinggi. Semakin tinggi kadar testosteron, maka semakin tinggi pula nilai GSI-nya dan pada kondisi ini akan ditandai secara morfologi dapat dilihat dari perubahan alat kelamin eksternalnya semakin memanjang dan memerah. Induk lele jantan siap untuk dipijahkan. Pada akhir pemijahan kadar testosteron dalam serum darahnya menurun dan aktivitas spermatogenesis akan berulang kembali, pada kondisi ini induk lele jantan harus dipisahkan dengan induk lele betina dimasukkan untuk pemulihan. Pemulihan kondisi induk lele jantan akan memakan waktu yang lama bila dilakukan secara alami namun dengan teknologi rangsang laserpunktur dan diberikan pakan dengan kandungan protein 30% pemulihan kondisi induk lele jantan akan dipercepat 3 minggu dari yang seharusnya 2-3 bulan.

Di tinjau dari segi ekonomis perlakuan induksi laserpunktur dan diberikan pakan dengan kandungan protein 30% ini sangat menguntungkan bagi usaha budidaya yang bergerak dalam pembenihan. Pertama ekonomis dari segi pengadaan pakan untuk sehari-hari dan yang kedua ekonomis dalam perawatan dan tenaga kerja. Pada tahap akhir pemijahan induk lele jantan kadar testosteron dalam serum darah menurun. Untuk meningkatkan kadar testosteron kembali seperti semula induk lele jantan segera induk-induk di induksi laserpunktur dan diberikan pakan dengan kandungan protein 30% agar nilai GSI-nya maksimal kembali. Karena aktivitas spermatogenesis ini memerlukan pakan yang baik khususnya protein agar kadar testosteron yang dihasilkan meningkat.

Pada kelompok induk lele jantan yang di induksi laserpunktur dan diberi pakan dengan kandungan protein 30% dengan bertambahnya waktu pada minggu ke-1, ke-2, ke-3 dan ke-4 menunjukkan pengaruh yang signifikan ($P < 0,05$) terhadap peningkatan kadar testosteron dalam siklus reproduksi ikan lele. Pada minggu ke-3 terbukti optimal ditandai dengan berat gonad bertambah besar serta bobot badan bertambah besar sehingga nilai GSI mencapai maksimal. Sedangkan pada induk lele jantan tanpa di induksi laserpunktur GSI-nya maksimal terjadi pada akhir minggu ke-4 memasuki tahap akhir spermatogenesis dimana kadar testosteron dalam serum darahnya menurun menandakan proses steroidogenesis dan spermatogenesis sudah selesai dan GSI-nya menurun.

Hal ini menunjukkan bahwa kadar testosteron yang dicapai pada waktu pada minggu ke-1, ke-2, ke-3 dan ke-4 meningkat dan menurun. Hasil penelitian ini senada dengan Shafei Sabet *et al.* (2009), Taghizadeh *et al.* (2013) bahwa perubahan kadar testosteron dalam serum darah erat hubungannya dengan tahap-tahap perkembangan spermatozoa dalam tubuli semeniferi demikian pula pada hasil penelitian Muhammad *et al.* (2011) menyatakan bahwa indikator pematangan gonad dapat diukur dari kadar testosteron dalam plasma darah dan Wiegand (1996) menambahkan bahwa pada tahap akhir spermatogenesis kadar testosteronnya menurun. Dengan peningkatan kadar estrogen dalam hepar akibat pemberian induksi laserpunktur dan pemberian pakan dengan kandungan protein 30%, maka kadar testosteron dalam serum darah juga meningkat. Wallace dan Selman (1985) menyatakan bahwa sirkulasi estrogen dalam hepar mengendalikan sintesis testosteron. Fostier dan Breton (1975), Fortunati (1999) menyatakan bahwa estrogen diangkut dalam plasma melekat pada *Androgen Binding Protein* (ABP) dan memasuki sel hepar dengan cara difusi atau penyerapan dimediasi oleh androgen reseptor. Protein dalam pakan ini berperan dalam meregulasi banyak estrogen yang tersedia ke jaringan target (hepar) dan menjaga estrogen dari degradasi metabolik secara cepat. Produksi estrogen dapat meningkat akibat induksi laserpunktur dan pemberian pakan dengan kandungan protein 30%. Selanjutnya estrogen ini akan mentrigger sintesis testosteron, sehingga kadar testosteron dalam serum darah meningkat.

Pemberian induksi laserpunktur dan pemberian pakan dengan kandungan protein 30% terbukti dapat merangsang hipotalamus untuk melepaskan *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH), keberadaan GnRH ini selanjutnya akan mentrigger sel-sel *gonadotroph* dalam pituitary untuk memproduksi *hormon gonadotropin* (GtH) yaitu GtH-I dan GtH-II. GtH-1 berperan dalam proses spermatogenesis untuk perkembangan spermatozoa dan steroidogenesis dalam pembentukan testosteron. Testosteron yang dihasilkan oleh sel granulosa ini akan berikatan *Androgen Binding Protein* (ABP) secara bersama-sama mengendalikan spermatogenesis dalam pembentukan sperma dan menginisiasi perkembangan spermatogenik menjadi spermatozoa yang motil.

Akan tetapi jika dilihat hasil analisa data antara waktu dalam hal ini minggu, membuktikan bahwa perlakuan induksi laserpunktur dan pemberian pakan dengan kandungan protein 30% dan tanpa diinduksi laserpunktur terhadap peningkatan kadar testosteron dalam serum darah terbukti ada perbedaan signifikan ($P < 0,05$), dimana kelompok yang di induksi laserpunktur dan pemberian pakan dengan kandungan protein 30% memiliki kadar testosteron lebih tinggi jika dibandingkan tanpa di induksi laserpunktur. Pada kelompok yang diinduksi laserpunktur dan pemberian pakan dengan kandungan protein 30% kadar testosteronnya meningkat dalam serum darah pada minggu ke-3, sedangkan pada kelompok tanpa diinduksi laserpunktur kadar testosteronnya meningkat pada minggu ke-4.

Peningkatnya dan penurunan kadar testosteron dalam serum darah hasil penelitian pada kelompok ikan yang di induksi laserpunktur dan pemberian pakan dengan kandungan protein 30% ini disebabkan karena induksi laserpunktur pada titik reproduksi ikan lele (*Clarias sp*) dapat merangsang pelepasan GABA dari neuron GABAergik lebih cepat dibandingkan dengan kelompok tanpa di induksi laserpunktur. Hal ini dimungkinkan karena induksi laserpunktur pada titik reproduksi merupakan jalur paling cepat karena langsung direspon oleh ujung-ujung syaraf perifer di jaringan kulit yang selanjutnya rangsangan ini akan sampai menuju otak dan ini yang membedakan dengan kelompok tanpa di induksi laserpunktur.

Didalam otak rangsangan ini menimbulkan serangkaian aktifitas fisiologi seperti meningkat aktivitas seluler ditunjukkan dengan aktivitas Ca^{2+} dan PKC. Aktifnya ion Ca^{2+} dan PKC ini selanjutnya merangsang enzim *Glutamic Acid Decarboxylase* (GAD-65) menjadi aktif. GAD-65 berperan merangsang neuron GABAergik untuk mensintesis GABA. GABA akan merangsang neuron hipotalamus untuk melepaskan GnRH. GnRH merangsang pelepasan *hormon gonadotropin* (GtH-I dan GtH-II) dari neuron hipofisis. Didukung oleh hasil penelitian (Ng dan Idler, 1983; Tam *et al.*, 1983; Matty, 1985; Tyler, 1991; Cerda *et al.*, 1996) bahwa pelepasan GtH-I dari hipofisis akan berperan dalam merangsang pertumbuhan, steroidogenesis gonad dan gametogenesis (Peter *et al.*, 1990; Quérat, 1994; Van Der Kraak dan Wade, 1994; Gorbman, 1995). Sedangkan pelepasan GtH-II dari hipofisis akan merangsang pematangan akhir gonad, dan pemijahan.

Sedangkan pada kelompok tanpa di induksi laserpunktur kadar testosteron dalam serum darah mencapai optimal pada minggu ke-4. Hal ini diduga karena pelepasan GABA dari neuron GABAergik jaringan otak pada kelompok tanpa di induksi laserpunktur tidak serempak jika dibandingkan dengan kelompok yang di induksi laserpunktur. Pelepasan GABA dari otak tidak harus mendapat rangsang dari induksi laserpunktur saja. Karena GABA dapat mengatur ekspresinya sendiri di otak selama periode waktu 24 jam (Martyniuk *et al.*, 2005). Dimana GABA yang dilepas oleh neuron GABAergik akan merangsang pelepasan GnRH dari neuron hipotalamus dan pelepasan hormon gonadotropin (GtH-I dan GtH-II) dari neuron hipofisis. Pelepasan GtH-I dan GtH-II di sistem peredaran darah akan meningkatkan kadar hormon gonadotropin. GtH-I dan GtH-II akan merangsang steroidogenesis di gonad untuk sintesis estradiol-17 β . Estradiol-17 β akan merangsang spermatogenesis. Spermatogenesis akan dipercepat akibatnya proses pematangan gonad pada kelompok tanpa di induksi laserpunktur optimal baru dicapai pada minggu ke-4 saat ikan dibibsi.

Perbedaan waktu untuk pematangan gonad ini disebabkan karena kelompok ikan yang di induksi laserpunktur energi gelombang elektromagnetik dari sinar laserpunktur inipada titik reproduksi dapat meningkatkan aktivitas seluler 3 minggu lebih cepat dibandingkan dengan kelompok tanpa di induksi laserpunktur yang baru dicapai pada minggu ke-4. Ditunjukkan adanya peningkatan kadar testosteron secara bertahap pada minggu ke-1, ke-2, ke-3 dan ke-4. Pada kelompok yang di induksi laserpunktur dan puncaknya pada minggu ke-3 dan selanjutnya

mengalami penurunan pada minggu ke-4. Lamanya waktu perlakuan berkecenderungan menaikkan kadar testosteron dalam serum darah dan terjadi penurunan secara fluktuatif akibat perkembangan sperma. Sedangkan pemberian pakan dengan kandungan protein 30% pada kelompok tanpa diinduksi laserpunktur kadar testosteronnya juga mengalami kenaikan mulai minggu 1, minggu ke-2 dan puncaknya minggu ke-4, selanjutnya mengalami penurunan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa induksi laserpunktur dan pemberian pakan dengan kandungan protein 30% pada induksi lele jantan terbukti dapat meningkatkan nilai GSI sangat signifikan ($P < 0.05$). Induksi laserpunktur dan pemberian pakan dengan kandungan protein 30% pada minggu ke-3 adalah efektif untuk meningkatkan nilai GSI seperti pada table 2 dibawah ini.

Table 2. Nilai rerata dan simpangan baku nilai GSI (%) induk lele jantan (*Clarias sp*) antara kelompok kontrol dan yang diinduksi laserpunktur.

Perlakuan	Minggu	Rerata \pm Simpangan Baku GSI (%)
Kontrol	1	0,208 \pm 0,003 ^d
	2	0,239 \pm 0,017 ^d
	3	0,333 \pm 0,028 ^c
	4	0,411 \pm 0,009 ^b
Laserpunktur dan Pakan	1	0,210 \pm 0,005 ^d
	2	0,342 \pm 0,047 ^c
	3	0,465 \pm 0,004 ^a
	4	0,356 \pm 0,026 ^c

Nilai dalam kolom diikuti oleh huruf superscript berbeda menunjukkan berbeda secara signifikan ($P < 0,05$)

Peningkatan dan penurunan nilai *Gonado Somatic Index* (GSI) dapat digunakan sebagai salah satu indikator status perkembangan gonad dan kematangan gonad ikan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa induksi laserpunktur dan pemberian pakan dengan kandungan protein 30% berpengaruh signifikan terhadap peningkatan nilai GSI lebih tinggi jika dibandingkan induk lele jantan tanpa diinduksi laserpunktur ($P < 0,05$). Dimana perlakuan induksi laserpunktur dan pemberian pakan dengan kandungan protein 30% sangat menentukan dalam perkembangan, peningkatan ukuran gonad dan berat gonad induk lele jantan. Hal ini dimungkinkan karena kandungan protein dalam pakan sangat menentukan untuk memproduksi spermatozoa (Akankali *et al.* 2011). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan induksi laserpunktur dan pemberian pakan dengan kandungan protein 30% sudah mencukupi untuk aktivitas fisiologi di tubuh ikan baik untuk hidup pokok maupun untuk dipakai reproduksi.

Peningkatnya nilai GSI akibat di induksi laserpunktur pada titik reproduksi ikan lele (*Clarias sp*) perlakuan induksi laserpunktur dan pemberian pakan dengan kandungan protein 30% terbukti dapat merangsang pelepasan GABA dari neuron GABAergic di jaringan otak lebih cepat dibandingkan dengan kelompok tanpa diinduksi laserpunktur. Induksi laserpunktur berdaya rendah *soft laser Helium-Neon* (He-Ne) 5 mW/Cm² dengan panjang gelombang 632,8 nm, jika di induksikan selama 15 detik/titik pada titik reproduksi setara dengan 0,375 Joule/Cm²/titik reproduksi, energi gelombang elektromagnetik yang ada pada laserpunktur ini terbukti mampu menginduksi pelepasan hormon gonadotropin dari hipotalamus. Hal ini dimungkinkan karena di induksi laserpunktur dapat merangsang pelepasan neurotransmitter lebih cepat dibandingkan tanpa diinduksi laserpunktur diawali energi gelombang elektromagnetik sinar laser yang diinduksi pada titik reproduksi tepatnya di 2/3 bagian ventral tubuh, sinar laser diduga mengenai ujung-ujung syaraf perifer yang ada diantara epidermis dan dermis jaringan kulit, selanjutnya energi gelombang elektromagnetik sinar laser akan ditransduksi menjadi sinyal listrik yang akan diterima oleh berbagai reseptor membran sel syaraf seperti protein G subunit α , VGCC (*Voltage-Gated Ca²⁺ Channels*) ataupun reseptor ion kalsium seperti *Calcium Sensing Receptor* (CaSR). Sinyal listrik ini akan memacu pelepasan *second messenger* yang akan menimbulkan reaksi berantai dan membawa perubahan fisiologis di dalam membran sel syaraf.

Mekanismenya sebagai berikut jika ikan lele di induksi energi gelombang elektromagnetik dari sinar laserpunktur pada titik reproduksinya energi gelombang elektromagnetik akan dapat menyebabkan reseptor membran sel syaraf seperti protein G subunit α ini akan terfosforilasi

akibatnya enzim fosfolipase C (PLC) menjadi aktif. Aktifnya enzim PLC iniselanjutnya akan menghidrolisafosfatidil inositol bisfosfat (PIP₂) menjadi inositol trifosfat (IP₃) dan diasil gliserol (DAG) keduanya berperan dalam transduksi signal sebagai *second messenger*. Selanjutnya, IP₃ akan berikatan dengan reseptor spesifik pada *Retikulum Endoplasmik* (RE) yang terkait dengan kanal Ca²⁺ untuk merangsang pelepasan Ca²⁺ dari RE ke sitosol sehingga kadar Ca²⁺ intraseluler meningkat, akan tetapi tidak menutup kemungkinan bahwa induksi energi gelombang elektromagnetik dari laserpunktur ini jika mengenai membran sel syaraf energi gelombang elektromagnetik akan diubah menjadi sinyal listrik. Sinyal listrik ini akan menyebabkan depolarisasi membran sel syaraf.

Efek depolarisasi membran sel syaraf ini menimbulkan potensial aksi dengan terbukanyakanal ion Ca²⁺. Selanjutnya ion Ca²⁺ estraseluler masuk melalui *Calcium Sensing Receptor* (CaSR) atau melalui *Voltage Gated Calcium Channels* (VGCC) (Berridge *et al.*, 2000; Clapham, 2007). Akibat masuknya ion Ca²⁺ ekstraseluler ini ion Ca²⁺ intraseluler meningkatkan. Ion Ca²⁺ dan akan merangsang gelembung sinaptik untuk melepaskan neurotransmitter ke celah sinaptik secara eksositosis. Selanjutnya neurotransmitter berdifusi melintasi celah sinap pada hitungan milidetik.

Beberapa neurotransmitter berikatan dengan reseptor membran sel postsinap dapat berakibat positif (eksitatori) atau berakibat negatif (inhibitori) pada membran sel postsinap. Jika efek yang ditimbulkan eksitatori impuls akan dilanjutkan sampai menuju otak. Didalam otak akan terjadi serangkaian reaksi fisiologi ditunjukkan dengan meingkatnya aktifitas ion Ca²⁺ dan PKC. Aktifnya ion Ca²⁺ dan PKC akan merangsang enzim *Glutamic Acid Decarboxylase* (GAD-65) menjadi aktif. Aktifnya GAD-65 akan merangsang neuron GABAergik untuk mensintesis GABA. GABA akan merangsang neuron hipotalamus untuk melepaskan GnRH. GnRH akan merangsang neuron hipofisis dalam pelepasan hormon gonadotropin (GtH-I dan GtH-II). Didukung oleh hasil penelitian (Ng dan Idler, 1983; Tam *et al.*, 1983; Matty, 1985; Tyler, 1991; Cerda *et al.*, 1996).

Ditegaskan oleh Kusuma dkk., (2012b) bahwa GABA merangsang neuron hypothalamus untuk melepaskan hormon gonadotropin (GnRH). GnRH selanjutnya akan merangsang neuron hipofisis untuk melepaskan hormon gonadotropin (GtH-I dan GtH-II). Selanjutnya GtH-I dan GtH-II dilepaskan secara sistemik, sehingga kadar GtH-I dan GtH-II dalam serum darah meningkat. GtH-I dan GtH-II berperandalam oogenesis dan spermatogenesis yang merangsang gonad untuk menghasilkan hormon steroid yaitu testosterone dan 17β-estradiol. GtH-I berfungsi untuk merangsang perkembangan dan proliferasi sel Sertoli untuk menghasilkan ABP (*Androgen Binding Protein*) yang akan memacu spermatogonium untuk memulai proses spermatogenesis. GtH-II berfungsi merangsang sel intersitial atau sel Leydig agar mensekresikan hormon testosterone (androgen). ICSH (*Interstitial Cell Stimulating Hormone*) berfungsi mempengaruhi dan merangsang perkembangan tubulus seminiferus dan sel Sertoli untuk menghasilkan ABP (*Androgen Binding Protein*) yang memacu pembentukan sperma. Testosterone dan *Androgen Binding Protein* (ABP) secara bersama-sama mengendalikan pembentukan sperma selanjutnya dalam proses spermatogenesis dan menstimulasi inisiasi perkembangan spermatogenik.

Sebagai gambaran menurut (Cerda dkk., 1996; Poompoung dkk., 2012) umumnya pertambahan berat gonad pada ikan jantan berkisar antara 5-10%. Penambahan berat badan ini dapat digunakan sebagai salah satu indikator yang dapat digunakan untuk menilai kematangan gonad ikan jantan yaitu dengan melihat peningkatan nilai *Gonado Somatic Index* (GSI). Nilai GSI pada induk ikan lele jantan dapat pula ditentukan secara morfologi dan histologi (Çek dan Yilmaz, 2007; Rao dan Krishnan, 2009; Poompoung dkk., 2012).

Selanjutnya jika dilihat dari hasil analisa data antara waktu pada minggu ke-1, ke-2, ke-3 dan ke-4 menunjukkan semakin meningkatnya minggu nilai GSI juga semakin meningkat signifikan (P<0,05). Dimana induk ikan lele yang diberikan induksi laserpunktur dan pemberian pakan dengan kandungan protein 30% nilai GSI optimal dicapai pada minggu ke 3, sedangkan ikan lele yang hanya diberikan pakan dan tanpa di induksi laserpunktur nilai GSI optimal dicapai pada minggu ke 4. Hal ini membuktikan bahwa peningkatan dan penurunan nilai GSI sangat terkait dengan tahapan-tahapan spermatogenesis yang terjadi di didalam tubuli semeniferi. Aktivitas spermatogenesis berhubungan erat dengan kadar testosterone yang dilepas oleh sel intersitial atau sel Leydig dan apabila spermatogenesis telah selesai sebagai penggantinya yang berperan adalah GtH-II. GtH-II berfungsi merangsang sel intersitial atau sel Leydig agar mensekresikan

hormon testosteron (androgen). Testosteron dan *Androgen Binding Protein* (ABP) secara bersama-sama mengendalikan spermatogenesis dalam pembentukan sperma dan menginisiasi perkembangan spermatogenik menjadi spermatozoa yang motil.

Pada saat proses perkembangan spermatogenik ini umumnya akan diikuti dengan penambahan berat gonad pada ikan lele jantan berkisar antara 5-10%. Ikan lele bertambah besar serta bobot badan bertambah besar pula sehingga GSI-nya mencapai akan mencapai maksimal. Hasil penelitian ini sesuai dengan Araoye (2001), Laleye *et al.* (2006), Shinkafi *et al.* (2012) menyatakan bahwa nilai GSI mencapai maksimum sebelum pemijahan dan selanjutnya nilai GSI menurun setelah pemijahan berlangsung.

KESIMPULAN

Pemberian perlakuan induksi laserpunktur dan pemberian pakan dengan kandungan protein 30% dapat meningkatkan kadar testosteron dalam serum darah induk lele jantan. Pemberian perlakuan induksi laserpunktur dan pemberian pakan dengan kandungan protein 30% dapat meningkatkan nilai GSI induk lele jantan. Peningkatan kadar testosteron dalam serum darah dan nilai GSI induk lele jantan optimal dicapai pada minggu ke-3, sedangkan pada kelompok tanpa di induksi laserpunktur baru dicapai pada minggu ke-4.

Perlakuan induksi laserpunktur dan pemberian pakan dengan kandungan protein 30% dapat meningkatkan kadar testosteron dalam serum darah induk dan dapat meningkatkan nilai GSI induk lele jantan. Sehingga teknologi ini sangat dimungkinkan dapat dipakai secara luas di masyarakat khususnya yang bergerak di sektor pembenihan ikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Akankali, J.A., E.I. Seiyaboh, and F.N. Abowei. 2011. Fish hatchery management in Nigeria. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 3(2): 144-154.
- 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.
- Berridge M. J., Lipp P. dan. Bootman M. D. 2000. The versatility dan universality of calcium signalling. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 1: 11-21.
- 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.
- Clapham D. E. 2007. Calcium signaling. *Cell* . 131: 1047-1058.
- García-López Á, Bogerd J, Granneman JC, van Dijk W, Trant JM, Taranger GL, Schulz RW. 2009. Leydig cells express follicle-stimulating hormone receptors in African catfish. *Endocrinology* 150: 357–365.
- Goldstein, I. (2000). Male sexual circuitry. *Scientific American* 26(2): 70-75.
- Gorbman, A. 1995. Olfactory origins and evolution of the brain–pituitary endocrine system: facts and speculation *General and Comparative Endocrinology* 97 : 171–178.
- 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.
- Karu, T. I. 2000. Cellular mechanisms of low power laser therapy. *Institute on Problems of Laser dan Informatic Technologies of Russian Academy of Sciences*. <http://www.mededgeinc.com/nquest.pdf>.

- Kusuma P.S.W., Hariani D., Mukti A.T. dan Satyantini W.A. 2007. Aplikasi Teknologi Laser untuk Peningkatan Produksi Lele dalam Rangka Pengembangan Ekonomi Masyarakat Desa di Kabupaten Boyolali Jawa Tengah. LP3K Kabupaten Boyolali. Boyolali.
- 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., Agung P.M. Marhendra., Aulanni'am and Marsoedi. 2012b. Calcineurin expression against the protein kinase C in catfish (*Clarias sp.*) skin tissue following laserpuncture exposures at reproduction acupoints. *International Journal of Engineering & Technology. IJET IJENS*, 12(05):97-100.
- Laleye, P., A. Chikou., P. Gnohossou., P. Vandewalle., J.C. Phillippart. 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.
- Loshin, L.L. and H.H. Ibrahim. 1988. *Effects of broodstock exchange on Oreochromis niloticus egg and fry production in net enclosures*. The Second International Symposium on Tilapia in Aquaculture. ICLARM Conference Proceeding 15. p : 623.
- Mantayborbir, V. 2013. Eksplorasi Pengaruh Pemaparan Laserpunktur pada Titik Reproduksi Terhadap Peningkatan Jumlah Sel Leydig Ikan Lele (*Clarias sp*). Tesis. Program Pacasarjana. Program Studi Budidaya Perairan. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Brawijaya Malang.
- Martyniuk CJ, Gerrie ER, Popescu JT, Ekker M, Trudeau VL. 2007. Microarray analysis in the zebrafish (*Danio rerio*) liver and telencephalon after exposure to low concentration of 17alpha-ethinylestradiol. *Aquat Toxicol*; 84: 38-49.
- Matty, A.J. 1985. *Fish Endocrinology*. Timber Press. Portland.
- Muhammad, N.A., A. Christianus., S.K. Daud., C.R. Saad., S.A. Harmin. and M.Y. Ina-Salwany. 2011. Estrogen-induced vitellogenin in *Tor tambroides* (Bleeker, 1854): Purification, characterization and Elisa development. *J. Fish. Aquat. Sci* 6(7):700-714.
- NgT, B and D.R. Idler. 1983. Yolk formation and differentiation in teleost fishes. *Fish Physiology*. 9 : 373-404.
- Ohta T, Miyake H, Miura C, Kamei H, Aida K, Miura T. 2007. Follicle-stimulating hormone induces spermatogenesis mediated by androgen production in Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Biology Reproduction* 77:970-977.
- Peter, R.E., K.L. Yu, T.A. Marchant and P.M. Rosenblum., 1990. Direct neural regulation of the teleost adenohypophysis. *Journal of Experimental Zoology (Supplement)* 4 : 84 - 89.
- Poompoung P., Poompuang S. dan Kamonrat W. 2012. Effects of warm temperatures on ovarian development of walking catfish *Clarias macrocephalus* (Günther, 1864) during post-spawning season. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)*. 46 : 759 - 768.
- Quérat, B. 1994. Molecular evolution of the glycoprotein hormones in vertebrates. In *Perspectives in Comparative Endocrinology* pp 27-35 Eds KB Davey, RE Peter and SS Tobe. National Research Council of Canada, Ottawa.
- Rao, A.C. and L. Krishnan. 2009. Studies on the reproductive biology of the female spiny cheek grouper, *Epinephelus diacanthus* (Valenciennes, 1828) *Indian J. Fish*, 56(2): 87-94.
- Schulz RW, Liemburg M, García-López Á, van Dijk W, Bogerd J. 2008. Androgens modulate testicular androgen production in African catfish *Clarias gariepinus* depending on the stage of maturity and type of androgen. *General and Comparative Endocrinology* 156: 154-163.

- 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*, 20(3): 217-224. September, 2012.
- 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
- Tan-Fermin, J.D., S. Ijiri, H. Ueda, S. Adachi and K. Yamauchi. 1997. Ovarian development and serum steroid hormone profiles in Hatchery-bred female Catfish *Clarias macrocephalus* (Gunther) during an annual reproductive Cycle. *Fisheries Science*. 63 : 867-872.
- Thien PC, Dalsgaard A, Thanh BN, Olsen A, Murrell KD. 2007. Prevalence of fishborne zoonotic parasites in important cultured fish species in the Mekong Delta, Vietnam. *Parasitology Research* 101: 1.277–1.284.
- Tyler, C. 1991. Viteollogenesis in Salmonid. In Scott AP, Sumpter JP, Kime DE and Rolfe MS (Eds). *Proceedings of the Fourth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish*. University of East Anglia. Norwich. pp. 295-299.
- Van Der Kraak, G. and M.G. Wade. 1994. A comparison of signal transduction pathways mediating gonadotropin actions in vertebrates. In *Perspectives in Comparative Endocrinology*, KB Davey, RE Peter and SS Tobe. National Research Council of Canada, Ottawa pp: 59–63.
- Çek, Ş. and E. Yilmaz. 2007. Gonad development and sex ratio of Sharptooth Catfish (*Clarias gariepinus* Burchell, 1822) cultured under laboratory conditions. *Turk. J. Zool*, 31:35-46.