

Uji kandungan *Testosteron* pada Udang Galah setelah Perendaman dengan Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria scabra* Jaeger)

Haryo Triajie

Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Pertanian, Univesirtas Trunojoyo

E-mail: haryo_unijoyo@yahoo.com

Abstrak

Testosteron sebagai hormon steroid merupakan hormon yang bersifat anabolik dan androgenik. Sifat androgenik lebih menonjol karena sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan organ reproduksi, organ seksual sekunder dan kelenjar aksesoris kelamin. Teripang mengandung zat bioaktif berupa senyawa steroid. Penelitian ini bertujuan mengetahui tingkat kandungan testosteron pada juvenile udang galah terhadap keberhasilan mendapatkan jantan fenotif. Perlakuan pemberian ekstrak teripang pada juvenil udang galah dengan metode perendaman (dipping), menggunakan empat perlakuan dosis yaitu 0, 10, 15, dan 25 mg/L dan 3 ulangan dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan dua kontrol positif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan perendaman ekstrak teripang berpengaruh terhadap kandungan testosteron dalam haemolymph udang windu.

Kata kunci: Testosteron, teripang, udang galah

Abstract

Testosterone as a steroid hormone is a hormone that has anabolic and androgenic. Androgenic properties are more prominent because it influences the growth of reproductive organs, secondary sexual organs and accessory genital glands. Sea cucumbers contain bioactive substances in the form of steroid compounds. This study aimed to identify levels of testosterone in juvenile prawns to the success of getting male phenotypes. Treatment of extract of sea cucumber in juvenile prawns with immersion method (dipping), using a four-dose treatment of 0, 10, 15, and 25 mg / L and 3 replications with a Completely Randomized Design (CRD) and two positive control. The result showed that the extract of sea cucumber soaking effect on testosterone content in shrimp haemolymph.

Keywords: Testosterone, sea cucumbers, prawns

Pendahuluan

Potensi udang galah jantan sebagai komoditas budidaya perikanan air tawar cukup besar untuk dikembangkan, karena memiliki kelebihan antara lain: memiliki laju pertumbuhan yang relatif cepat dibandingkan yang betina di mana dalam 3 bulan pemeliharaan dapat mencapai bobot tiga kali lebih besar dari betina yaitu 42–102 g/ekor dengan panjang ± 25 cm/ekor (Bardach dalam Hadie *et al.*) [7], sehingga pemeliharaan udang galah yang berjenis kelamin jantan yang dihasilkan melalui teknologi *sex reversal* dalam kegiatan budidaya akan lebih menguntungkan.

Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Riani *et al.* [14] dan Kustiariyah [9], menjelaskan bahwa ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra* Jaeger) mengandung senyawa steroid. Ekstraksi dari 1 kg daging basah sebesar 12,96 g (1,296%) ekstrak mengandung senyawa steroid. Hasil analisis GC-MS dan NMR menunjukkan bahwa berat molekul steroid

ekstrak teripang adalah 288,42 merupakan jenis testosteron. Identifikasi dan karakteristik steroid hasil ekstraksi daging teripang dengan menggunakan *Thin Layer Chromatography* (TLC) dan pengamatan dengan sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm didapatkan fraksi dengan nilai Rf (*Retardation factor*) 0,91 yang menunjukkan bahwa ekstrak teripang mengandung testosteron dan 0,96 sebagai kolesterol.

Berkaitan dengan efektivitas hormon steroid menurut Arisandi [1] pemberian hormon dari ekstrak daging teripang melalui perendaman selama 24 jam dengan dosis 2 mg/l mampu mengarahkan juvenil udang galah menjadi jantan sebesar 49,65%. Hadie *et al.* [7] juga menjelaskan bahwa pemberian hormon 17 α -metiltestosteron selama 24 jam sebesar 25 mg/L pada larva udang galah menghasilkan 82,22% jantan. Sarida [15] menyatakan dengan dosis MT 10 mg/kg pakan ditambah dengan AI 2000 mg/kg dapat meningkatkan jumlah jantan udang galah sebesar 77,77%. Pemberian 30 mg/l AI pada suhu 28–32° C meningkatkan prosentase jantan pada larva ikan lele

sebesar 72,3–72,5% [11]. Ikan nila dengan pemberian FAD menghasilkan populasi jantan 100% (Afonso dan Kwon *et al.* dalam Kulh dan Brouwer) [8]. TBT 100 ng/l yang diberikan pada ikan zebra yang dipelihara selama 30 hari menghasilkan populasi jantan 100% (McAllister dan Kime dalam Kulh dan Brouwer) [8].

Yamazaki [18] menyatakan bahwa secara fisiologis jenis kelamin ikan dapat diarahkan dengan menggunakan hormon steroid. Perlakuan hormon dilakukan pada periode labil yaitu sebelum gonad berdiferensiasi saat masih sensitif terhadap perlakuan hormon. Piferrer [13], juga menjelaskan bahwa sensitivitas hormon steroid terhadap perkembangan diferensiasi sangat tergantung pada fase perkembangan gonad yang terjadi, sehingga puncak sensitivitasnya terjadi setelah fase pembelahan sel jaringan gonad atau sebelum jaringan gonad terdiferensiasi.

Penelitian untuk mengetahui efektivitas ekstrak teripang pasir melalui teknik perendaman terhadap peningkatan kandungan testosteron pada *haemolymph* pada udang galah masih sangat terbatas, sedangkan informasi tentang efektivitas ekstrak teripang belum banyak dilakukan, oleh karena itu perlu segera dilakukan penelitian sebagai salah satu alternatif untuk memecahkan masalah tersebut.

Metode Penelitian

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian akan dilakukan di Sub Unit Pembenuhan Udang Galah (SUPUG) Pelabuhan Ratu, Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Tawar (BBPBAT) Sukabumi, Laboratorium Terpadu FKH IPB, Laboratorium Fisiologi FKH IPB dan Laboratorium Isotop/Radioaktif Balai Penelitian Ternak Ciawi Bogor, dari bulan Juli 2007 sampai dengan bulan Desember 2007.

Metode dan desain penelitian

Perlakuan ekstrak teripang pada juvenil udang galah dengan metode perendaman (*dipping*), menggunakan empat perlakuan dan 3 ulangan dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan dosis ekstrak teripang dengan 4 (empat) taraf perlakuan yaitu 0, 10, 15, dan 25 mg/L Dilakukan juga 2 (dua) perlakuan kontrol positif. Perlakuan yang diujikan adalah sebagai berikut:

- A. Tanpa pemberian (Kontrol negatif)
- B. Konsentrasi 10 mg/L
- C. Konsentrasi 15 mg/L

D. Konsentrasi 25 mg/L

K1. 17 α -metiltestosteron konsentrasi 25 mg/L (kontrol positif).

K2. Aromatase *Inhibitor* (Imidazole, 1,3-Diaza-2,4-Cyclopentadiene,) konsentrasi 30 mg/L (kontrol positif).

Desain waktu evaluasi

Juvenil udang galah dipelihara selama 30 hari atau sampai ciri kelamin sekundernya terlihat jelas. Evaluasi kandungan testosteron dalam *haemolymph* dilakukan diakhir penelitian.

Pengukuran suhu, oksigen terlarut dan pH dilakukan setiap hari sebelum pemberian pakan yaitu pada pukul 06.00 WIB dan 17.00 WIB.

Variabel penelitian

- i. Uji Kadar Testosteron dalam hemolymph
Uji ini dilakukan dengan menggunakan Kit dengan nama *COAT A COUNT Total Testosteron, Diagnostic Products Corporation Los Angeles CA, USA*
- ii. Karakterisasi ekstrak teripang
Karakterisasi ini dilakukan melalui dua uji yaitu karakterisasi fisik dan karakterisasi kimia melalui uji proximat.

Teknik Pengumpulan Data Bahan

Ekstrak teripang alami diperoleh dari ekstrak daging teripang pasir, sedangkan hormon sintesis yang digunakan adalah 17 α -metiltestosteron (produk Argent Chemical Lab. Inc. Redmond WA USA dan Aromatase *Inhibitor* (produk WAKO Pure Chemical Industries Ltd, Jepang).

Hewan uji yang digunakan adalah juvenil udang galah (*Macrobrachium rosenbergii* de Man) hasil budidaya di Sukabumi berukuran panjang \pm 12 mm. Selama perlakuan, pakan yang diberikan pada udang berupa pakan buatan. Air media pemeliharaan dalam bak adaptasi dan bak pengamatan bersalinitas 10 g/kg. Wadah pemeliharaan udang setelah perlakuan berupa bak plastik bervolume 20 L.

Metode pengukuran

Pada penelitian ini ada beberapa variabel yang diukur menggunakan metode *Coat A Count Total Testosteron* untuk menghitung kadar Testosteron dan

mengkarakterisasi ekstrak teripang dengan cara diamati secara fisik dan kimia

Prosedur Pelaksanaan

i. Persiapan wadah pemeliharaan

Persiapan wadah meliputi bak adaptasi, bak pengamatan. Bak dicuci agar bebas dari kotoran dan bakteri yang merugikan, menggunakan kaporit (CaOCl) 10 ppm. Dibilas dengan air bersih, dan dibiarkan sampai 24 jam baru digunakan.

ii. Persiapan air media pemeliharaan

Mempersiapkan air media pemeliharaan dalam bak adaptasi dan bak pengamatan bersalinitas 10 g/kg.

iii. Seleksi juvenil

Seleksi juvenil udang galah dilakukan secara morfologis, berdasarkan ciri-ciri morfologisnya seperti ukuran panjang, kelengkapan organ, warna tubuh dan umur.

iv. Uji kadar testosteron dalam *hemolymph*

Uji ini dilakukan dengan menggunakan Kit dengan nama *COAT A COUNT Total Testosteron, Diagnostic Products Corporation Los Angeles CA, USA* dengan tujuan mengukur kadar kolesterol yang telah diberikan melalui perlakuan perendaman ekstrak teripang dalam air media di dalam serum darah juvenil udang galah jantan diakhir penelitian (hari ke-30).

v. Karakterisasi ekstrak teripang

Karakterisasi ini dilakukan melalui dua uji yaitu karakterisasi fisik berupa warna, berat, bau serta tekstur dengan dan karakterisasi kimia melalui uji proximat. Karakterisasi pertama pada saat formulasi ekstrak kasar selesai dibuat.

Analisis data

Untuk mengetahui apakah perlakuan ekstrak memberikan pengaruh nyata terhadap kandungan testosteron, maka digunakan analisa keragaman atau uji F sesuai dengan rancangan yang digunakan yaitu rancangan acak lengkap (RAL) Faktorial. Apabila nilai F berbeda nyata (*significant*) atau berbeda sangat nyata (*highly significant*) dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk menemukan perlakuan yang memberikan respon terbaik pada taraf 0,05 (derajat kepercayaan 95%).

Hasil dan Pembahasan

Kadar testosteron dalam *hemolymph*

Uji kadar testosteron dalam *hemolymph* udang galah jantan diakhir penelitian (hari ke-30) baik dengan menggunakan *COAT A COUNT Total Testosteron* ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Kadar testosteron pada setiap perlakuan

Berdasarkan Gambar. 1 menunjukkan bahwa kadar testosteron pada udang galah jantan terendah terdapat pada perlakuan kontrol (negatif) dan tertinggi pada udang galah jantan perlakuan dosis 25mg/L (perlakuan K1).

Karakterisasi Fisik

Karakterisasi fisik terhadap ekstrak kasar teripang sejak ekstrak tersebut dibuat sampai dengan disimpan selama 30 hari dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakterisasi Fisik

Karakterisasi Fisik	Ekstrak	Keterangan
Warna	Kuning terang	Tidak terjadi perubahan warna
Aroma/bau	Amis	-
Tekstur	Halus	Tidak terjadi perubahan tesktur
Berat (mg)	25	Tidak terjadi perubahan berat yang signifikan

Pada Tabel 1 terlihat dengan jelas bahwa secara keseluruhan tidak terjadi perubahan fisik ekstrak sejak ekstrak tersebut dibuat, setelah diformulasikan dan setelah disimpan selama 30 hari pada suhu 4° C baik dari segi warna, aroma, tekstur dan berat

Karakterisasi Kimia

Karakterisasi kimia ekstrak teripang ini dilakukan melalui uji proximat, bertujuan untuk mengetahui komponen-komponen yang terkandung di dalam bahan baku dan ekstrak teripang (lihat Tabel 2).

Tabel 2. Karakterisasi kimia teripang berdasarkan uji proximat

No	Komponen	Kandungan (%)		
		Daging Basah	Daging Kering	Ekstrak
1	Air	89,82	7,525	98,12
2	Abu	13,25	24,06	0,125
3	Protein	4,585	64,255	0,352
4	Lemak	2,12	1,46	1,14

Berdasarkan tabel 2 terlihat bahwa komponen air, abu, protein dan lemak khususnya pada ekstrak teripang baik sebelum diformulasikan, ekstrak yang telah diformulasikan dan ekstrak yang telah diformulasikan maupun telah disimpan dalam suhu 4° C dapat dikatakan tidak mengalami perubahan.

Pembahasan

Ekstrak teripang, 17 α -metiltestosteron dan *Aromatase Inhibitor* yang mengandung steroid merupakan hormon androgenik, sehingga bertambahnya level testosteron dalam tubuh udang galah dapat mengarahkan terbentuknya kelamin. Matty [12] menyatakan bahwa kerja hormon tidak harus melalui pembuluh darah, tetapi dapat beraksi dengan cara difusi melalui membran sel di sekitar tempat hormon beredar menuju ke organ target dan berinteraksi langsung dengan reseptor pada *juxtaposed cell*.

Mekanisme kerja hormon pada metode *dipping* secara difusi melalui kulit, insang dan organ pencernaan. Menurut Connell dan Miller [4], absorpsi komponen-komponen terlarut dalam air yang melalui insang biasanya cukup besar. Absorpsi yang melalui saluran pencernaan hanya sedikit, walaupun komponen terlarut dalam air yang masuk melalui saluran pencernaan biasanya cukup besar, sedangkan yang masuk melalui kulit jumlah dan absorpsinya relatif kecil.

Tubuh udang tertutup oleh kutikula keras dari bahan kitin [17], sehingga penetrasi hormon melalui kulit hanya sedikit. Sebaliknya saat udang moulting absorpsi relatif besar, karena setelah kutikula lepas

selanjutnya tubuh udang membesar disertai absorpsi air sampai akhirnya terbentuk lapisan kutikula baru yang keras [3]. Saat perlakuan *dipping* juvenile mengalami moulting, walaupun absorpsi ekstrak teripang yang melalui kulit relatif kecil.

Testosteron merupakan steroid yang mudah mengalami metabolisme secara cepat setelah absorpsi atau inaktivasi secara cepat dalam saluran cerna sebelum absorpsi [6]. Hal tersebut menyebabkan, hormon yang masuk melalui saluran cerna sebagian terakumulasi dalam hepatopankreas dan selanjutnya mengalami metabolisme, sebagian diabsorpsi melalui lumen usus untuk dibawa menuju ke organ target. Larva udang galah yang diberi perlakuan adalah yang berumur 30 hari setelah menetas (HSM) yang kemudian dipelihara selama 30 hari dengan pertimbangan waktu kritis untuk memungkinkan terjadinya proses

Perlakuan pemberian ekstrak teripang pada udang galah menghasilkan persentase kandungan testosteron yang berbeda nyata dengan kontrol negatif, tetapi tidak berbeda nyata terhadap perlakuan kontrol positif sehingga hasil ini menerangkan bahwa pemberian ekstrak teripang memberikan pengaruh terhadap kandungan testosteron pada udang galah.

Rendahnya persentase kandungan testosteron pada perlakuan A (kontrol) 12,048% dan perlakuan C (15 mg/L) 13,114% dalam penelitian ini diduga disebabkan oleh waktu perendaman yang kurang optimum sehingga perubahan level hormon yang diduga masuk ke dalam tubuh melalui proses difusi, kulit dan organ pencernaan yang kemudian menuju kearah organ target. Sedangkan untuk dosis ekstrak teripang tidak berpengaruh nyata.

Eksresi dan aktivitas ekstrak teripang di dalam tubuh udang galah yang dibawa menuju organ target diduga menyebabkan terjadinya perubahan androgen menjadi estrogen sehingga pembentukan kelamin jantan tidak terjadi pada semua individu yang diberi perlakuan.

Ketika larva udang galah direndam dalam larutan ekstrak teripang, ekstrak teripang yang larut dalam air pemeliharaan akan terserap secara difusi ke dalam tubuh melalui insang, kulit, dan organ pencernaan. Menurut Chang dan Yeung [2], faktor luar yang juga berpengaruh antara lain suhu, cahaya, radiasi, kualitas air.

Pengaruh suatu bahan pada organisme dalam teknik pengarahan kelamin dapat dilihat melalui beberapa parameter antara lain rasio jenis kelamin, tingkat kelangsungan hidup dan laju pertumbuhan harian. Sedangkan tingkat keberhasilan suatu bahan dalam

memengaruhi jenis kelamin dipengaruhi oleh umur organisme, lama waktu pemberian, waktu pemberian, dosis pemberian, serta faktor lingkungan. Lama perlakuan juga memengaruhi keefektifan kerja ekstrak teripang dalam merangsang pengarah pembentukan kelamin jantan. Kedua hal ini dapat dilihat dari pola grafik yang menunjukkan adanya peningkatan setiap penambahan dosis perendaman.

Menurut Connell dan Miller [4] toleransi averteberata air terhadap senyawa organik sintetik terlarut sangat rendah. Pada konsentrasi tertentu senyawa organik sintetik dapat menyebabkan terganggunya metabolisme dalam tubuh dan mengakibatkan kematian. Konsentrasi hormon sintesis terlarut yang masuk ke dalam tubuh udang berbeda-beda, akibatnya udang yang mengabsorpsi hormon dengan konsentrasi yang tinggi menjadi tumbuh jauh lebih cepat dari udang-udang yang lain.

Hasil analisis kandungan testosteron dalam *hemolymph* tidak berbeda nyata ($p > 0,05$), walaupun tidak berbeda nyata, terlihat bahwa terdapat peningkatan level testosteron dalam *hemolymph* pada setiap peningkatan dosis perlakuan jika dibanding kontrol (kontrol negatif). Terkait dengan peningkatan level testosteron, jumlah udang galah berkelamin jantan, mempunyai jumlah persentase udang galah berkelamin jantan tertinggi. Laufer dan Landau [10] menjelaskan bahwa, hormon-hormon androgenik dapat juga menimbulkan respon vitelogenik pada udang, walaupun hanya diberikan pada dosis farmakologis, sehingga dapat mengarahkan individu yang terbentuk menjadi jantan. Menurut Craig dan Stitzel [5], testosteron merupakan hormon androgen (laki-laki/jantan) yang diproduksi saat hewan sudah dewasa atau matang gonad. Hormon ini berfungsi sebagai hormon pengatur pertumbuhan organ, kelamin sekunder, perilaku seksual dan fungsi reproduksi, serta mempunyai efek anabolik protein yaitu meningkatkan sensitivitas tulang, massa sel darah merah dan massa otot.

Kualitas air dan pakan yang cukup selama penelitian akan mendukung kelangsungan hidup yang tinggi. Hasil analisis kualitas air selama penelitian masih mendukung pemeliharaan udang galah. Menurut Setyohadi, Wiadnya dan Soemarno [16], konsentrasi oksigen terlarut yang baik bagi udang galah antara 4 mg/L sampai 9 mg/L. Parameter suhu, pH dan oksigen terlarut pada unit-unit penelitian telah sesuai dengan kisaran hidup yang dibutuhkan udang galah, sehingga hanya perlakuan yang memengaruhi hasil penelitian ini.

Simpulan

Simpulan dari penelitian mengenai efektivitas ekstrak teripang yang telah diformulasikan untuk memanipulasi kelamin udang galah adalah pemberian ekstrak daging teripang yang digunakan dalam maskulinisasi melalui metode perendaman (*dipping*), secara efektif memengaruhi juvenil berkembang menjadi jantan secara fenotipe, sehingga jumlah udang galah jantan lebih besar dari udang galah betina.

Metode perendaman dengan dosis ekstrak teripang 10 mg/L, 15 mg/L dan 25 mg/L, dapat meningkatkan kandungan testosteron sehingga populasi jantan lebih tinggi.

Daftar Pustaka

- [1] Arisandi, A., 2006. “Efektivitas Ekstrak Steroid Teripang untuk Memanipulasi Kelamin Udang Galah”, Tesis, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor
- [2] Chan, S.T.H., Yeung, W.S.B., 1983. “Sex control and sex reversal in fish under natural condition”, di dalam: Hoar, W.S., Randall, D.J., Donaldson, E.M., editor. Fish Physiology. Vol IXB. New York: Academic Press.
- [3] Chang, E.S., 1991. “Crustacean Molting Hormones: Cellular effects, role in reproduction, and regulation by molt-inhibiting hormone”. Frontiers of shrimp research. Edited by: DeLoach, P.F., Dougherty, W.J., Davidson, M.A., Elsevier. USA. Pp. 83–105.
- [4] Connell, D.W., and Miller G.J., 2006, “Kimia dan Ekotoksikologi Pencemaran”. Penerjemah: Koestoer, Y. Judul asli: “Chemistry and Ecotoxicology of Pollution”. Tahun 1995. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta. 520 hal.
- [5] Craig, C.R., Stitzel, R.E., 1997, “Modern pharmacology with clinical application. Boston”, Little brown and Company.
- [6] Fulierton, D.S., 1980, “Steroid dan Senyawa Terapeutik Sejenis”. Buku teks Wilson dan Gisvold. Kimia farmasi dan medicinal organik. Editor: Doerge, R.F. edisi VIII, bagian II. J.B. Lippincott Company. Philadelphia – Toronto. USA. Hal. 675–754.
- [7] Hadie, W., Hadie, Kusmini, Sofiawati, 2001, “Efektivitas hormon 17 β -metiltestosteron terhadap nisbah kelamin larva udang galah

- (*Macrobrachium rosenbergii*)', *Prosiding workshop hasil penelitian budidaya udang galah*. Jakarta. Pusat riset perikanan budidaya. Badan riset kelautan dan perikanan. Departemen kelautan dan perikanan. 26 Juli 2001. hal 98–102
- [8] Kuhl, A.J., dan Brouwer, M., 2005, "Anti estrogen inhibit xenoestrogen-induced brain aromatase activity but do not prevent xenoestrogen-induced feminization in Japanese Medaka (*Oryzias latipes*)", *Environmental Health Perspectives* Vol. 114/4. April 2006.
- [9] Kustiariyah, 2006, "*Isolasi dan Uji Aktivitas Biologis Senyawa Steroid dari Teripang sebagai Aprosidiaka Alami*", Thesis, Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- [10] Laufer, H., and Landau, M., 1991, "*Endocrine Control of Reproduction in Shrimp and Other Crustacea. Frontiers of shrimp research*", Edited by: DeLoach, P.F., Dougherty, W.J., Davidson, M.A., Elsevier. USA. Pp. 65–81.
- [11] Massenreng, 2007, "Pengaruh suhu dan dosis aromatase inhibitor (imidazol) terhadap seks reversal pada ikan lele (*Clarias sp*)", Tesis, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- [12] Matty, A.T., 1985, "*Fish Endocrinology. Croom Helm*", Timber press. Oregon. USA.
- [13] Piferrer, F., 2001, "Endocrine Sex control Strategies for Feminization of Teleost Fish" *Aquaculture* 197: 229–281.
- [14] Riani, E., Syamsu, K., Kaseno, Nurjanah, S., Kurnia, 2005, "*Pemanfaatan Steroid Teripang Sebagai Aprosidiaka Alami*", Laporan Hibah Penelitian Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- [15] Sarida, M., 2005, "*Efektivitas pemberian Aromatase Inhibitor dan 17 β -metiltestosteron melalui pakan dalam produksi udang galah (Macrobrachium rosenbergii de Man) jantan*", Skripsi. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- [16] Setyohadi, D., Wiadnya, G.D.R., dan Soemarno, 2001, "Pengaruh Aerasi dan Resirkulasi Bio – Filter terhadap Pertumbuhan dan Produksi Udang Galah", *Biosain*, vol. 1, No. 1, April 2001. Hal. 39–46.
- [17] Wichins, J.F., Lee, D.O.C., 2002, "*Crustacean Farming (Raching and Culture)*", Iowa State University Press. Blackwell Science Company. USA. 446 pp.
- [18] Yamazaki, F., 1983, "Sex Control and Manipulation in Fish", *Aquaculture* 33: 329–354.