

**PERSENTASE JANTAN DAN RESPON IMUN NON SPESIFIK BENIH  
LOBSTER AIR TAWAR (*Cherax quadricarinatus*) DENGAN MERENDAM  
LARVA PADA *Tribulus terrestris* (Linneaus, 1753) BERBEDA DOSIS**

**SKRIPSI**

**Oleh**

**SHELIYANA CAHYA OKTARI  
NPM 2114111013**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2025**

**PERSENTASE JANTAN DAN RESPON IMUN NON SPESIFIK BENIH  
LOBSTER AIR TAWAR (*Cherax quadricarinatus*) DENGAN MERENDAM  
LARVA PADA *Tribulus terrestris* (Linneaus, 1753) BERBEDA DOSIS**

**Oleh  
SHELIYANA CAHYA OKTARI**

**Skripsi**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar  
SARJANA PERIKANAN**

**Pada  
Jurusan Perikanan dan Kelautan  
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2025**

## ABSTRAK

### **PERSENTASE JANTAN DAN RESPON IMUN NON SPESIFIK BENIH LOBSTER AIR TAWAR (*Cherax quadricarinatus*) DENGAN MERENDAM LARVA PADA *Tribulus terrestris* (Linneaus, 1753) BERBEDA DOSIS**

Oleh

**SHELIYANA CAHYA OKTARI**

Keberhasilan penggunaan fitobiotik seperti ekstrak *Tribulus terrestris* (ETT) sebagai afrodisiak dan imunomodulator telah banyak diteliti pada ikan, namun penerapannya pada lobster air tawar (*Cherax quadricarinatus*) masih terbatas. *C. quadricarinatus* merupakan krustasea yang menunjukkan keunggulan pertumbuhan berbasis jenis kelamin, dimana individu jantan tumbuh lebih cepat dibandingkan betina. Oleh karena itu, penerapan sistem budidaya monoseks jantan dan peningkatan ketahanan terhadap penyakit memiliki nilai ekonomi strategis dalam pengembangan industri akuakultur. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis pengaruh pemberian ekstrak *T. terrestris* melalui perendaman terhadap persentase jantan, tingkat kelangsungan hidup dan respon imun non spesifik lobster air tawar. Penelitian ini menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) yang terdiri dari 5 perlakuan dan 3 kelompok pemijahan. Perlakuan yang diberikan yaitu perendaman  $17\alpha$ -metiltestosteron 20 mg/L (K+), tanpa ekstrak *Tribulus terrestris* (ETT) 0 mg/L (K-), ETT 20 mg/L (P1), ETT 30 mg/L (P2), dan ETT 40 mg/L (P3) serta kelompok pemijahan ke-1, ke-2 dan ke-3. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian *T. terrestris* pada larva lobster air tawar memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap persentase jantan dan tingkat kelangsungan hidup serta berpotensi meningkatkan respon imun non spesifik lobster air tawar dengan dosis terbaik 40 mg/L.

Kata kunci: Fitobiotik, Immunostimulan, Lobster Air Tawar, *Tribulus terrestris*, *Sex Reversal*

## ABSTRACT

### MALE PERCENTAGE AND RESPONSE IMMUNE NON SPECIFIC OF CRAYFISH (*Cherax quadricarinatus*) JUVENILE IMMERSSED IN VARIOUS DOSES OF *Tribulus terrestris* (Linnaeus, 1753)

By

SHELIYANA CAHYA OKTARI

The successful application of phytobiotics, such as *Tribulus terrestris* extract (TTE), as an aphrodisiac and immunomodulator has been extensively studied in fish; however, its use in crayfish (*Cherax quadricarinatus*) remains limited. *C. quadricarinatus* is a crustacean that exhibits sex-based growth advantages, with males growing faster than females. Consequently, implementing a male monosex culture system and enhancing disease resistance presents significant economic value for the aquaculture industry. This study aims to analyze the effects of *T. terrestris* extract immersion on the percentage of males, survival rates, and non-specific immune responses in crayfish. The research employed a randomized block design (RBD) consisting of five treatments and three spawning groups. The treatments included immersion in 17 $\alpha$ -methyltestosterone at 20 mg/L (K+), *T. terrestris* extract at 0 mg/L (K-), and TTE at 20 mg/L (P1), 30 mg/L (P2), and 40 mg/L (P3), along with the three spawning groups. The results indicated that *T. terrestris* administration significantly influenced the percentage of males and survival rates, while also potentially enhancing the non-specific immune response in freshwater lobsters, with the optimal dosage being 40 mg/L.

**Keywords:** Crayfish, Immunostimulant, Phytobiotic, *Tribulus terrestris*, Sex Reversal



Judul Skripsi

: **PERSENTASE JANTAN DAN RESPON  
IMUN NON SPESIFIK BENIH LOBSTER  
AIR TAWAR (*Cherax quadricarinatus*)  
DENGAN MERENDAM LARVA PADA  
*Tribulus terrestris* (Linnaeus, 1753)  
BERBEDA DOSIS**

Nama Mahasiswa

: **Shellyana Cahya Oktari**

Nomor Pokok Mahasiswa

: **2114511013**

Jurusan/Program Studi

: **Perikanan dan Kelautan**

Fakultas

: **Pertanian**

**MENYETUJUI**

1. **Komisi Pembimbing**

**Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D**

**NIP. 198309232006042001**

**Yeni Elisdiana, S.Pi., M.Si.**

**NIP. 199003182019032026**

2. **Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan**

**Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D**

**NIP. 198309232006042001**



## MENGESAHKAN

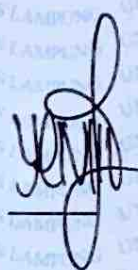
### 1. Tim Penguji

Ketua : Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D.

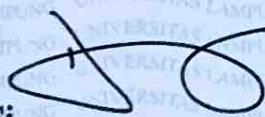


Sekretaris

: Yeni Elisdiana, S.Pi., M.Si.



Penguji Bukan Pembimbing : Deny Sapto Chondro Utomo, S.Pi., M.Si.



### 2. Dekan Fakultas Pertanian



Dr. Ir. Kuswanta Ertas Hidayat, M.P.

NIP. 196411181989021002

Tanggal lulus ujian skripsi: 20 Juni 2025



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS DAN TEKNOLOGI**  
**UNIVERSITAS LAMPUNG**  
**FAKULTAS PERTANIAN**  
**JURUSAN PERIKANAN DAN KELAUTAN**

*Prof. Dr. Sumantri Brojonegoro No. 1 Bandar Lampung 35145 Telp (0721) 704946 Fax (0721) 770347*

---

**PERNYATAAN ORISINALITAS**

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam naskah skripsi yang berjudul **"Persentase Jantan dan Respon Imun Non Spesifik Benih Lobster Air Tawar (*Cherax quadricarinatus*) dengan Merendam Larva pada *Tribulus terrestris* (Linnaeus, 1753) Berbeda Dosis"** tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh pihak lain untuk mendapatkan karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebut dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata dalam naskah skripsi ini ditemukan dan terbukti terdapat unsur-unsur fabrikasi, falsifikasi, plagiat dan konflik kepentingan saya bersedia skripsi ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh (S1) dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku (Undang-Undang Nomor 20 Tahun 2003, Pasal 25 ayat 2 dan Pasal 70).

Bandar Lampung,

Yang membuat pernyataan



Sheliyana Cahya Oktari  
NPM. 2114111013



## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis memiliki nama lengkap Sheliyana Cahya Oktari yang merupakan anak ketiga dari empat bersaudara, putri dari pasangan Almarhum Bapak Agus Suyono dan Ibu Sukesih. Penulis memulai Pendidikan di TK RA Ibadu Rahman pada tahun 2007-2009. Sekolah Dasar Negeri Agom yang diselesaikan pada tahun 2015, Pendidikan menengah pertama di SMP N 1 Kalianda yang diselesaikan tahun 2018, dan Pendidikan menengah atas di SMAN 1 Kalianda yang diselesaikan tahun 2021. Penulis melanjutkan pendidikan ke jenjang Strata-1 (S1) di Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada Tahun 2021.

Selama penulis menjadi mahasiswa Universitas Lampung, penulis sudah meraih beberapa prestasi yaitu sebagai peraih Pendanaan Program Mahasiswa Wirausaha (PMW) Tahun 2023, peraih Pendanaan PPK Ormawa Tahun 2023 dan peraih juara 3 poster ilmiah ajang Kompas Bahari di Universitas Syiah Kuala. Penulis melaksanakan kegiatan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Tanjung Raja Sakri, Kecamatan Blambangan Umpu, Kabupaten Way Kanan selama 40 hari, terhitung dari bulan Januari sampai dengan Februari 2024. Penulis melaksanakan kegiatan Praktik Umum (PU) di Laboratorium Rajabasa selama 30 hari pada bulan Juli 2024.



Untuk orang tua tercinta, Alm. Bapak Agus Suyono dan Ibu Sukesih, yang tiada  
henti selalu mendoakan yang terbaik

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis ucapkan ke hadirat Tuhan yang Maha Esa, karena atas rahmat dan hidayah-Nya skripsi ini dapat diselesaikan.

Skripsi dengan judul "*Persentase Jantan dan Respon Imun Non Spesifik Benih Lobster Air Tawar (Cherax quadricarinatus) dengan Merendam Larva pada Tribulus terrestris (Linnaeus, 1753) Berbeda Dosis*" adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana perikanan di Universitas Lampung.

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P. selaku Dekan FP Unila;
2. Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D. selaku Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan dan Dosen Pembimbing Utama;
3. Yeni Elisdiana, S.Pi., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Pembantu/Sekretaris;
4. Deny Sapto Chondro Utomo, S.Pi., M.Si. selaku Dosen Penguji Utama;
5. Limin Santoso, S.Pi., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Akademik;
6. Kedua Orang tua, Alm. Bapak Agus Suyono dan Ibu Sukesih, yang selalu mendoakan, memberi dukungan, motivasi dan semangat serta kasih sayang yang tak pernah henti kepada penulis;
7. Kakakku Dewi Nurita Sari dan Muhammad Arif Setiawan serta adikku Lucky Aditya Prasetyo yang selalu memberikan dukungan dan semangat kepada penulis;

Bandar Lampung,

**Sheliyana Cahya Oktari**

## DAFTAR ISI

|                                                     | Halaman     |
|-----------------------------------------------------|-------------|
| <b>DAFTAR TABEL .....</b>                           | <b>xi</b>   |
| <b>DAFTAR GAMBAR.....</b>                           | <b>xii</b>  |
| <b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>                        | <b>xiii</b> |
| <b>I. PENDAHULUAN .....</b>                         | <b>1</b>    |
| 1.1 Latar Belakang dan Masalah .....                | 1           |
| 1.2 Tujuan Penelitian.....                          | 3           |
| 1.3 Manfaat Penelitian.....                         | 4           |
| 1.4 Kerangka penelitian.....                        | 4           |
| 1.5 Hipotesis .....                                 | 6           |
| 1.5.1 Perlakuan.....                                | 6           |
| 1.5.2 Kelompok .....                                | 8           |
| <b>II. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>                    | <b>10</b>   |
| 2.1 Biologi Lobster Air Tawar .....                 | 10          |
| 2.1.1 Klasifikasi.....                              | 10          |
| 2.1.2 Morfologi .....                               | 10          |
| 2.2 Rujak Polo ( <i>Tribulus terrestris</i> ) ..... | 11          |
| 2.3 Determinasi dan Diferensiasi Kelamin.....       | 13          |
| 2.4 <i>Sex Reversal</i> . .....                     | 14          |
| 2.5 Sistem Imunitas Krustasea .....                 | 14          |
| 2.6 Fagositosis .....                               | 16          |
| <b>III.METODE PENELITIAN .....</b>                  | <b>18</b>   |
| 3.1 Waktu dan Tempat .....                          | 18          |
| 3.1.1 Waktu .....                                   | 18          |



|                                                                     |           |
|---------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.1.2 Tempat Penelitian.....                                        | 18        |
| 3.2 Bahan dan Alat .....                                            | 18        |
| 3.1.1 Bahan.....                                                    | 18        |
| 3.1.2 Alat .....                                                    | 19        |
| 3.3 Rancangan Percobaan.....                                        | 21        |
| 3.4 Prosedur Penelitian.....                                        | 22        |
| 3.4.1 Tahapan Persiapan .....                                       | 22        |
| 3.4.1.1 Ekstraksi <i>T. terrestris</i> .....                        | 22        |
| 3.4.1.2 Persiapan Wadah Perlakuan dan Wadah Pemeliharaan .....      | 22        |
| 3.4.1.3 Pemeliharaan Induk dan Persiapan Larva LAT .....            | 23        |
| 3.4.2 Tahapan Pelaksanaan .....                                     | 23        |
| 3.4.2.1 Perendaman Lobster Uji .....                                | 23        |
| 3.4.2.2 Pemeliharaan Lobster Uji.....                               | 23        |
| 3.4.2.3 Pengambilan Hemolim.....                                    | 23        |
| 3.4.3 Tahapan Pengamatan .....                                      | 24        |
| 3.4.3.1 Persentase Lobster Jantan.....                              | 24        |
| 3.4.3.2 Tingkat Kelangsungan Hidup.....                             | 25        |
| 3.4.3.3 <i>Total Haemocyte Count</i> (THC).....                     | 25        |
| 3.4.3.4 <i>Differential Haemocyte Count</i> (DHC) .....             | 26        |
| 3.4.3.5 Aktivitas Fagositosis (AF) dan Indeks Fagositosis (IF)..... | 26        |
| 3.4.3.6 Kualitas Air .....                                          | 27        |
| 3.6 Analisis Data .....                                             | 27        |
| <b>IV.HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>                                 | <b>28</b> |
| 4.1 Hasil .....                                                     | 28        |
| 4.1.1 Persentase Lobster Jantan.....                                | 28        |
| 4.1.2 <i>Total Haemocyte Count</i> .....                            | 29        |
| 4.1.3 <i>Differential Haemocyte Count</i> .....                     | 30        |
| 4.1.4 Aktivitas Fagositosis .....                                   | 31        |
| 4.1.5 Indeks Fagositosis .....                                      | 32        |
| 4.1.6 Tingkat Kelangsungan Hidup.....                               | 33        |
| 4.1.7 Kualitas Air .....                                            | 34        |

|                                    |           |
|------------------------------------|-----------|
| 4.2 Pembahasan .....               | 34        |
| <b>V. SIMPULAN DAN SARAN .....</b> | <b>41</b> |
| 5.1 Simpulan .....                 | 39        |
| 5.2 Saran .....                    | 39        |
| <b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>        | <b>43</b> |
| <b>LAMPIRAN .....</b>              | <b>53</b> |

## DAFTAR TABEL

| Tabel                                                                                                                   | Halaman |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 1. Bahan penelitian.....                                                                                                | 19      |
| 2 Alat penelitian .....                                                                                                 | 19      |
| 3. Nilai <i>differential haemocyte count</i> lobster jantan dan betina berdasarkan<br>perlakuan ETT berbeda dosis ..... | 30      |
| 4. Kualitas air .....                                                                                                   | 34      |

## DAFTAR GAMBAR

| Gambar                                                                           | Halaman                                       |
|----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| 1. Kerangka pikir penelitian.....                                                | 5                                             |
| 2. Morfologi lobster air tawar .....                                             | 11                                            |
| 3. Tanaman rujak polo ( <i>T. terrestris</i> ) dan bagiannya.....                | 11                                            |
| 4. Sel hemosit: sel hialin (HCs), sel semi granula (SGCs), sel granula (LGCs)... | 10                                            |
| 5. Tata letak wadah pemeliharaan .....                                           | 21                                            |
| 6. Organ reproduksi juvenil pada lobster air tawar .....                         | 20                                            |
| 7. Kotak pada <i>haemocytometer</i> .....                                        | 20                                            |
| 8. Persentase jantan LAT berdasarkan pemberian ETT dengan dosis berbeda<br>..... | <b>Error! Bookmark not defined.</b>           |
| 9. THC LAT berdasarkan pemberian ETT dengan dosis berbeda .....                  | <b>Error!</b><br><b>Bookmark not defined.</b> |
| 10. Nilai AF LAT berdasarkan pemberian ETT dengan dosis berbeda.....             | 31                                            |
| 11. Nilai IF LAT berdasarkan pemberian ETT dengan dosis berbeda .....            | 32                                            |
| 12. Tingkat kelangsungan berdasarkan pemberian ETT dengan dosis berbeda ....     | 33                                            |



## DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran                               | Halaman |
|----------------------------------------|---------|
| 1. Persentase jantan .....             | 52      |
| 2. Tingkat kelangsungan hidup .....    | 56      |
| 3. THC jantan .....                    | 57      |
| 4. THC betina .....                    | 61      |
| 5. Sel hyalin jantan .....             | 65      |
| 6. Sel hyalin betina .....             | 69      |
| 7. Sel granular jantan .....           | 70      |
| 8. Sel granular betina .....           | 71      |
| 9. Sel semi granular jantan .....      | 72      |
| 10. Sel semi granular betina .....     | 73      |
| 11. Aktivitas fagositosis jantan ..... | 74      |
| 12. Aktivitas fagositosis betina ..... | 75      |
| 13. Indeks fagositosis jantan .....    | 79      |
| 14. Indeks fagositosis betina .....    | 83      |
| 15. Data kualitas air .....            | 87      |
| 16. Dokumentasi kegiatan .....         | 88      |

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang dan Masalah

Lobster air tawar (*Cherax quadricarinatus*) merupakan salah satu komoditas perikanan yang bernilai ekonomis dan sudah banyak dibudidayakan (A'yunin et al., 2017). Meningkatnya permintaan pasar telah menyebabkan peningkatan produksi, sehingga perlu adanya tindakan strategis, seperti mengembangkan inisiatif budidaya lobster air tawar skala besar. Dalam pengelolaan produksi lobster air tawar, terdapat dua aspek utama yang sangat penting, yaitu genetika reproduksi dan kesehatan, khususnya dalam hal pengendalian jenis kelamin dan serangan penyakit. Jenis kelamin jantan memiliki karakteristik unggul dalam budidaya lobster air tawar karena memiliki potensi pertumbuhan dan produktivitas yang lebih tinggi dibandingkan lobster air tawar betina. Menurut Hudina et al. (2022) lobster air tawar jantan tumbuh lebih cepat dibandingkan betina, karena lobster air tawar jantan lebih banyak mengalokasikan energinya untuk pertumbuhan daripada proses reproduksi. Oleh karena itu, penerapan sistem budidaya dengan satu jenis kelamin (*monosex*) memiliki nilai ekonomi yang besar bagi perkembangan produksi lobster air tawar.

Salah satu metode yang dapat diterapkan dalam budidaya *monosex* adalah melalui teknologi pengarahannya kelamin (*sex reversal*). Teknik ini bertujuan untuk mengarahkan proses diferensiasi kelamin guna mengubah jenis kelamin secara buatan, yaitu dengan mengubah individu yang secara genetik betina menjadi jantan secara fenotip, atau sebaliknya (Fujii, 1971; Silva et al., 2023). Pada lobster air tawar, pengarahannya kelamin bisa dilakukan melalui manipulasi kromosom dan stimulasi hormon, namun metode yang paling umum digunakan dalam praktik budi daya adalah pemberian hormon steroid selama fase diferensiasi kelamin berlangsung. Hormon steroid yang sering digunakan dalam metode pembalikan

kelamin adalah hormon sintetis, seperti hormon 17-metiltestosteron (Sarker et al. 2022). Berdasarkan surat keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan KEP.52/MEN/2014, hormon  $17\alpha$ -metiltestosteron telah dibatasi penggunaannya karena termasuk ke dalam jenis obat keras yang bisa memengaruhi keamanan kelestarian lingkungan dan pangan (Lal et al., 2024). Oleh karena itu, diperlukan alternatif bahan alami yang lebih aman dan ramah lingkungan sebagai pengganti hormon sintetis.

Pemanfaatan bahan alami dalam sistem budi daya tidak hanya berpotensi sebagai agen pengarah kelamin, tetapi juga dapat dimanfaatkan dalam upaya pencegahan penyakit. Penyakit yang sering menyerang lobster air tawar adalah *Bacilliform virus* (CqBV), *White Spot Disease* (WSD), *Pavolike Virus*, *Rickettsia-Like Organism* dan jamur (*Crayfish plague*) serta ekor melepuh yang diakibatkan oleh *Aeromonas hydrophila* (Liu et al., 2013; Guo et al., 2021; Liu et al., 2022). Hingga saat ini, pengendalian penyakit menular pada ikan masih bergantung pada penggunaan obat-obatan antimikroba secara intensif, yang berisiko menyeleksi bakteri resisten dan menyebabkan penyebaran gen resistensi pada patogen ikan maupun manusia, sehingga berdampak negatif terhadap ekosistem perairan dan kesehatan manusia (Novais et al., 2018; Sciuto et al., 2022).

Salah satu bahan alami yang relatif aman dan memiliki potensi dalam mendukung kesehatan ikan adalah fitobiotik *T. terrestris*, yang mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, steroid saponin, tanin, dan alkaloid (Ștefănescu et al., 2020). Senyawa-senyawa ini diketahui berperan dalam aktivitas fisiologis ikan, terutama yang berkaitan dengan sistem reproduksi dan kesehatan, melalui mekanisme peningkatan kadar testosteron atau prekursor testosteron oleh dua komponen utama steroid saponin, yakni protodioscin dan protogracillin (Neychev & Mitev, 2005; Gaziansyah et al., 2019), yang penting dalam merangsang diferensiasi gonad, proses gametogenesis, serta pematangan gonad pada ikan. Pemanfaatan ekstrak *T. terrestris* dalam penelitian diferensiasi gonad untuk mengarahkan jenis kelamin jantan telah dilaporkan pada berbagai jenis ikan, dengan variasi dosis dan metode pemberian. Seperti yang dilakukan Cek et al. (2007) pada ikan guppy dengan metode rendam mendapatkan hasil tertinggi pada dosis 0,15 g/L menghasilkan persentase jantan sebesar 80%. Pada penelitian Sadek et al. (2022)

Penggunaan ekstrak *T. terrestris* untuk proses jantanisasi ikan nila melalui metode pemberian pakan menunjukkan hasil paling optimal pada dosis 200 mg/kg, dengan persentase ikan jantan mencapai 83,5%. Pada penelitian Rifki (2023) pemanfaatan ekstrak *T. terrestris* untuk jantanisasi lobster air tawar melalui metode rendam menghasilkan dosis terbaik 20 mg/L dengan persentase jantan sebesar 56,22%. *T. terrestris* terbukti dapat digunakan sebagai imunostimulan alami. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Yilmaz et al. (2014) pemberian suplementasi ekstrak *T. terrestris* dengan dosis 200; 400; 600; 800 mg/kg pada ikan nila yang diinfeksi bakteri *Streptococcus iniae* diperoleh hasil sintasan tertinggi yaitu 7,22% per hari pada dosis 400 mg/kg. Kemudian pada penelitian Rysky (2022) tentang pemberian suplementasi ekstrak *T. terrestris* dalam meningkatkan respon imun non spesifik ikan lele yang diinfeksi patogen *Aeromonas hydrophila* menghasilkan stimulasi respon imun non spesifik terbaik pada dosis 200 mg/kg pakan. Pada penelitian Azizah et al. (2024) Pemberian fitobiotik berbahan ekstrak *T. terrestris* melalui pakan terbukti mampu meningkatkan jumlah eritrosit dan kadar hematokrit pada calon induk bawal bintang jantan, dengan dosis optimal sebesar 250 mg/kg pakan. Sehingga *T. terrestris* memiliki potensi besar untuk dikembangkan sebagai fitobiotik kandidat afrodisiak dan imunostimulan pada krustasea.

Hingga saat ini informasi mengenai penggunaan ekstrak *T. terrestris* dalam peningkatan produksi lobster air tawar jantan dan respon imun non spesifik melalui metode perendaman pada larva masih terbatas. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh perendaman ekstrak *T. terrestris* dengan dosis berbeda dalam meningkatkan produksi *monosex* jantan (maskulinisasi) dan respon imun non spesifik (imunomodulator) lobster air tawar.

## 1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Menganalisis pengaruh pemberian ekstrak *T. terrestris* melalui perendaman terhadap persentase jantan dan tingkat kelangsungan hidup lobster air tawar.
2. Menganalisis pengaruh pemberian ekstrak *T. terrestris* terhadap respon imun non spesifik lobster air tawar.

### 1.3 Manfaat Penelitian

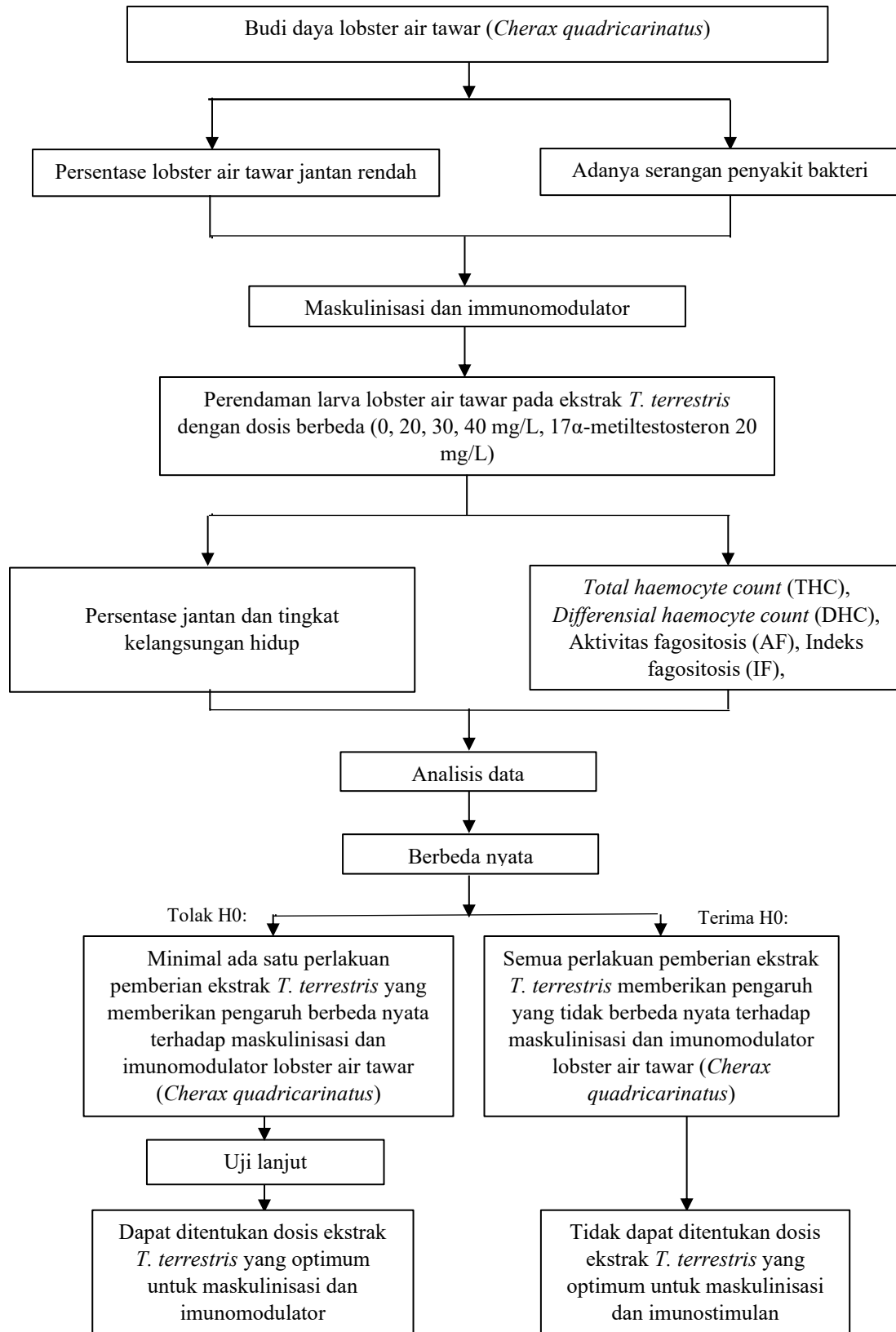
Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan wawasan bagi pembaca, serta menjadi referensi atau landasan bagi penelitian selanjutnya dalam menyempurnakan studi terkait penggunaan fitobiotik *T. terrestris* sebagai afrodisiak dan imunostimulan.

### 1.4 Kerangka Pikir

Lobster air tawar jantan menunjukkan pertumbuhan yang lebih cepat dibandingkan betina karena lebih banyak mengalokasikan energinya untuk pertumbuhan daripada reproduksi. Oleh karena itu, untuk meningkatkan populasi jantan, diperlukan budidaya *monosex* jantan dengan metode *sex reversal*. Teknik ini dilakukan dengan pemberian hormon steroid dari golongan androgen, seperti metiltestosteron dan testosteron, guna merangsang perkembangan individu jantan yang diinginkan. Saat ini, hormon steroid sintetis  $17\alpha$ -metiltestosteron merupakan yang paling umum digunakan dalam proses maskulinisasi, namun penggunaannya dapat menimbulkan efek samping pada organisme dan berisiko mencemari lingkungan.

Tidak hanya produksi lobster air tawar jantan yang belum maksimal, adanya serangan penyakit bakteri juga menjadi kendala dalam budi daya lobster air tawar. Upaya pencegahan serangan penyakit pada lobster air tawar adalah dengan meningkatkan sistem imun, yaitu dengan pemberian imunostimulan alami. Salah satu bahan alami yang dapat digunakan sebagai imunomodulator yaitu tanaman *T. terrestris*. Penggunaan ekstrak *T. terrestris* sebagai pengganti hormon sintetis dan imunostimulan diharapkan mampu mengurangi dampak buruk bagi lingkungan. Pengamatan dilakukan terhadap parameter persentase jantan, tingkat kelangsungan hidup, serta respon imun seperti *Total Haemocyte Count* (THC), *Differential Haemocyte Count* (DHC), aktivitas fagositosis (AF), dan indeks fagositosis (IF). Hasil yang diperoleh dianalisis untuk mengetahui adanya perbedaan nyata antar perlakuan. Apabila terdapat perbedaan yang signifikan, maka disimpulkan bahwa pemberian ekstrak *T. terrestris* memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap maskulinisasi dan respon imun lobster air tawar (Gambar 1).

Kerangka pemikiran pada penelitian ini disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Kerangka pikir penelitian



## 1.5 Hipotesis

Hipotesis yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

### 1.5.1 Perlakuan

#### 1. Persentase jantan

$H_0$  : semua  $\tau_i = 0$

Semua pemberian ekstrak *T. terrestris* melalui perendaman dengan dosis berbeda tidak memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap persentase jantan lobster air tawar (*C. quadricarinatus*).

$H_1$  : minimal ada satu  $\tau_i \neq 0$

Minimal ada satu perlakuan pemberian ekstrak *T. terrestris* melalui perendaman dengan dosis berbeda yang memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap persentase jantan lobster air tawar (*C. quadricarinatus*).

#### 2. Tingkat kelangsungan hidup

$H_0$  : semua  $\tau_i = 0$

Semua pemberian ekstrak *T. terrestris* melalui perendaman dengan dosis berbeda tidak memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap tingkat kelangsungan hidup lobster air tawar (*C. quadricarinatus*).

$H_1$  : minimal ada satu  $\tau_i \neq 0$

Minimal ada satu perlakuan pemberian ekstrak *T. terrestris* melalui perendaman dengan dosis berbeda yang memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap tingkat kelangsungan hidup lobster air tawar (*C. quadricarinatus*).

#### 3. Total haemocyte count (THC)

$H_0$  : semua  $\tau_i = 0$

Semua pemberian ekstrak *T. terrestris* melalui perendaman dengan dosis berbeda tidak memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap THC lobster air tawar (*C. quadricarinatus*).

$H_1$  : minimal ada satu  $\tau_i \neq 0$

Minimal ada satu perlakuan pemberian ekstrak *T. terrestris* melalui perendaman dengan dosis berbeda yang memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap THC lobster air tawar (*C. quadricarinatus*).

#### 4. *Differential haemocyte count* (DHC)

$H_0$  : semua  $\tau_i = 0$

Semua pemberian ekstrak *T. terrestris* melalui perendaman dengan dosis berbeda tidak memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap DHC air tawar (*C. quadricarinatus*).

$H_1$  : minimal ada satu  $\tau_i \neq 0$

Minimal ada satu perlakuan pemberian ekstrak *T. terrestris* melalui perendaman dengan dosis berbeda yang memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap DHC lobster air tawar (*C. quadricarinatus*).

#### 5. Aktivitas fagositosis (AF)

$H_0$  : semua  $\tau_i = 0$

Semua pemberian ekstrak *T. terrestris* melalui perendaman dengan dosis berbeda tidak memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap aktivitas fagositosis (AF) lobster air tawar (*C. quadricarinatus*).

$H_1$  : minimal ada satu  $\tau_i \neq 0$

Minimal ada satu perlakuan pemberian ekstrak *T. terrestris* melalui perendaman dengan dosis berbeda yang memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap aktivitas fagositosis (AF) lobster air tawar (*C. quadricarinatus*).

#### 6. Indeks fagositosis (IF)

$H_0$  : semua  $\tau_i = 0$

Semua pemberian ekstrak *T. terrestris* melalui perendaman dengan dosis berbeda tidak memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap indeks fagositosis (IF) lobster air tawar (*C. quadricarinatus*).

$H_1$  : minimal ada satu perlakuan  $\tau_i \neq 0$

Minimal ada satu perlakuan pemberian ekstrak *T. terrestris* melalui perendaman dengan dosis berbeda yang memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap indeks fagositosis (IF) lobster air tawar (*C. quadricarinatus*).

### 1.5.2 Kelompok

#### 1. Persentase jantan

$H_0$  : semua  $\beta_i = 0$

Semua pemijahan dengan induk berbeda tidak memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap persentase jantan lobster air tawar (*C. quadricarinatus*).

$H_1$  : minimal ada satu  $\beta_i \neq 0$

Minimal ada satu kelompok pemijahan dengan induk berbeda yang memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap persentase jantan lobster air tawar (*C. quadricarinatus*).

#### 2. Tingkat kelangsungan hidup

$H_0$  : semua  $\beta_i = 0$

Semua pemijahan dengan induk berbeda tidak memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap tingkat kelangsungan hidup lobster air tawar (*C. quadricarinatus*).

$H_1$  : minimal ada satu  $\beta_i \neq 0$

Minimal ada satu kelompok pemijahan dengan induk berbeda yang memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap tingkat kelangsungan hidup lobster air tawar (*C. quadricarinatus*).

#### 3. Total haemocyte count (THC)

$H_0$  : semua  $\beta_i = 0$

Semua pemijahan dengan induk berbeda tidak memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap THC lobster air tawar (*C. quadricarinatus*).

$H_1$  : minimal ada satu  $\beta_i \neq 0$

Minimal ada satu kelompok pemijahan dengan induk berbeda yang memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap THC lobster air tawar (*C. quadricarinatus*).

#### 4. Diferensial haemocyte count (DHC)

$H_0$  : semua  $\beta_i = 0$

Semua pemijahan dengan induk berbeda tidak memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap DHC air tawar (*C. quadricarinatus*).

$H_1$  : minimal ada satu  $\beta_i \neq 0$

Minimal ada satu kelompok pemijahan dengan induk berbeda yang memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap DHC lobster air tawar (*C. quadricarinatus*).

#### 5. Aktivitas fagositosis (AF)

$H_0$  : semua  $\beta_i = 0$

Semua pemijahan dengan induk berbeda tidak memberikan pengaruh berbeda terhadap aktivitas fagositosis lobster air tawar (*C. quadricarinatus*).

$H_1$  : minimal ada satu  $\beta_i \neq 0$

Minimal ada satu kelompok pemijahan dengan induk berbeda yang memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap aktivitas fagositosis lobster air tawar (*C. quadricarinatus*).

#### 6. Indeks fagositosis (IF)

$H_0$  : semua  $\beta_i = 0$

Semua pemijahan dengan induk berbeda tidak memberikan pengaruh berbeda terhadap indeks fagositosis lobster air tawar (*C. quadricarinatus*).

$H_1$  : minimal ada satu  $\beta_i \neq 0$

Minimal ada satu kelompok pemijahan dengan induk berbeda yang memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap indeks fagositosis lobster air tawar (*C. quadricarinatus*).

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Biologi Lobster Air Tawar (*Cherax quadricarinatus*)

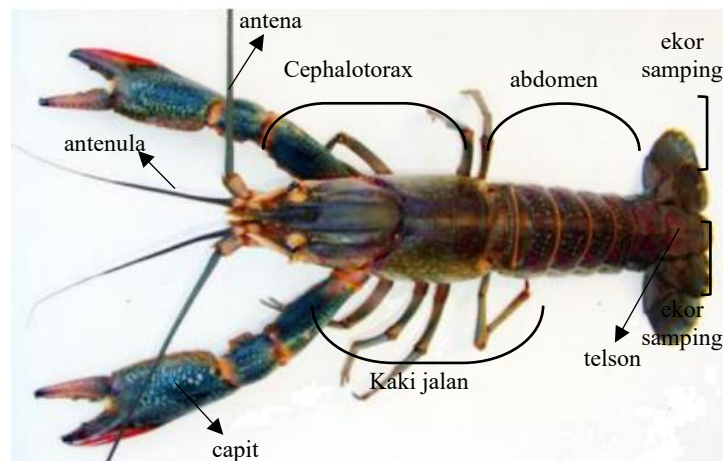
#### 2.1.1 Klasifikasi

Lobster air tawar banyak dikenal dan dipelihara berasal dari tiga keluarga besar yaitu Astacidae, Cambaridae, dan Parastacidae. Menurut Riek (1969) klasifikasi salah satu jenis lobster air tawar dari genus *Cherax* adalah sebagai berikut:

|           |                                 |
|-----------|---------------------------------|
| Kingdom   | : Animalia                      |
| Filum     | : Arthropoda                    |
| Sub Filum | : Crustacea                     |
| Kelas     | : Malacostraca                  |
| Ordo      | : Decapoda                      |
| Famili    | : Parastacidae                  |
| Genus     | : <i>Cherax</i>                 |
| Spesies   | : <i>Cherax quadricarinatus</i> |

#### 2.1.2 Morfologi

Lobster air tawar termasuk ke dalam jenis udang-udangan yang masuk dalam keluarga parastacidae, sehingga morfologi tubuhnya tidak jauh berbeda dari udang pada umumnya (Widigdo et al., 2020). Tubuh lobster air tawar terbagi menjadi 3 bagian besar yaitu kepala (*cephalothorax*) yang ditutupi oleh cangkang keras yang dinamakan karapas yang berperan dalam melindungi organ tubuh, badan (*abdomen*), dan bagian ekor (*telson*) (Mulis, 2012).



Gambar 2. Morfologi lobster air tawar

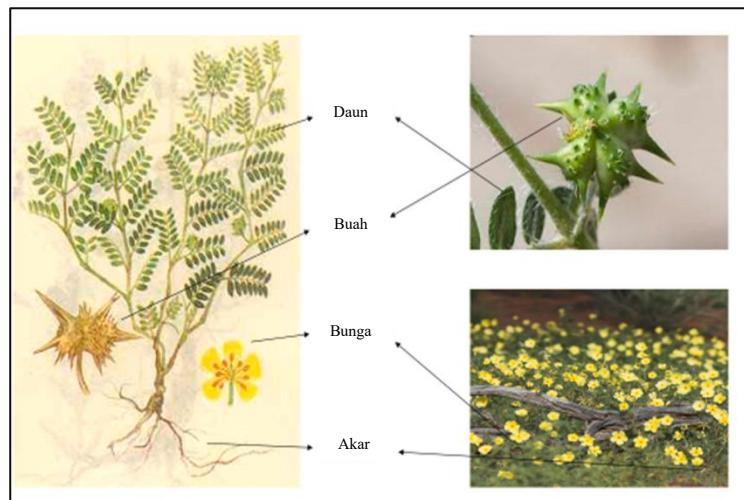
Lobster air tawar menurut Bachtiar (2006) memiliki beberapa alat pelengkap yang dapat dilihat pada Gambar 2, dengan bagian sebagai berikut:

1. Sepasang antena di bagian kepala yang berfungsi sebagai indra perasa yang digunakan untuk mencari makanan dan indra peraba kondisi lingkungan sekitar. Alat ini juga membantu lobster mencari mangsanya.
2. Sepasang antennula, berfungsi sebagai indra pencium makanan
3. Sepasang capit yang ukurannya lebih lebar dan panjang dari ruas dasar capitnya.
4. Ekor tengah (*telson*) berbentuk pipih dan terdapat duri-duri halus yang terletak di semua bagian tepi ekornya, serta terdapat dua pasang ekor samping (*uropod*) berbentuk memipih.
5. Kaki jalan (*walking legs*) 4 pasang terletak disamping kiri dan kanan tubuhnya.

## 2.2 Rujak Polo (*Tribulus terrestris*)

Tanaman rujak polo (*Tribulus terrestris*) merupakan jenis tanaman herbal yang mampu tumbuh dengan baik di tanah kering dan berpasir, serta tersebar di berbagai negara (Tkachenko et al., 2020). Di Indonesia, tanaman ini dikenal dengan berbagai nama lokal, seperti rujak polo, bulu mata setan, duri setan, dan mata kucing. Tanaman rujak polo biasa tumbuh liar di padang rumput, pinggir jalan dan

juga dianggap sebagai tanaman pengganggu atau gulma pada tanaman pertanian (Gaziansyah et al., 2019).



Gambar 3. Tanaman rujak polo (*T. terrestris*) dan bagiannya  
Sumber: Saeed et al. (2024)

Tanaman *T. terrestris* memiliki batang yang dapat tumbuh hingga sepanjang 2 m. Daunnya berbentuk majemuk menyirip dengan panjang sekitar 1,25 cm dan terdiri dari 4 hingga 8 pasang helai daun. Bunganya berukuran kecil, sekitar 8–15 mm, dan memiliki kelopak berwarna kuning (lihat Gambar 3). Buah tanaman ini berduri dengan diameter sekitar 1 cm, dan durinya dapat mencapai panjang 6 mm. Setiap buah terbagi menjadi 5 segmen, di mana masing-masing segmen memiliki dua pasang duri yang berbeda bentuk. Akarnya ramping, berserat, silindris, dan berwarna coklat muda saat muda (Saeed et al., 2024).

*T. terrestris* kaya akan senyawa aktif seperti flavonoid, flavonol glikosida, saponin steroid, furastanol, saponin, furostanol, saponin furosteroid, sapogenin, glikosida dan alkaloid (Koca et al., 2021). Tanaman ini dikenal memiliki berbagai manfaat kesehatan, termasuk sebagai aktivitas diuretik, afrodisiak, anti-urolitik, imunomodulator, antidiabetik, peningkat penyerapan nutrisi, hipolipidemik, aktivitas pada gangguan jantung, pelindung sistem saraf pusat, hepatoprotektif, anti inflamasi, serta memiliki aktivitas anti kanker, antibakteri, antelmintik, larvasidal, dan antikarsinogenik (Saeed et al., 2024). Salah satu komponen aktif penting dari *Tribulus* adalah fraksi saponinnya, seperti protodioscin dan protogracillin (Kumar et al., 2022), yang berperan besar dalam aktivitas biologis sebagai



afrodisiak. Protodioscin secara khusus memiliki kemampuan untuk meningkatkan kadar testosteron dengan mengubahnya menjadi *dehidrotestosteron* (DHT).

### 2.3 Determinasi dan Diferensiasi Kelamin

Determinasi kelamin merupakan pembentukan jenis kelamin individu sejak tahap embrionik, yang mengatur pembentukan sifat dimorfik seksual, dan kemudian mengarah pada karakteristik khusus jenis kelamin dalam fisiologi dan perilaku lingkungan (Toyota et al., 2021). Ada dua jenis dalam determinasi kelamin yaitu penentuan kelamin secara genetik (*genetic sex determination*), dimana jenis kelamin ditentukan oleh kombinasi kromosom dalam genom organisme, dan penentuan lingkungan (*environmental sex determination*), di mana jenis kelamin organisme ditentukan oleh keadaan lingkungan (Shi et al., 2018). Crustacea memiliki sistem penentuan jenis kelamin yang primitif dibandingkan dengan vertebrata. Faktor lingkungan seperti suhu, musim, cahaya, dan salinitas, telah terbukti mempengaruhi proses penentuan jenis kelamin dan diferensiasi beberapa crustacea (Wu & Xiang, 2022). Pada penelitian Li et al. (2003), udang putih cina (*Fenneropenaeus chinensis*) menghasilkan rasio jenis kelamin yang berbeda antara keturunan jantan dan betina, tergantung pada suhu. Pada penelitian Eggert (2004) rasio jantan betina *Gammarus duebeni* dapat dipengaruhi oleh cahaya. Kemudian pada penelitian Long et al. (2017), variasi salinitas dapat mempengaruhi siklus perkembangan gonad *Eriocheir sinensis*.

Diferensiasi kelamin adalah proses perubahan gonad yang awalnya belum definitif menjadi testis atau ovarium. Proses ini berlangsung pada masa kritis ketika otak dan embrio masih berada dalam kondisi biopotensial, yaitu memiliki kemampuan untuk berkembang ke arah jenis kelamin tertentu, baik dari segi morfologi, perilaku, maupun fungsi (Sudrajat & Sarida, 2006). Mekanisme diferensiasi kelamin pada krustasea, termasuk lobster air tawar, sangat bergantung pada sinyal endokrin. Beberapa hormon, terutama yang disekresikan oleh kelenjar androgenik (AG) memainkan peran penting dalam diferensiasi seksual jantan (Ventura, 2025). Kelenjar androgenik menghasilkan hormon yang disebut *Insulin-like Androgenic Gland hormone* (IAG), yang berfungsi dalam mengatur perkembangan kelamin jantan. Hormon IAG memicu pembentukan testis, produksi

sperma (spermatogenesis), serta pengembangan ciri-ciri kelamin sekunder seperti gonopod dan perubahan morfologis lainnya yang khas pada jantan. Penelitian yang dilakukan oleh Ventura et al. (2011) menunjukkan bahwa penghapusan AG atau pembungkaman ekspresi IAG dapat menyebabkan perubahan jenis kelamin dari jantan menjadi betina. Sebaliknya, transplantasi AG ke individu betina dapat menginduksi maskulinisasi, sehingga individu betina menunjukkan karakteristik kelamin jantan. Temuan ini menegaskan bahwa IAG merupakan hormon kunci dalam proses maskulinisasi krustasea.

Proses diferensiasi kelamin lobster air tawar menurut Vazquez & Greco (2010), berlangsung pada saat lobster berumur kurang dari satu bulan dengan bobot 0,09 g dan definitif menjadi jantan atau betina pada saat lobster berumur kurang dari tiga bulan dengan bobot 6 g. Penelitian mengenai penggunaan larva lobster air tawar yang berumur kurang dari satu bulan telah dilakukan pada beberapa penelitian, seperti pada penelitian Rustanti (2018) perendaman larva lobster air tawar berusia 14 hari dalam ekstrak teripang pasir selama 30 jam pada konsentrasi 4 ppm menghasilkan persentase lobster jantan sebesar 77,45%. Pada penelitian Gusnanto et al. (2013) tentang maskulinisasi lobster air tawar yang direndam menggunakan ekstrak steroid teripang pasir (*Holothuria scabra*) dosis 2 ppm selama 18 jam pada larva yang berumur 0, 7, 14 dan 21 hari mendapatkan hasil terbaik yaitu pada umur larva 14 hari, dengan persentase jantan 93,25%.

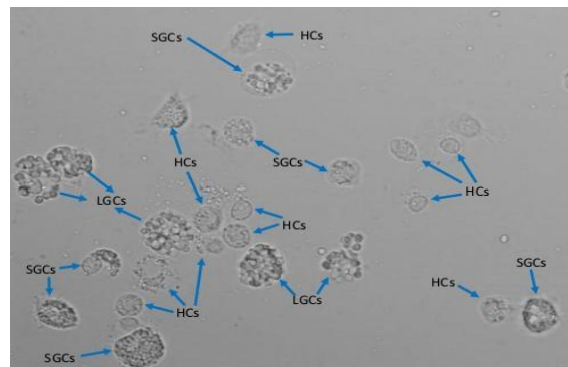
## 2.4 *Sex Reversal*

*Sex reversal* merupakan metode untuk membalikkan arah perkembangan kelamin ikan, di mana individu yang secara alami akan menjadi betina diarahkan untuk berkembang menjadi jantan, atau sebaliknya. Proses ini dilakukan sebelum diferensiasi seksual antara jantan dan betina terlihat jelas setelah menetas. Pada krustasea, pengarahan kelamin dapat dilakukan melalui stimulasi hormon maupun manipulasi kromosom, namun dalam praktik budidaya, stimulasi hormon lebih umum digunakan. Penggunaan hormon dalam pengarahan kelamin memiliki kelebihan, salah satunya adalah kemudahan dalam penerapannya. (Rahmasari et al, 2021).

Metode *sex reversal* dengan stimulasi hormonal untuk mengubah karakter seksual dari yang awalnya jantan menjadi betina disebut feminisasi, kemudian dari yang awalnya betina berubah menjadi jantan disebut maskulinisasi (Dwinanti et al., 2019). Penggunaan stimulasi hormonal telah dilaporkan pada berbagai penelitian, seperti yang dilakukan Sudrajat & Sarida (2006) Pemberian Aromatase *Inhibitor* dan  $17\alpha$ -Metiltestosteron melalui pakan dalam produksi udang galah Jantan menghasilkan udang galah jantan yang maksimal yaitu dosis 10 mg  $17\alpha$ -metiltestosteron/kg pakan dan 2000 mg aromatase inhibitor/kg pakan dengan persentase jantan 77,77%. Pada penelitian Arfah et al. (2024) induksi hormonal pada udang galah menggunakan ekstrak serbuk sari pinus (*Pinus tabulaeformis*) menghasilkan nisbah kelamin jantan tertinggi pada dosis 0,2 mL/L sebesar  $46,69 \pm 5,36\%$ . Pada penelitian Susanto et al. (2021) penggunaan hormon steroid alami dari teripang gamma dan berbagai dosis madu lebah untuk pembentukan monoseks jantan mendapatkan hasil tertinggi pada dosis 20 ml/L lebah madu sebesar 83,75%. Pada penelitian Rifki (2023) pemanfaatan ekstrak *T. terrestris* untuk jantanisasi lobster air tawar melalui metode rendam menghasilkan dosis terbaik 20 mg/L dengan persentase jantan sebesar 56,22%

## 2.5 Sistem Imunitas Krustasea

Pada krustasea, sistem kekebalan tubuh bawaan sangatlah penting karena mereka tidak memiliki sistem imun adaptif. Meskipun hanya mengandalkan sistem imun non-spesifik, lobster mampu merespons dan menghancurkan patogen dengan cepat dan efektif (Ridlo & Pramesti, 2009). Hemosit memainkan peran utama dalam pertahanan tubuh terhadap berbagai patogen seperti virus, bakteri, jamur, protozoa, dan metazoa (Johansson et al., 2000). Pertama, hemosit bekerja menghilangkan partikel asing dalam hemocoel melalui proses fagositosis, enkapsulasi, dan pembentukan nodul. Kedua, sel ini berperan penting dalam penyembuhan luka melalui mekanisme penggumpalan seluler, serta dalam transportasi dan pelepasan sistem prophenoloksidase (proPO). Selain itu, hemosit juga terlibat dalam produksi dan sekresi berbagai molekul penting dalam hemolim, seperti  $\alpha 2$ -makroglobulin ( $\alpha 2M$ ), aglutinin, dan peptida antimikroba (Rodriguez & Le Moullac, 2000). Sel hemosit dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Sel hemosit: sel hyalin (HGs), sel semi granula (SGCs), sel granula (LGCs)

Sumber: Prastowo et al. (2020).

Pada krustasea, sel hemosit dapat diklasifikasikan menjadi tiga jenis, yaitu sel hyalin (HGs), sel semi granular (SGCs), dan sel granular (LGCs). Sel hyalin memiliki bentuk yang tidak beraturan dengan inti sel (nukleus) yang besar dan hanya dilapisi oleh sedikit sitoplasma. Sel semi granular berbentuk tidak teratur, cenderung seperti bulat telur, dan mengandung jumlah sitoplasma yang cukup banyak. Sementara itu, sel granular berbentuk bulat dan ditandai dengan keberadaan butiran-butiran bulat yang tersebar merata di dalam sitoplasmanya (Prastowo et al., 2020).

## 2.6 Fagositosis

Fagositosis merupakan proses pencernaan bahan partikel terutama bakteri ke dalam sitoplasma sel hemosit. Partikel asing endogen atau patogen yang lebih besar dari  $0,5\ \mu\text{m}$  pertama kali dikenali oleh reseptor permukaan fagosit dan kemudian diserap dan ditelan ke dalam perangkat plasma membran, yang dikenal sebagai fagosom, setelah dimulainya kaskade pensinyalan untuk menghasilkan fagolisosom melalui fusi fagosom dengan lisosom. Akhirnya, partikel atau patogen di dalam fagolisosom akan didegradasi dan dibersihkan oleh enzim hidrolitik (Flannagan et al., 2012; Underhill & Goodridge, 2012). Fagositosis telah dianggap sebagai mekanisme pertahanan penting dari respon imun terhadap patogen di antara eukariota, yang juga terlibat dalam berbagai proses fisiologis, termasuk perkembangan, apoptosis, perbaikan jaringan, dan pertahanan inang (Freeman & Grinstein, 2014).

Pola peningkatan persentase indeks fagositosis merupakan fungsi dari peningkatan total hemosit maupun persentase jenis hemosit (Liu et al., 2020). Jumlah sel fagosit sangat mempengaruhi efektivitas fagositosis. Semakin banyak sel fagosit yang aktif, maka jumlah bakteri yang dapat ditangkap dan dihancurkan juga meningkat. Hal ini terjadi karena setiap sel fagosit memiliki kapasitas terbatas untuk memfagosit partikel patogen, dengan bertambahnya jumlah fagosit maka akumulasi total patogen yang dapat difagosit juga bertambah (Gordon, 2007).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

3.1.1 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan dari bulan September 2024 hingga Februari 2025.

3.1.2 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Budidaya Perikanan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung

3.2 Bahan dan Alat

3.2.1 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Bahan Penelitian

| No | Nama Bahan                                | Volume  | Merek     | Fungsi                                               |
|----|-------------------------------------------|---------|-----------|------------------------------------------------------|
| 1. | Lobster air tawar                         |         |           | Hewan uji                                            |
| 2. | Bubuk rujuk polo ( <i>T. terrestris</i> ) | 500 g   | Flozindo  | Bahan dasar ekstrak                                  |
| 3. | 17 $\alpha$ -metiltestosteron             |         |           | Bahan pembanding                                     |
| 4. | Ethanol                                   | 96%     | Emsure    | Pelarut pada pembuatan ekstrak                       |
| 5. | Methanol                                  |         | Emsure    | Untuk ulasan hemolim                                 |
| 6. | Akuades                                   | 5000 mL | Purelizer | Membersihkan alat, pengenceran dan pencampuran media |
| 7. | Cacing sutra                              |         |           | Pakan alami                                          |

| No  | Nama Bahan                                 | Volume  | Merek                    | Fungsi                                            |
|-----|--------------------------------------------|---------|--------------------------|---------------------------------------------------|
| 8.  | Giemsa                                     | 100 mL  | Indo Reagen              | Mewarnai preparat                                 |
| 9.  | Media GSP<br>( <i>Glutamate Soy Agar</i> ) | 500 g   | Himedia                  | Kultur koloni bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i> |
| 10. | Media TSB ( <i>Tryptic Soy Agar</i> )      | 500 g   | Himedia                  | Kultur koloni bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i> |
| 11. | Alkohol                                    | 70%     |                          | Sterilisasi                                       |
| 12. | Kertas label                               |         |                          | Menandai sampel                                   |
| 13. | Tissue                                     |         |                          | Membersihkan alat bahan                           |
| 14. | Plastik tahan panas                        | 100 pcs |                          | Melindungi alat bahan saat diautoklaf             |
| 15. | Alumunium foil                             | 30 cm   |                          | Penutup wadah                                     |
| 16. | Plastik wrap                               | 30 cm   |                          | Penutup wadah                                     |
| 17. | Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>        |         |                          | Bakteri uji yang diinjeksikan                     |
| 18. | Minyak imersi                              | 20 mL   | Rofa laboratorium centre | Memperjelas objek di lensa mikroskop              |

### 3.2.2 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 Alat Penelitian

| No | Nama Alat         | Spesifikasi  | Merek      | Fungsi             |
|----|-------------------|--------------|------------|--------------------|
| 1. | Kontainer         | CB45         | Lion star  | Wadah pemeliharaan |
| 2. | Instalasi aerasi  | 30           |            | Penyuplai oksigen  |
| 3. | Baskom            | 39x31x12     | Komet star | Wadah perendaman   |
| 4. | <i>Scoop net</i>  |              |            | Mengambil lobster  |
| 5. | Timbangan digital | 0,01 – 500 g | Fujitsu    | Alat ukur berat    |
| 6. | Jangka sorong     | 0,1-150 mm   | Gtechnic   | Alat ukur panjang  |

| No  | Nama Alat                       | Spesifikasi      | Merek                          | Fungsi                                                                          |
|-----|---------------------------------|------------------|--------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|
| 7.  | Selang sifon                    |                  |                                |                                                                                 |
| 8.  | <i>Shelter</i>                  |                  |                                |                                                                                 |
| 9.  | Gelas ukur                      | 2 L              | CAB                            |                                                                                 |
| 10. | pH meter                        |                  | OEM                            |                                                                                 |
| 11. | DO meter                        |                  |                                |                                                                                 |
| 12. | Termometer                      |                  | CAB                            |                                                                                 |
| 13. | <i>Water bath</i>               | 7000 g           | Faithful                       | Alat pemanas ekstrak                                                            |
| 14. | Botol gelap                     |                  |                                | Wadah ekstrak                                                                   |
| 15. | <i>Rotary vacuum evaporator</i> |                  |                                | Alat pemisah filtrat                                                            |
| 16. | Tabung reaksi                   | 16x150 mm        | Iwaki                          | Pembuat larutan sampel                                                          |
| 17. | Rak tabung reaksi               | 500 g            | Rofa<br>Laboratorium<br>centre | Wadah tabung reaksi                                                             |
| 18. | Tabung eppendorf                | 1,5 mL           | One med                        | Menghomogenkan bakteri hasil suspensi                                           |
| 19. | Autoklaf                        | 24 L             | GEA                            | Mensterilkan alat dan bahan                                                     |
| 20. | <i>Centrifuge</i>               | 4000 rpm         |                                | Memisahkan partikel yang berat agar terkumpul ke dasar tabung <i>centrifuge</i> |
| 21. | Spektrofotometer                | 340-1020 nm      | Electronic<br>centrifuge       | Pembaca panjang absorbansi                                                      |
| 22. | Erlenmeyer                      | 300 mL           | Iwaki                          | Wadah pencampuran media GSP dan TSB                                             |
| 23. | Tabung falcon                   | 15 mL            | DISPOSLAB                      | Wadah untuk <i>centrifuge</i>                                                   |
| 24. | <i>Cover glass</i>              | 22x22 mm         |                                | Melindungi dan menutupi objek dibawah mikroskop                                 |
| 25. | Mikropipet                      | 0,5-1000 $\mu$ L | DLAB                           | Alat pengambil larutan                                                          |
| 26. | Inkubator                       | 7,5 L            | Sinarlab                       | Menginkubasi enzim bakteri oksidase glukosa                                     |



### 3.3 Rancangan Percobaan

Rancangan penelitian yang digunakan yaitu metode rancangan acak kelompok (RAK) yang terdiri dari 5 perlakuan dan 3 kelompok pemijahan. Adapun perlakuan dan rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

#### 1. Perlakuan

K+ :  $17\alpha$ -metiltestosteron 20 mg/L

K- : Ekstrak *Tribulus terrestris* 0 mg/L

P1 : Ekstrak *Tribulus terrestris* 20 mg/L

P2 : Ekstrak *Tribulus terrestris* 30 mg/L

P3 : Ekstrak *Tribulus terrestris* 40 mg/L

#### 2. Kelompok

Kelompok 1: Pemijahan ke-1

Kelompok 2: Pemijahan ke-2

Kelompok 3: Pemijahan ke-3

Model rancangan acak kelompok (RAK) yang digunakan adalah:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan:

$Y_{ij}$  : nilai pengamatan dari kelompok ke-j yang memperoleh perlakuan ke-i

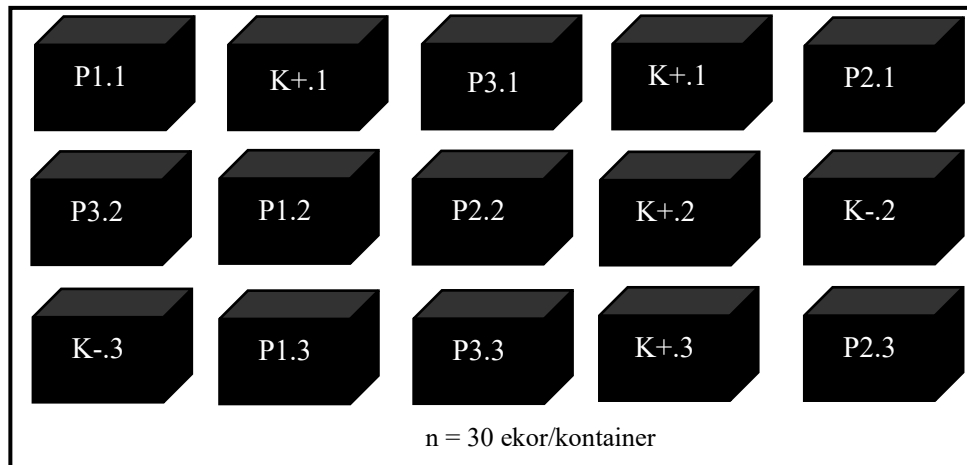
$\mu$  : nilai tengah umum

$\tau_i$  : pengaruh perlakuan ke-i

$\beta_j$  : pengaruh kelompok ke-j

$\varepsilon_{ij}$  : Galat dari kelompok ke-j yang memperoleh perlakuan ke-i

Tata letak wadah pemeliharaan pada penelitian ini (Gambar 5).



Gambar 5. Tata letak wadah pemeliharaan

### 3.4 Prosedur Penelitian

#### 3.4.1 Tahapan Persiapan

##### 3.4.1.1 Ekstraksi *T. terrestris*

Proses pembuatan ekstrak dilakukan dengan mencampurkan 100 g bubuk *T. terrestris* yang telah diayak dengan 1 L etanol 90% di dalam labu erlenmeyer. Campuran ini kemudian dipanaskan di atas *waterbath* sambil diaduk selama 2 jam pada suhu 70–80°C hingga membentuk suspensi. Setelah itu, larutan didinginkan dan disaring menggunakan kertas saring. Filtrat yang diperoleh kemudian dikentalkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 45°C dengan kecepatan 85 rpm (Do et al., 2013; Sasikumar et al., 2014). Setelah proses evaporasi selesai, ekstrak kental yang dihasilkan disimpan dalam botol berwarna gelap dan ditempatkan di *freezer* bersuhu -20°C hingga siap digunakan.

##### 3.4.1.2 Persiapan Wadah Perlakuan dan Wadah Pemeliharaan

Wadah uji yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah kontainer berukuran 54x36x28 cm<sup>3</sup> sebanyak 15 buah. Sementara itu, untuk proses perendaman, digunakan 15 buah baskom dengan ukuran 34x25x10 cm<sup>3</sup>. Sebelum digunakan, seluruh wadah akan melalui proses sterilisasi guna menghilangkan kotoran, yaitu dengan mencucinya menggunakan sabun, kemudian diberikan desinfektan, dibilas hingga bersih, dan dikeringkan selama 24 jam. Setelah kering, kontainer diletakkan pada rak penelitian dan diisi dengan air sebanyak 15 L dan

dilengkapi instalasi aerasi sebagai penyuplai oksigen serta diberi *shelter* berupa paralon.

#### **3.4.1.3 Pemeliharaan Induk dan Persiapan Larva Lobster Air Tawar**

Induk lobster air tawar yang digunakan berumur 6 bulan, berasal dari pembudidaya di daerah Langkapura, Bandar Lampung. Induk kemudian dipijahkan sampai mengerami telur, kemudian induk yang mengerami telur dipelihara terpisah selama 6 minggu sampai larva menetas. Sebanyak 450 ekor larva lobster yang berumur 14 hari digunakan dalam penelitian, dengan rata-rata bobot  $0,025 \pm 0,01$  g dan panjang tubuh  $10,30 \pm 1,55$  mm. Larva yang digunakan memiliki kondisi morfologis yang sehat, organ tubuh lengkap, dan berasal dari indukan yang telah diseleksi dengan baik. Sebelum dimasukkan ke dalam wadah pemeliharaan, larva terlebih dahulu melalui proses aklimatisasi, kemudian dipelihara dengan kepadatan 2 ekor/ L.

### **3.4.2 Tahapan Pelaksanaan**

#### **3.4.2.1 Perendaman Lobster Uji**

Wadah perendaman diisi dengan 2 L air lalu ditambahkan hormon 17  $\alpha$ -metiltestosteron yang telah dilarutkan menggunakan etanol 96% dan ekstrak *T. terrestris* sesuai dosis perlakuan. Wadah yang sudah diberi 17  $\alpha$ -metiltestosteron dan ekstrak *T. terrestris* diaerasi terlebih dahulu selama 12 jam untuk menghilangkan etanol. Kemudian larva direndam selama 30 jam sesuai dengan dosis perlakuan, lalu dipindahkan ke dalam wadah pemeliharaan. Perendaman lobster air tawar dilakukan sebanyak 5 kali yaitu pada saat larva berumur 14, 21, 28, 36 dan 42 hari.

#### **3.4.2.2 Pemeliharaan Lobster Uji**

Pemeliharaan larva dilakukan selama 60 hari. Pada setiap kontainer pemeliharaan diisi sebanyak 30 ekor larva dengan volume air sebanyak 15 L. Larva diberi pakan alami berupa naupli artemia pada saat larva berumur 0 hari sampai 14 hari kemudian dilanjutkan dengan pemberian cacing sutra sampai akhir pemeliharaan. Pemberian pakan dilakukan menggunakan metode *ad libitum*, sisa pakan dan kotoran pada kontainer akan dibersihkan dengan metode sipon. Penyiponan

dan pergantian air dilakukan setiap pagi untuk menghindari adanya penumpukan bahan organik pada akuarium yang dapat menyebabkan *stress* pada lobster. Pergantian air disesuaikan dengan volume air yang terbuang saat penyiponan.

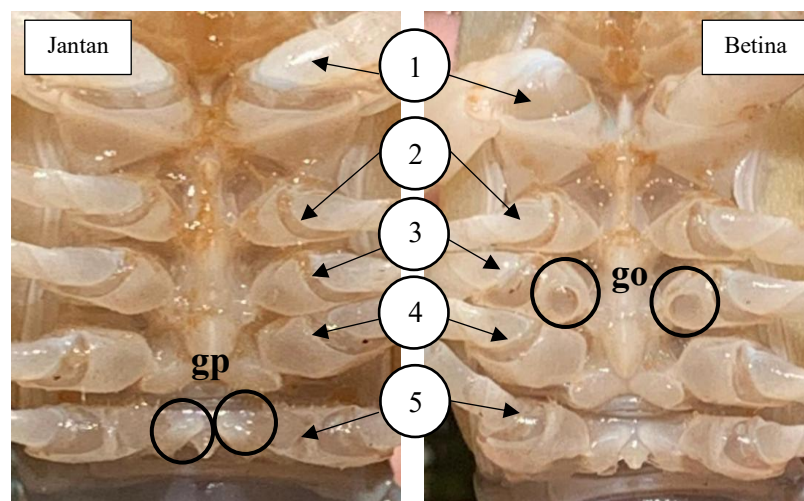
### 3.4.2.3 Pengambilan Hemolim

Pengambilan sampel hemolim dilakukan sebanyak 0,5 mL/ekor lobster. Pengambilan hemolim dilakukan pada hari ke-60 pemeliharaan. Hemolim diambil dari pangkal kaki jalan lobster. Sebelum pengambilan hemolim, lobster dipingsankan terlebih dahulu menggunakan es batu. Hemolim diambil menggunakan *syringe* 1 ml yang sudah dibilas antikoagulan. Hemolim kemudian ditempatkan dalam tabung yang disimpan di dalam *cool box* (Sang et al., 2009). Selanjutnya hemolim dipindahkan ke dalam *microtube* masing-masing parameter, untuk setiap parameter sebagai berikut: 1) THC (20  $\mu$ L), 2) DHC (20  $\mu$ L), 3) aktivitas fagositosis AF dan indeks fagositosis IF (20  $\mu$ L).

### 3.4.3 Tahapan Pengamatan

#### 3.4.3.1 Persentase Lobster Jantan

Persentase lobster jantan dihitung pada akhir masa pemeliharaan melalui pengamatan morfologi kaki jalan ke-3 dan ke-5 (Gambar 6) dengan bantuan kaca pembesar.



Ket: gp (*genital papillae*), go (*genital opening*), kaki jalan (1,2,3,4,5)

Gambar 6. Organ reproduksi juvenil pada lobster air tawar

Organ reproduksi pada lobster air tawar jantan dan betina dapat dibedakan melalui ciri morfologis eksternal yang mudah diamati. Pada lobster jantan, organ reproduksi ditandai dengan adanya tonjolan kecil yang dikenal sebagai *genital papillae* (gp), yang terletak di dasar tangkai kaki jalan ke-5, jika dihitung dari kaki jalan yang berada tepat di bawah mulut. Sementara itu, pada lobster betina, organ reproduksinya dapat dikenali melalui adanya lubang berbentuk bulat yang disebut *genital opening* (go), yang terletak di dasar kaki ke-3 (Rustanti, 2018). Persamaan yang digunakan untuk menghitung persentase lobster jantan sebagai berikut:

$$Jantan = \frac{\text{Jumlah lobster jantan}}{\text{Jumlah lobster hidup diakhir pemeliharaan}} \times 100\%$$

#### 3.4.3.2 Tingkat Kelangsungan Hidup (TKH)

Tingkat kelangsungan hidup lobster dihitung jumlahnya pada akhir pemeliharaan dengan perhitungan mengacu pada (Shofura et al., 2017).

$$TKH = \frac{N_t}{N_0} \times 100\%$$

Keterangan:

TKH = Tingkat kelangsungan hidup (%)

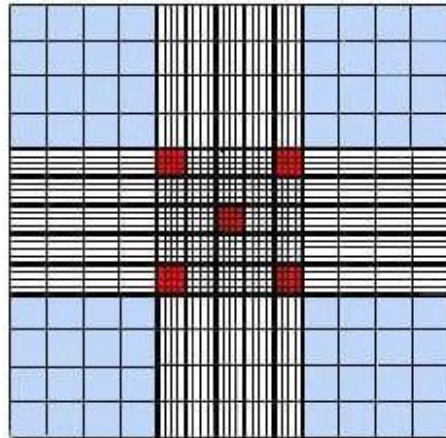
$N_t$  = Jumlah lobster pada akhir penelitian (ekor)

$N_0$  = Jumlah lobster pada awal penelitian (ekor)

#### 3.4.3.3 Total Haemocyte Count (THC)

Hemolim segar sebanyak 10  $\mu$ L diencerkan dalam 20  $\mu$ L PBS dan dihomogenisasi dengan pipetting. Total *hemocyte count* dihitung dengan *haemocytometer* dan pengamatan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100x (Sang et al., 2009). Jumlah hemosit total dihitung sebagai berikut:

$$\text{THC} = \sum \text{hemosit dalam 25 kotak kecil} \times \text{pengenceran} \times 10^4 \text{ sel/mL}$$



Gambar 7. Kotak pada haemocytometer  
Sumber: Khan et al. (2012)

#### 3.4.3.4 *Differential Haemocyte Count (DHC)*

Hemolim segar sebanyak 20  $\mu\text{L}$  ditetaskan diatas kaca preparat dan diulas kemudian dikering udarakan. Kaca preparat kemudian difiksasi dengan memberikan methanol 70% selama 10 menit. Preparat apusan kemudian diwarnai menggunakan Giemsa (Merck) masing-masing selama 10 menit. Kemudian dipasang *cover glass*.

$$\text{DHC} = \frac{\text{jumlah sel haemocyte yang berbeda}}{\text{total haemocyte yang dihitung}} \times 100$$

#### 3.4.3.5 Aktivitas Fagositosis (AF) dan Indeks Fagositosis (IF)

Aktivitas fagositosis (AF) dan indeks fagositosis (IF) diuji berdasarkan pada yaitu sampel hemolim segar sebanyak 20  $\mu\text{L}$  disuspensi dengan bakteri *Aeromonas hydrophilla* kemudian diinkubasi selama 20 menit dengan suhu ruang. Setelah diinkubasi lalu sampel hemolim diambil sebanyak 5  $\mu\text{L}$  diletakkan di ujung kaca preparat dan dibuat apusan dengan cara ditekan dengan ujung *cover glass* dan didorong sampai ujung kaca preparat secara merata dan dikeringkan. Setelah kaca preparat kering, kemudian direndam ke dalam methanol 70% selama 20 menit lalu dikeringkan. Kaca preparat yang telah kering kemudian diwarnai dengan pewarna giemsa 10% selama 20 menit, lalu dibilas dengan akuades dan dikeringkan. Setelah kering, kemudian kaca preparat diamati menggunakan mikroskop.

Rumus perhitungan nilai aktivitas fagositosis dan nilai indeks fagositosis mengacu pada Suleman et al. (2012), yaitu:

$$\text{Aktivitas fagositosis} = \frac{\sum \text{Sel fagosit}}{\sum \text{Seluruh sel hemosit}} \times 100\%$$

$$\text{Indeks fagositosis} = \frac{\sum \text{Bakteri yang difagosit}}{\sum \text{Sel yang memfagosit}}$$

#### 3.4.3.6 Kualitas Air

Pengelolaan kualitas air ditujukan supaya air media selalu sesuai antara kebutuhan benih terhadap faktor lingkungan dan perkembangan biologisnya. Pengukuran kualitas air berupa pengecekan suhu, pH, dan oksigen terlarut dilakukan sebanyak tiga kali selama pemeliharaan, yaitu pada hari ke-0, ke-30 dan ke-60.

### 3.5 Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian berupa data kuantitatif, data yang berdistribusi tidak normal seperti persentase jantan, tingkat kelangsungan hidup, sel hyalin lobster betina, sel granular lobster jantan, sel semi granular lobster jantan dan betina, aktivitas fagositosis lobster betina, indeks fagositosis lobster jantan dan betina, akan ditabulasi ke dalam bentuk dianalisis menggunakan uji Kruskal Wallis jika hasil analisis menunjukkan adanya pengaruh yang berbeda nyata maka di uji lanjut dengan uji Mann-Whitney U. Data yang berdistribusi normal, seperti parameter sel hyalin pada lobster betina, sel granular betina, serta aktivitas fagositosis pada lobster jantan, dianalisis menggunakan analisis sidik ragam (ANOVA) dengan bantuan perangkat lunak SPSS versi 25. Jika hasil ANOVA menunjukkan perbedaan yang signifikan, maka analisis dilanjutkan dengan uji Duncan pada tingkat signifikansi 95% untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Sementara itu, parameter kualitas air dianalisis secara deskriptif.

## **IV. SIMPULAN DAN SARAN**

### **5.1 Simpulan**

Simpulan yang dapat diberikan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Perlakuan perendaman larva lobster air tawar dengan ekstrak *T. terrestris* menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata terhadap persentase lobster jantan, dengan hasil terbaik pada dosis 40 mg/L yaitu sebesar  $78,21 \pm 2,22\%$ , namun tidak menghasilkan pengaruh yang berbeda nyata terhadap tingkat kelangsungan hidup.
2. Perendaman lobster air tawar dalam ekstrak *T. terrestris* memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap nilai THC, DHC, AF dan IF yang berpotensi meningkatkan respon imun non spesifik lobster air tawar.

### **5.2 Saran**

1. Pembudi daya dapat mengaplikasikan ekstrak *T. terrestris* dengan dosis 40 mg/L pada proses budi daya dengan cara perendaman.
2. Perlu adanya penelitian lanjutan dengan meningkatkan dosis ekstrak *T. terrestris* lebih dari 40 mg/L agar memberikan hasil yang lebih maksimal terhadap persentase jantan.



## **DAFTAR PUSTAKA**

## DAFTAR PUSTAKA

- Al-Bayati, F. A. & Al-Mola, H. F. (2008). Antibacterial and antifungal activities of different parts of *Tribulus terrestris* L. growing in Iraq. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B*, 9(2), 154–159.  
<https://doi.org/10.1631/jzus.b0720251>
- Antonio, J., Uelmen, J., Rodriguez, R., & Earnest, C. (2000). The effects of *Tribulus terrestris* on body composition and exercise performance in resistance-trained males. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 10(2), 208–215.  
<https://doi.org/10.1123/ijsnem.10.2.208>
- Arfah, H., Soelistyowati, D. T., Sholihin, H., Wibowo, K. T., Sudrajat, A. O., Carman, O., Maulana, F., & Alimuddin, A. (2024). Induksi hormonal pada sex reversal udang galah (*Macrobrachium rosenbergii*) menggunakan ekstrak serbuk sari pinus (*Pinus tabulaeformis*). *Jurnal Riset Akuakultur*, 19(2), 85-95. <http://dx.doi.org/10.15578/jra.19.2.2024.85-95>
- A'yunin, A., Sanoesi, E., & Afifah, J. (2017). Aplikasi teknologi pembenihan lobster air tawar (LAT) sebagai upaya peningkatan produksi benih dan profitabilitas. *Journal of Innovation and Applied Technology*, 3(1), 408-413. <https://dx.doi.org/10.21776/ub.jiat.2017.003.01.11>
- Azizah, A., Sarida, M., Susanto, G.N., Adiputra, Y. T., & Setyawan, A. (2024). Profil hematologi calon induk bawal bintang (*Trachinotus blochii*) dengan induksi hormonal dan fitobiotik melalui pakan. *Arwana Jurnal Ilmiah Program Studi Perairan*. 6(1), 75-82.  
<https://doi.org/10.51179/jipsbp.v6i1.2521>
- Bachtiar, I. Y. (2006). *Usaha budi daya lobster air tawar di rumah*. AgroMedia.
- Cek, S., Turan, F., & Atik, E. (2007). The effects of gokshura, *Tribulus terrestris*, on sex reversal of guppy, *Poecilia reticulata*. *Journal Biological Sciences*, 10(5), 718-725. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2007.718.725>
- Chhatre, S., Nesari, T., Somani, G., Kanchan, D., & Sathaye, S. (2014). Phytopharmacological overview of *Tribulus terrestris*. *Journal Pharmacognosy*, 8(15), 45-51. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.125530>

- Do, J., Choi, S., Choi, J., & Hyun, J. S., 2013. Effects and mechanism of action of a *Tribulus terrestris* extract on penile erection. *Korean Journal of Urology*, 54(3), 183-188. <https://doi.org/10.4111/kju.2013.54.3.183>
- Dwinanti, S. H., Yusuf, M., & Syaifudin, M. (2019). Maskulinisasi ikan cupang (*Betta splendens*) menggunakan air kelapa (*Cocos nucifera*) melalui metode perendaman embrio. In *Seminar Nasional Lahan Suboptimal*, (pp. 74-81).
- Effendi. (2002). *Biologi perikanan*. Yayasan Pustaka Nusantara.
- Eggert, C. (2004). Sex determination: the amphibian models. *Reproduction, Nutrition, Development*, 44, 539-549. <https://doi.org/10.1051/rnd:2004062>
- Flannagan, R. S., Jaumouillé, V., & Grinstein, S. (2012). The cell biology of phagocytosis. *Annual Review Pathology: Mechanisms of Disease*, 7(1), 61–98. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-011811-132445>
- Freeman, S. A. & Grinstein, S. (2014). Phagocytosis: receptors, signal integration, and the cytoskeleton. *Immunological Reviews*, 262(1), 193–215. <https://doi.org/10.1111/imr.12212>
- Fujii, T. (1971). Hermaphroditism and sex reversal in fishes of the platycephalidae-II. *Japanese Journal of Ichthyology*, 8(3), 109-117. <https://doi.org/10.11369/jji1950.18.109>
- Gauthaman, K., Adaikan, P. G., & Prasad, R. N. V. (2002). Aphrodisiac properties of *Tribulus terrestris* extract (protodioscin) in normal and castrated rats. *Life Sciences*, 71(12), 1385–1396. [https://doi.org/10.1016/s0024-3205\(02\)01858-1](https://doi.org/10.1016/s0024-3205(02)01858-1)
- Gaziansyah, M. R., Wulan, A. J., & Djausal, A. N. (2019). Efek rujak polo (*Tribulus terrestris*) dan ginseng india (*Withania somnifer*) sebagai terapi mutakhir terhadap infertilitas pria. *Majority*, 8(2), 215-220. <https://jurnal.fp.unila.ac.id/index.php/majority/article/view/2474>
- Gordon, S. (2007). The macrophage: past, present and future. *European Journal of Immunology*, 37(S1), S9–S17. <https://doi.org/10.1002/eji.200737638>
- Guiguen, Y., Fostier, A., Piferrer, F., & Chang, C. F. (2010). Ovarian aromatase and estrogens: A pivotal role for gonadal sex differentiation and sex change in fish. *General and Comparative Endocrinology*, 165(3), 352–366. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.03.002>

- Guo, L., Zhou, M., Chen, D., Yi, C., Sun, B., Wang, S., Ru, Y., Chen, H., & Wang, H. (2021). A new insight to characterize immunomodulation based on hepatopancreatic transcriptome and humoral immune factor analysis of the *Cherax quadricarinatus* infected with *Aeromonas veronii*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 219: 112347.
- Gusnanto, A., Susanto, G. H., & Murwani, S. (2013). Maskulinisasi lobster air tawar (*Cherax quadricarinatus*) dengan ekstrak steroid teripang pasir (*Holothuria scabra*) pada umur larva yang berbeda. In *Seminar Nasional Sains & Teknologi*, 316(329).
- Hudina, S., Maguire, I., Dragičević, P., & Galic, N. (2022). Evaluating the efficacy of approaches to control invasive populations: a conceptual model development for the signal crayfish. *Ecologies*, 3(2), 78–95. <https://doi.org/10.3390/ecologies3020008>
- Iwanaga, S. & Lee, B. L. (2005). Recent advances in the innate immunity of invertebrate animals. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 38(2), 128–150. <https://doi.org/10.5483/bmbrep.2005.38.2.128>
- Jiravanichpaisal, P., Söderhäll, K., & Söderhäll, I. (2006). Fish and shellfish immunology: An overview of shrimp immunity. *Fish & Shellfish Immunology*, 20(5), 439–459. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2006.04.005>
- Johansson, M. W., Keyser, P., Sritunyalucksana, K., & Soderhall, K. (2000). Crustacean hemocytes and haemotopoiesis. *Aquaculture*, 191: 45-52. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00418-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00418-X)
- Karimi, M., Yavari, V., & Soltani, M. (2011). Effects of *Tribulus terrestris* extract on the immune system of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 10(3), 394–405.
- Khan, S., Khan, A., Saleh., Khattak, F., & Naseem, A. (2012). An accurate and cost effective approach to blood cell count. *International Journal of Computer Applications*, 50(1), 18–24. <https://doi.org/10.5120/7734-0682>
- Koca, S. B., Ozdogan, H. B. E., Ozmen, O., Biyikli, M., & Yigit, N. O. (2021). Effects of *Tribulus terrestris* and *Ferula communis* extracts on growth and gonad histologi of red zebra cichlid *Maylandia estherae* (Konings, 1995). *Indian Journal of Fisheries*, 69(4), 157-163. <https://doi.org/10.21077/ijf.2021.68.4.110798-19>
- Kumar, S., Singh, B., & Singh, R. (2022). Catharanthus roseus G. Don: a review of ITS ethnobotany and toxicities. *Jurnal of Ethnopharmacology*, 284, 114647. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114647>

- Lal, J., Vaishnav, A., Singh, S. K., Biswas, P., Mehta, N. K., Meena, D. K., & Waikhom, G. (2024). The potential of aromatase inhibitors in fish masculinization: a comprehensive review of applications, mechanisms and future perspectives. *International Aquatic Research*, 16(2), 113-142. <https://doi.org/10.22034/IAR.2024.2008470.1624>
- Li, F., Xiang, J., Zhou, L., Wu, C., & Zhang, X. (2003) Optimization of triploid induction by heat shock in chinese shrimp *Fenneropenaeus chinensis*. *Aquaculture*, 219, 221-231. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00006-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00006-1)
- Liu, C. H. & Chen, J. C. (2004). Effect of ammonia on the immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 16(4), 321-334. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2003.07.002>
- Liu, Y. T., Chang, C. I., Hseu, J. R., Liu, K. F., & Tsai, J. M. (2013). Immune responses of prophenoloxidase and cytosolic manganese superoxide dismutase in the freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus* against a virus and bacterium. *Molecular Immunology*, 56(1-2), 72-80. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2013.03.023>
- Liu, Z., Huang, C., Qing, S., Xu, Y., Xing, Z., Lu, M., Liu, J., Hu, P., Wang, C., Dan, S. F., Yan, X., Pan, H., & Zhu, P. (2022). Cloning and expression of three small heat shock proteins in *Cherax quadricarinatus* under *Vibrio alginolyticus* or *Aeromonas hydrophila* stress. *Aquaculture Research*, 53(13), 4740-4748. <https://doi.org/10.1111/are.15966>
- Liu, S., Zheng, S. C., Li, Y. L., Li, J., & Liu, H. P. (2020). Hemocyte-mediated phagocytosis in crustaceans. *Frontiers in Immunology*, 11(268), 1-9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00268>
- Long, X., Wu, X., Zhao, L., Ye, H., Cheng, Y., & Zeng, C. (2017). Effects of salinity on gonadal development, osmoregulation and metabolism of adult male chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*. *PLOS ONE*, 12, e0179036. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179036>
- Lu, J., Shi, Y., Yao, T., Bai, C., Jiang, J., & Ye, L. (2021). Gender differences in hemocyte immune parameters of hong kong oyster *Crassostrea hongkongensis* during immune stress. *Frontiers in Immunology*, 12, 1-12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.659469>
- Mandasari, M., Indrawati, E., & Aqmal, A. (2023). Pemanfaatan eco-enzyme dalam stabilisasi pH air media budidaya ikan nila *Oreochromis niloticus* dengan sistem tanpa pergantian air. *Journal of Aquaculture and Environment*, 5(2), 54-59. <https://doi.org/10.35965/jae.v5i2.2309>

- Mulis. (2012). Pertumbuhan lobster air tawar (*Cherax quadricarinatus*), di akuarium dengan kepadatan berbeda dalam sistem terkontrol. (Skripsi Tidak Terpublikasi). Universitas Negeri Gorontalo.
- Neychev, V. K. & Mitev, V. I. (2005). The aphrodisiac herb *Tribulus terrestris* does not influence the androgen production in young men. *Journal of Ethnopharmacology*. 101(1-3), 319-323.  
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.05.017>
- Novais, C., Campos, J., Freitas, A.R., Barros, M., Silveira, E., Coque, T.M., Antines, P., & Peixe, L. (2018). Water supply and feed as sources of antimicrobial-resistant *Enterococcus* sp. in aquacultures of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Portugal Science of The Total Environment*, 625, 1102–1112. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.12.265>
- Prastowo, B.W., Lareu, R., Caccetta, R., & Fotedar, R. (2020). Determinatin of cell type and ahemocyte morphometric characteristics of western Australian frehwater crayfish (*Cherax cainii*) at different temperatures in vitro. *Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*, 8(2), 1009-1027. <http://dx.doi.org/10.23960/jrtbp.v8i2.p1009-1028>
- Rahmasari, F. Utomo, D. S. C., & Hudaidah, S. (2021). Efektifitas ekstrak cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl) untuk maskulinisasi ikan cupang (*Betta splendens*). *Journal of Aquatropica Asia*, 6(1), 26–33.  
<https://doi.org/10.33019/aquatropica.v6i1.2460>
- Ridlo, A. & Pramesti, R. (2009). Aplikasi ekstrak rumput laut sebagai agen imunostimulan sistem pertahanan non spesifik pada udang vannamei (*Litopennaeus vannamei*). *Ilmu Kelautan*, 14(3), 133-137.  
<https://doi.org/10.14710/ik.ijms.14.3.133-137>
- Riek, E. (1969). The australian freshwater crayfish (crustacea : decapoda : parastacidae), with descriptions of a new species. *Australian Journal of Zoology*, 17(5), 855. <https://doi.org/10.1071/zo9690855>
- Rifki, A. A. (2023). Performa pertumbuhan, tingkat kelangsungan hidup dan persentase jantan juvenil lobster air tawar *Cherax qudaricarinatus* (Von Martens, 1868) melalui perendaman larva dalam ekstrak *Tribulus terrestris* (Linn, 1753). [Skripsi Universitas Lampung]. Digital Repostory Universitas Lampung.
- Rodriguez, J. & Moullac, L. G. (2000). State of the art of immunological tools and health control of penaeid shrimp. *Aquaculture*, 191(1–3), 109–119.  
[https://doi.org/10.1016/s0044-8486\(00\)00421-x](https://doi.org/10.1016/s0044-8486(00)00421-x)

- Rustanti, T. (2018). Uji kandungan testosteron pada juvenil lobster air tawar (*Cherax quadricarinatus*) setelah perendaman dengan ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra* J) pada dosis dan lama perendaman yang berbeda (Tesis Tidak Terpublikasi). Universitas Lampung.
- Rysky, D. A. (2022). Suplementasi ekstrak *Tribulus terrestris* (Linnaeus, 1753) sebagai imunostimulan untuk meningkatkan respon imun nonspesifik ikan lele *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) terhadap infeksi patogen *Aeromonas hydrophila* (Chester, 1901) melalui pakan (Skripsi Tidak Terpublikasi). Universitas Lampung.
- Sadek, M. F. A., Nady, A. S & Zied, R. M. A. (2022). Effect of some nutritional and environment factors on production of mono sex nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Animal and Poultry Production*, 13(1), 15-23. <https://doi.org/10.21608/jappmu.2022.115857.1027>
- Saeed, M., Munawar, M., Bi, J. B., Ahmed, S., Ahmad, M. Z., Kamboh, A. A., Arain, M. A., Naveed, M., & Chen, H. (2024). Promising phytopharmacology, nutritional potential, health benefits, and traditional usage of *Tribulus terrestris* L. herb. *Heliyon*, 10(4), e25549. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e25549>
- Saiyed, A., Jahan, N., Makbul, S. A. A., Ansari, M., Bano, H., & Habib, S. H. (2016). Effect of combination of *Withania somnifera* Dunal and *Tribulus terrestris* Linn on letrozole induced polycystic ovarian syndrome in rats. *Integrative Medicine Research*, 5(4), 293-300. <https://doi.org/10.1016/j.imr.2016.10.002>
- Sang, H. M., Ky, L. T., & Fotedar, R. (2009). Dietary supplementation of mannan oligosaccharide improves the immune responses and survival of Marron, *Cherax tenuimanus* (Smith, 1912) when challenged with different stressors. *Fish & Shellfish Immunology*, 27(2), 341–348. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2009.06.003>
- Sarker, B., Das, B., Chakraborty, S., Hossain, M. A., Alam, M. M. M., Mian, S., & Iqbal, M. M. (2022). Optimization of 17 $\alpha$ -methyltestosterone dose to produce quality mono-sex Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Heliyon*, 8(12), e12252. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e12252>
- Sasikumar, S., Eagappan, K., & Brindha, D., (2014). Qualitative characterization of solvent and cooked extracts of *Tribulus terrestris* L. Fruit. *European Journal of Medicinal Plants*, 4(8), 907-919. <https://doi.org/10.9734/EJMP/2014/8091>
- Sciuto, S., Colli, L., Fabris A., Pastorino, P., Stoppani, N., Esposito, G., Prearo, M., Esposito, G., Ajmone, M. P., Acutis, P. L., & Colussi, S. (2022). What can genetics do for the control of infectious diseases in aquaculture?. *Animals*. 12(17), 2176. <https://doi.org/10.3390/ani12172176>

- Setiawan, C. (2006). *Teknik pembenihan dan cara cepat pembesaran lobster air tawar*. Agromedia Pustaka.
- Setiawan, C. (2021). *Untung besar bisnis lobster air tawar*. Agromedia Pustaka.
- Shahid, M., Riaz, M., Talpur, M. M., & Pirzada, T. (2016). Phytopharmacology of *Tribulus terrestris*. *Journal of Biological Regulators and Homeost Agents*, 30(3), 785-788. <https://www.biolifesas.org/EN/Y2016/V30/I3/785>.
- Shen, L., Luo, H., Fan, L., Tian, X., Tang, A., Wu, X., Dong, K., & Su, Z. (2023). Potential immunoregulatory mechanism of plant saponins: a review. *Molecules*, 29(1), 113. <https://doi.org/10.3390/molecules29010113>
- Shi, X., Waiho, K., Li, X., Ikhwanuddin, M., Miao, G., Lin, F., Zhang, Y., Li, S., Zheng, H., Liu, W., Aweya, J. J., Azmie, G., Baylon, J. C., Qunitio, E. T., & Ma, H. (2018). Female-specific SNP markers provide insights into a WZ/ZZ sex determination system for mud crabs *Scylla paramamosain*, *S. tranquebarica* and *S. serrata* with a rapid method for genetic sex identification. *BMC Genomics*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12864-018-5380-8>
- Shofura., Suminto, H., & Chilmawati, D. (2017). Pengaruh penambahan: “Probio-7” pada pakan buatan terhadap efisiensi pemanfaatan pakan, pertumbuhan dan kelulushidupan benih ikan GIFT (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Sains Akuakultur Tropis*, 1(1), 10-20. <https://doi.org/10.14710/sat.v1i1.2459>
- Shodja, M., Knutsen, R., Cao, J., Oda, K., Beeson, W. L., & Knutsend, S. (2017). Effects of fasting blood sugar and glycosylated hemoglobin levels on neutrophilic phagocytic functions. *Annals of Epidemiology*, 27(8), 510. <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2017.07.072>
- Silva, R. C., Britto, D. M. C., Santos, C. A., Giordani, S. C. O., & Pedreira, M. M. (2023). Sexual differentiation and sex reversal in tilapia (*Oreochromis niloticus*) by hormone 17  $\alpha$  methyltestosterone similar to that used in cultivation systems. *Aquaculture*, 574, 739624. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739624>
- Skafar, D. N., Strelkova, O. V., & Shumeyko, D. V. (2023). Hematological parameters of the Australian red-clawed crayfish *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae) when Exposed to Air. *Inland Water Biology*, 5, 715–724. <https://doi.org/10.31857/s0320965223050157>
- Soldin, O. P. & Mattison, D. R. (2009). Sex differences in pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Clinical Pharmacokinetics*, 48(3), 143–157. <https://doi.org/10.2165/00003088-200948030-00001>



- Ștefănescu, R., Vescan, V. A., Negroiu, A., Aurică, E., & Vari, C. E. (2020). A comprehensive review of the phytochemical, pharmacological, and toxicological properties of *Tribulus terrestris* L. *Biomolecules*, 10(5), 752. <https://doi.org/10.3390/biom10050752>
- Suleman, S., Andayani, S., & Yuniarti, A. (2019). Potential of *Ulva lactuca* crude extract in increasing total haemocyte count (thc) and fagocytic activity in vaname shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan*, 10(1), 01–07. <https://doi.org/10.35316/jsapi.v10i1.230>
- Sultan, A. & Rubab, S. L. (2017). *Tribulus terrestris*. An ethnomedical & phytochemical review. *Archives of Natural and Medicinal Chemistry*, 2(2). <https://doi.org/10.29011/ANMC-106.000006>
- Sudrajat, A. O. & Sarida, M. (2006). Efektivitas pemberian aromatase inhibitor dan 17 $\alpha$ -metiltestosteron melalui pakan dalam produksi udang galah (*Macrobrachium rosenbergii* de Man) jantan. *Akuakultura Indonesiana*, 7(1), 61-67.
- Susanto, G. N., Sutyarso., & Widiyanto, W. (2021). Monosex male formation of juvenile redclaw crayfish using natural steroid hormone from gamma sea cucumber and different doses of honey bee. *Journal of Physics: Conference Series*, 1751(1), 012050. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1751/1/012050>
- Susanto, G. N., Widiastuti, E. L., Rustanti, T., & Hadi, S. (2023). Immersion in sea cucumber's steroid extract to increase male production of juvenile freshwater crayfish. *Journal Fisheries and Aquatic Science*, 26(1), 48-57. <https://doi.org/10.47853/FAS.2023.e4>
- Tassanakajon, A., Somboonwiwat, K., Supungul, P., & Tang, S. (2013). Discovery of immune molecules and their crucial functions in shrimp immunity. *Fish & Shellfish Immunology*, 34(4), 954–967. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.09.021>
- Tkachenko, K., Frontasyeva, M., Vasilev, A., Avramov, L., & Shi, L. (2020). Major and trace element content of *Tribulus terrestris* L. *Plants*, 9(12), 1764. <https://doi.org/10.3390/plants9121764>
- Toyota, K., Miyakawa, H., Hiruta, C., Sato, T., Katayama, H., Ohira, T., & Iguchi, T. (2021). Sex determination dan differentiation in decapod and cladoceran crustaceans: an overview of endocrine regulation. *Genes*, 12(2), 305. <https://doi.org/10.3390/genes12020305>
- Underhill, D. M. & Goodridge, H. S. (2012). Information processing during phagocytosis. *Natural Reviews Immunology*, 12, 492–502. <https://doi.org/10.1038/nri3244>

- Vazquez, F. J., & Greco, L. S. L. (2010). Differentiation of the sexual characters and onset of maturity in the males of the red claw crayfish, *Cherax quadricarinatus* (Von martens, 1898) (Astacidea, Astacida, Parastacidae). *Animal Biology*, 60(2), 195-208.  
<https://doi.org/10.1163/157075610x491734>
- Ventura, T. (2025). Crustacean sexual differentiation: a decapod perspective. *Current Opinion in Insect Science*, 69, 101371.  
<https://doi.org/10.1016/j.cois.2025.101371>
- Ventura, T., Manor, R., Aflalo, E. D., Weil, S., Khalaila, I., Rosen, O., & Sagi, A. (2011). Expression of an androgenic gland-specific insulin-like peptide during the course of prawn sexual and morphotypic differentiation. *International Scholarly Research Notices Endocrinology*, 2011, 1–11.  
<https://doi.org/10.5402/2011/476283>
- Widigdo, B., Hakim, A. A., Mashar, A., Sari, I. P., & Wardiatno, Y. (2020). Comparison of morphological characters of freshwater crayfish (*Cherax quadricarinatus*) from different ecosystems in Indonesia. *Jurnal Biologi Tropis*, 20(3), 507-513. <https://dx.doi.org/10.29303/jbt.v20i3.2310>
- Wiyanto. & Hartono. (2003). *Pembenihan dan pembesaran lobster air tawar*. Penebar Swadaya.
- Wu, C. & Xiang, J. (2002) Genetic determination and exogenous influence in sex differentiation in crustacean. *Developmental & Reproductive Biology*, 11, 137-144. [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-FYSX200202007.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-FYSX200202007.htm)
- Xiong, B., Wang, H., Song, Y. X., Lan, W. Y., Li, J., & Wang, F. (2025). Natural saponins and macrophage polarization: mechanistic insights and therapeutic perspectives in disease management. *Frontiers in Pharmacology*, 16. <https://doi.org/10.3389/fphar.2025.1584035>
- Yilmaz, S., Ergun, S., Kaya, H., & Gurkan, M. (2014). Influence of *Tribulus terrestris* extract on the survival dan histopathology of *Oreochromis mossambicus* (Peters, 1852) fry before and after *Streptococcus iniae* infection. *Journal of Applied Ichthyology*, 51(2), 1-7.  
<https://doi.org/10.1111/jai.12458>
- Yoon, S. (2024). Pharmacokinetics/pharmacodynamics and sex differences. *Sex/Gender-Specific Medicine in Clinical Areas*, 541–552.  
[https://doi.org/10.1007/978-981-97-0130-8\\_36](https://doi.org/10.1007/978-981-97-0130-8_36)