

Tersedia online di: <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/ma>

## EVALUASI MASKULINISASI PLATI PEDANG, *Xiphophorus helleri* MENGGUNAKAN KOMBINASI EKSTRAK BUAH PINUS, *Pinus merkusii* DAN AROMATASE INHIBITOR

Muhamad Saepul Akbar<sup>1)</sup>, Agus Oman Sudrajat<sup>2)#</sup>, Harton Arfah<sup>3)</sup>, Dinar Tri Soelistyowati<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>Institut Pertanian Bogor, Jl. Raya Dramaga, Kec. Dramaga, Kab. Bogor 16680, Jawa Barat, Indonesia

(Naskah diterima: 23 November 2023, Revisi final: 13 Maret 2024, Disetujui publikasi: 18 Maret 2024)

### ABSTRAK

Hormon 17 $\alpha$ -methyltestosterone sudah banyak digunakan untuk maskulinisasi pada kegiatan budidaya, namun, bahan tersebut bersifat karsinogenik sehingga diperlukan alternatif pengganti bahan tersebut. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi efek kombinasi ekstrak buah pinus (*Pinus merkusii*) dan aromatase inhibitor pada ikan plati pedang. Sebanyak 5 perlakuan menggunakan bahan berbeda, yaitu 17 $\alpha$ -methyltestosterone, ekstrak buah pinus, aromatase inhibitor, kombinasi ekstrak buah pinus dan aromatase inhibitor, serta kontrol dengan masing-masing 3 ulangan. Perendaman dilakukan selama 6 jam, kemudian ikan dipelihara selama 60 hari. Rasio induk jantan dan betina yang digunakan untuk pemijahan ikan pada penelitian ini adalah 1:3. Penelitian ini berfokus pada tiga parameter, yakni Tingkat Kelangsungan Hidup (TKH), Nisbah Kelamin Jantan (NKJ) dan jumlah ikan jantan yang dihasilkan pada tiap perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan ikan yang direndam pada bahan berbeda menghasilkan nilai nisbah kelamin jantan yang lebih tinggi. Dosis terbaik pada penelitian ini adalah perendaman dengan ekstrak buah pinus dengan dosis 0,02 mL L<sup>-1</sup>.

**KATA KUNCI:** *Aromatase inhibitor*; jantan; maskulinisasi; pinus; plati pedang.

**ABSTRACT:** *Evaluation of Swordtail Fish (*Xiphophorus helleri*) Masculinization Using Combination of Pine Cone (*Pinus Merkusii*) Extract and Aromatase Inhibitor*

The hormone 17 $\alpha$ -methyltestosterone has been widely used for masculinization in aquaculture, however, this material is carcinogenic and it is required to find its alternative substitutions. The aim of this research to evaluate the effects of combination of pine cone (*Pinus merkusii*) extract and aromatase inhibitor on swordtail fish. A total of 5 treatments using different materials, namely: 17 $\alpha$ -methyltestosterone, pine cone extract, aromatase inhibitor, pine cone extract mixed with aromatase inhibitor, and control with 3 replications. Immersion was conducted for 6 hour and the the fish were kept for 60 days. The ratio of male to female parents used for fish spawning was 1:3. The study focused on three parameters, i.e. survival rate, male fish percentage, and number male fish produced. The results revealed fish immersed with different materials exhibited higher male fish percentage compared to the control group (not immersed). The best treatment in this research was immersion using pine cone extract with dosage of 0.02 mL L<sup>-1</sup>.

**KEYWORDS:** *Aromatase inhibitor*; male; masculinization; pine; swordtail fish.

---

# Korespondensi: Agus Oman Sudrajat.  
Program Studi Ilmu Akuakultur, Institut Pertanian Bogor, Jl.  
Raya Dramaga, Kec. Dramaga, Kab. Bogor 16680, Jawa Barat,  
Indonesia  
E-mail: [agusom@apps.ipb.ac.id](mailto:agusom@apps.ipb.ac.id)

## PENDAHULUAN

Ikan plati merupakan komoditas yang menempati posisi ke-6 teratas produksi ikan hias nasional (KKP, 2022). Karakteristik ikan plati jantan adalah bertubuh ramping serta sirip anal menjadi gonopodium dan sirip kaudal yang berbentuk seperti pedang. Hal tersebut yang menyebabkan masyarakat lebih menyukai ikan plati jantan (Ayyapan *et al.*, 2011). Pemberian hormon steroid telah menjadi pilihan dalam produksi ikan monoseks jantan (Mousavi-Sabet & Ghasemnezhad, 2013). Hormon 17 $\alpha$ -metiltestosteron (MT) sudah banyak teruji efektivitasnya dalam *sex reversal* ikan, salah satunya mampu menghasilkan ikan gapi jantan hingga 100% (Liu *et al.*, 2021). Namun, maskulinisasi menggunakan MT mulai menyita perhatian masyarakat karena adanya potensi membahayakan bagi kesehatan manusia serta kontaminasi terhadap lingkungan karena meninggalkan residu (Hoga *et al.*, 2018; Wang & Lu, 2016). Sehingga, diperlukan adanya alternatif alami yang dapat digunakan, seperti hormon yang berasal dari tumbuhan atau fitohormon. Buah pinus (*Pinus merkusii*) adalah contoh sumber fitohormon yang berpotensi untuk substitusi hormon sintetis.

*Pinus merkusii* merupakan salah satu spesies pinus asli Indonesia. Spesies tersebut dapat ditemukan di kawasan dengan elevasi 800 hingga 2000 mdpl dan pada kawasan dengan kondisi tanah asam (Hartiningtias *et al.*, 2020). Pinus memiliki kandungan hormon testosteron sebesar 67,2  $\mu\text{g mg}^{-1}$  dan estradiol 17- $\alpha$  sebesar 9,9  $\mu\text{g mg}^{-1}$  (Kusuma *et al.*, 2022). Hasil penelitian tersebut didukung dengan pernyataan Velasco *et al.*, (2018) yang menyatakan bahwa pada beberapa spesies tertentu, terdapat kandungan testotestosterone. Selain itu, pinus juga bersifat imunostimulan pada ikan (Baluran *et al.*, 2018).

Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa terdapat kemungkinan untuk menekan sintesis estrogen dengan menghambat aktivitas aromatasenya menggunakan *non-steroidal aromatase inhibitors* (AIs), seperti fadrozole hydrochloride. Aromatase inhibitor ini sendiri adalah bahan kimia yang bersifat nonsteroid dan tidak mencemari lingkungan karena sifatnya yang mudah terurai (Sudrajat *et al.*, 2007). Penggunaan aromatase inhibitor ini didasarkan pada cara kerja bahan tersebut dalam menghambat berbagai aktivitas steroidogenesis dengan berikatan pada enzim 14-*alpha*-demethylase (CYP51) atau *cytochrome P450 aromatase* (CYP19). Efektivitas aromatase inhibitor telah diuji pada ikan nila (Ruksana *et al.*, 2010), belut (Jiang *et al.*, 2022) dan ikan cere (Doering *et al.*, 2021). Penelitian ini diharapkan dapat memberikan rekomendasi pemanfaatan ekstrak buah pinus yang dikombinasikan dengan aromatase inhibitor untuk maskulinisasi ikan plati pedang.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari sampai dengan Mei 2023. Pemeliharaan ikan dilakukan di *Teaching Farm*, Departemen Budidaya Perairan, FPIK, IPB University. Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan 5 perlakuan dan 3 ulangan (masing-masing 30 ekor larva plati pedang berumur maksimal 10 hari dengan kondisi gonad belum berkembang). Perlakuan berupa tanpa perendaman (K), 17 $\alpha$ -metiltestosteron dengan dosis 5,4 mg L<sup>-1</sup> (MT), ekstrak buah pinus 0,02 ml L<sup>-1</sup> (P), kombinasi ekstrak pinus 0,02 mL L<sup>-1</sup> dan aromatase inhibitor 20 mg L<sup>-1</sup> (PAL) dan aromatase inhibitor 20 mg L<sup>-1</sup> (AI). Perendaman dilakukan selama 6 jam, kemudian ikan dipelihara selama 60 hari.

### Pembuatan Ekstrak Buah Pinus

Buah pinus yang masih berwarna hijau gelap dicacah dan kemudian dihaluskan menggunakan blender. Hasil blender tersebut kemudian dimasukkan ke dalam oven pada suhu konstan 50 °C dengan durasi 12 jam. Selanjutnya, serbuk kembali dihaluskan. Ekstrak serbuk sari pinus dibuat mengikuti prosedur Aisyah (2017) dengan modifikasi. Sebanyak 100 g serbuk sari pinus dimasukkan ke dalam bejana gelap, lalu ditambahkan 700 ml pelarut alkohol 96%, wadah dikondisikan tertutup dengan rapat dan tidak terpapar sinar matahari langsung. Durasi tahap perendaman dilakukan selama 3 hari dan pengadukan dilakukan setiap 6 jam sekali. Campuran simplisia dan alkohol disaring sehingga diperoleh cairan ekstrak pertama. Sisa ampas direndam kembali dengan 200 ml alkohol 96% selama 1 hari, disaring dan diperoleh maserat kedua. Berdasarkan Khatimah (2018), cairan ekstrak pertama dan kedua kemudian dicampur dan dipekatkan menggunakan alat *rotary evaporator* dengan suhu dikondisikan menjadi 40 ! hingga diperoleh maserat kental. Hasil ekstrak kemudian dipindahkan ke dalam wadah terpisah dan disimpan pada lemari pendingin dengan suhu 4 !, terhindar dari sinar matahari langsung agar tidak mengalami lisis.

### Persiapan Wadah

Akuarium berukuran 40x30x30 cm dengan ketinggian air 20 cm digunakan sebagai wadah pemeliharaan larva. Wadah yang berbeda dengan dimensi dan volume air yang sama digunakan sebagai tempat pemijahan sekaligus pemisahan induk dengan larva. Akuarium yang digunakan untuk pemeliharaan, dibilas kembali sampai bersih dan diberi aerasi sebanyak selama 1 hari. Wadah yang digunakan untuk perendaman adalah akuarium soliter dengan ukuran 20x20x30 cm<sup>3</sup> dengan volume air 1 L. Wadah untuk perlakuan perendaman dan pemeliharaan dilengkapi dengan aerasi.

### Pemijahan Induk

Pemijahan ikan plati pedang dilakukan dengan menggabungkan induk jantan dan betina, dengan rasio induk 1:3 (Maddern *et al.* 2011). Proses penyatuan induk dilakukan selama 14 hari. Ketika perut induk betina mulai membesar dan terdapat bintik hitam pada bagian perutnya, menandakan ikan telah bunting dan segera dipisahkan dari induk jantan.

### Pemeliharaan Larva

Larva yang lahir dan telah diberi perlakuan dipelihara, dengan pemberian pakan alami naupli artemia dan cacing sutra. Frekuensi Pemberian pakan yang dilakukan adalah 3 kali sehari pada pukul 8 pagi, 12 siang dan 4 sore sampai berumur 60 hari pascalahir (hpl). Metode yang digunakan dalam pemberian pakan yaitu metode *at libitum*.

### Pengamatan Tingkat Kelangsungan Hidup dan Jenis Kelamin Ikan

Pengamatan jenis kelamin ikan dilakukan secara visual dengan mengamati morfologinya pada akhir pemeliharaan. Ikan plati pedang jantan memiliki tubuh ramping, berwarna cerah, serta sirip kaudal yang berbentuk seperti pedang. Sedangkan ikan plati pedang betina bertubuh cenderung besar dibandingkan dengan ikan jantan, berwarna pucat, serta tidak terdapat modifikasi bentuk sirip kaudal. Data nisbah kelamin jantan (NKJ) ikan plati pedang jantan yang diperoleh, diolah menggunakan rumus berikut :

$$NKJ(\%) = \frac{\text{total ikan jantan}}{\text{total ikan teramati}} \times 100$$

Data tingkat kelangsungan hidup (TKH) yang diperoleh selanjutnya diolah menggunakan rumus sebagai berikut :

$$TKH(\%) = \frac{\text{total ikan pada akhir pengamatan}}{\text{total ikan pada awal pengamatan}} \times 100$$

Data kinerja bahan terhadap 17 $\alpha$ -metiltestosteron (MT) yang diperoleh selanjutnya diolah menggunakan rumus berikut :

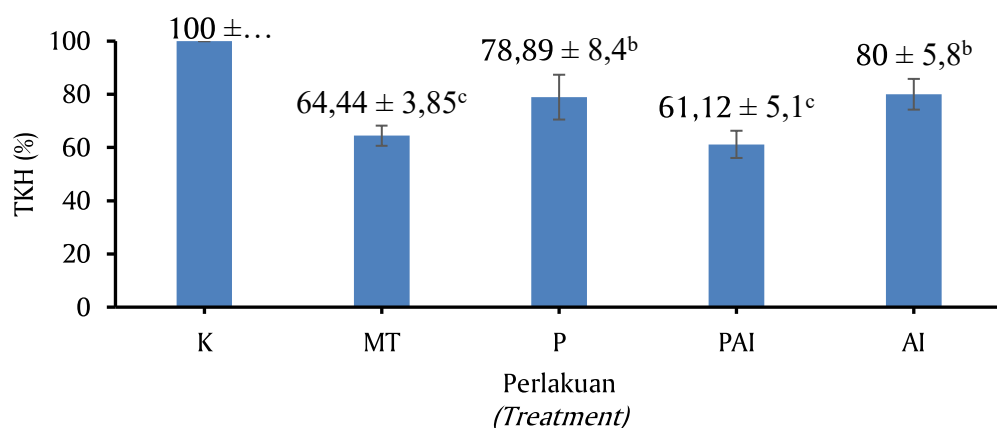
$$\text{Kinerja}(\%) = \frac{\text{NKJ bahan}}{\text{NKJ MT}} \times 100$$

Data hasil penelitian diolah dan dianalisis menggunakan *microsoft excel* 2019 dan SPSS versi 26.0. Sebelum dilakukan analisis ragam (ANOVA), data terlebih dahulu dilakukan pengujian normalitas dan homogenitas. Analisis ragam pada selang kepercayaan 95% dilakukan untuk menentukan beda nyata perlakuan terhadap 5 parameter uji. Uji lanjut Duncan dilakukan ketika terdapat hasil yang berbeda nyata.

### HASIL DAN BAHASAN

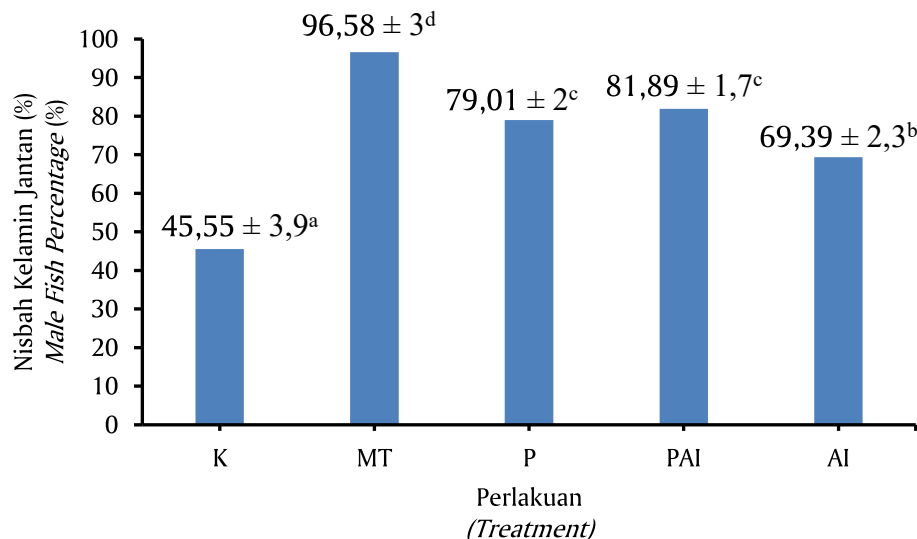
#### Tingkat Kelangsungan Hidup (TKH)

Hasil menunjukkan bahwa pada ikan yang diberi perlakuan perendaman mengalami kematian, sedangkan perlakuan K tidak mengalami kematian. Perendaman pada perlakuan P (78,89%) dan AI (80%) memiliki nilai TKH tertinggi dibandingkan perlakuan perendaman lainnya. Namun, perlakuan MT (64,44%) dan PAI (61,12%) memiliki nilai TKH terendah ( $p < 0,05$ ). Nilai TKH selama perendaman disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Nilai tingkat kelangsungan hidup (TKH) ikan plati pedang pada saat dilakukan perendaman pada perlakuan tanpa perendaman (K), 17 $\alpha$ -metiltestosteron dengan dosis 5,4 mg L<sup>-1</sup> (MT), ekstrak buah pinus 0,02 ml L<sup>-1</sup> (P), kombinasi ekstrak pinus 0,02 mL L<sup>-1</sup> dan aromatase inhibitor 20 mg L<sup>-1</sup> (PAI), dan aromatase inhibitor 20 mg L<sup>-1</sup> (AI).

Figure 1. Survival rate during immersion on treatment without immersion (K), 5,4 mg L<sup>-1</sup> 17 $\alpha$ -methyltestosterone (MT), 0,02 ml L<sup>-1</sup> pine cone extract (P), combination of 0,02 mL L<sup>-1</sup> pine cone extract and 20 mg L<sup>-1</sup> aromatase inhibitor (PAI), and 20 mg L<sup>-1</sup> aromatase inhibitor (AI).



Gambar 2. Nilai nisbah kelamin jantan pada ikan plati pedang yang diperoleh setelah diberi perlakuan dan dipelihara selama 60 hari pada perlakuan tanpa perendaman (K), 17 $\alpha$ -metilttestosteron dengan dosis 5,4 mg L<sup>-1</sup> (MT), ekstrak buah pinus 0,02 ml L<sup>-1</sup> (P), kombinasi ekstrak pinus 0,02 ml L<sup>-1</sup> dan aromatase inhibitor 20 mg L<sup>-1</sup> (PAI), dan aromatase inhibitor 20 mg L<sup>-1</sup> (AI).

Figure 2. Male fish percentage on each materials after 60 days of rearing on treatment without immersion (K), 5,4 mg L<sup>-1</sup> 17 $\alpha$ -methyltestosterone (MT), 0,02 ml L<sup>-1</sup> pine cone extract (P), combination of 0,02 ml L<sup>-1</sup> pine cone extract and 20 mg L<sup>-1</sup> aromatase inhibitor (PAI), and 20 mg L<sup>-1</sup> aromatase inhibitor (AI).

Kematian yang terjadi diduga akibat dosis hormon yang masih bersifat letal atau waktu perendaman yang terlalu lama. Berdasarkan penelitian Liao *et al.*, (2014), paparan hormon dengan dosis sub-letal selama fase sensitif dari diferensiasi seks tidak berpengaruh terhadap kematian, kemampuan menetas dan pertumbuhan ikan. Namun, hal tersebut dapat menyebabkan *endocrine-disrupting effect* yang cukup kuat sepanjang fase dewasa hingga keturunan berikutnya dari ikan yang terpapar hormon eksogen tersebut. Perubahan yang dapat terjadi diantaranya adalah terganggunya ekspresi gen yang bertanggung jawab dalam sintesis estrogen (seperti gonadal CYP19A) dan metabolisme (seperti hepatic CYP3A), terganggunya fenotipe seksual, penurunan sintesis vitellogenin dan penurunan performa seksual ketika dewasa dan kerancuan pada keturunan pertama (F1). Menurut Alcantar-Vazquez (2018), tingkat kelangsungan hidup ikan yang diberikan perlakuan hormon, akan sangat bergantung pada jenis hormon yang digunakan (alami atau buatan), konsentrasi yang digunakan, penentuan waktu dalam pengaplikasiannya, serta durasi yang digunakan (Mirea *et al.*, 2013).

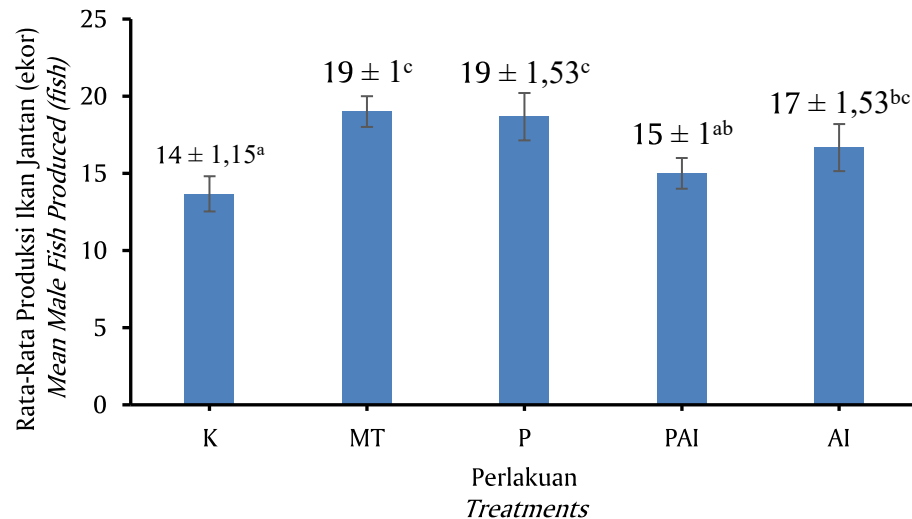
Secara umum, gangguan terhadap imunitas ikan akan mengancam kelangsungan hidup larva. Steroid sintetis yang digunakan dalam produksi monoseks menyebabkan kematian yang tinggi pada beberapa spesies. Pada kasus tertentu, penggunaan MT berdampak negatif pada kelangsungan hidup, hingga menyebabkan kematian lebih dari 50% (Abo-Al-Ela 2018). Penelitian yang dilakukan oleh Abo-Al-Ela *et*

*al.*, (2017), mengatakan bahwa aplikasi hormone MT dapat meningkatkan kematian pada larva dalam dosis tertentu. Selain itu, kematian tersebut dihubungkan dengan ekspresi yang berkaitan dengan imunitas. Hormon steroid memainkan peran yang sangat penting dalam memodulasi sistem imun. Namun, masih banyak perdebatan terkait efek dari androgen dalam menekan atau menstimulasi tingkat imunitas. Dengan kata lain, terdapat kemungkinan bahwa hormon androgen dapat berdampak positif maupun negative terhadap kesehatan dan pertumbuhan ikan (Abo-Al-Ela 2018). Hasil tersebut mengindikasikan bahwa testosteron diduga bekerja sebagai immunosupresan. Testosteron juga diketahui dapat memediasi kematian sel pada sistem lain. Testosteron bertanggung jawab dalam kematian dari sel granulosa saat terjadinya atresia folikuler dan kematian saraf selektif selama perkembangan sistem saraf pusat.

#### Nisbah Kelamin Jantan (NKJ)

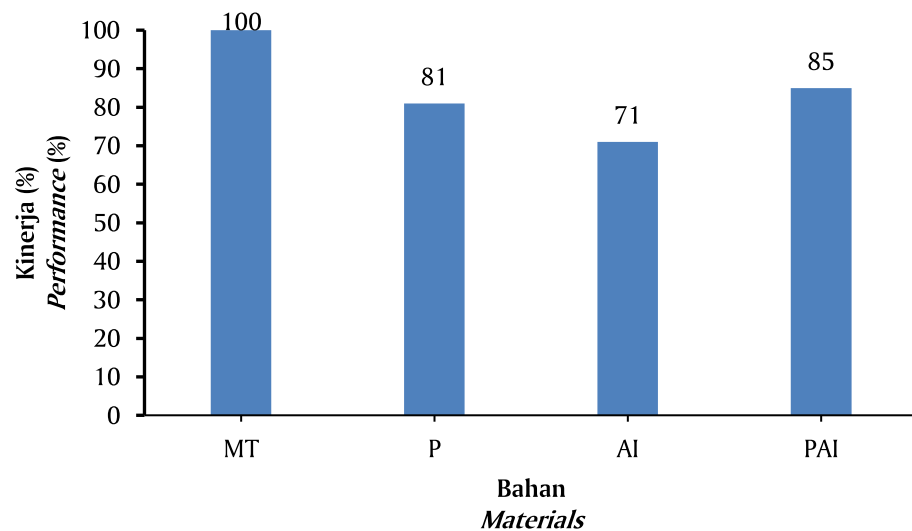
Hasil menunjukkan bahwa pada ikan yang diberi perlakuan perendaman menghasilkan nilai NKJ yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan kontrol. Perlakuan K memiliki nilai NKJ yang paling rendah, yakni sebanyak 45,55% dan berbeda nyata dengan perlakuan lain ( $P < 0,05$ ). Perendaman pada perlakuan MT memiliki nilai NKJ yang tertinggi, yakni mencapai 96,58% dan secara statistik berbeda nyata dengan seluruh perlakuan lainnya. Perlakuan P dan PAI memiliki nilai NKJ secara berturut-turut mencapai





Gambar 3. Rata-rata produksi ikan jantan yang diperoleh pada perlakuan tanpa perendaman (K), 17 $\alpha$ -metilttestosteron dengan dosis 5,4 mg L<sup>-1</sup> (MT), ekstrak buah pinus 0,02 ml L<sup>-1</sup> (P), kombinasi ekstrak pinus 0,02 mL L<sup>-1</sup> dan aromatase inhibitor 20 mg L<sup>-1</sup> (PAI), dan aromatase inhibitor 20 mg L<sup>-1</sup> (AI)

Figure 3. Mean male produced on each materials on treatment without immersion (K), 5,4 mg L<sup>-1</sup> 17 $\alpha$ -methyltestosterone (MT), 0,02 ml L<sup>-1</sup> pine cone extract (P), combination of 0,02 mL L<sup>-1</sup> pine cone extract and 20 mg L<sup>-1</sup> aromatase inhibitor (PAI), and 20 mg L<sup>-1</sup> aromatase inhibitor (AI)



Gambar 4. Kinerja tiap bahan dibandingkan dengan kinerja MT pada perlakuan tanpa perendaman (K), 17 $\alpha$ -metilttestosteron dengan dosis 5,4 mg L<sup>-1</sup> (MT), ekstrak buah pinus 0,02 ml L<sup>-1</sup> (P), kombinasi ekstrak pinus 0,02 mL L<sup>-1</sup> dan aromatase inhibitor 20 mg L<sup>-1</sup> (PAI), dan aromatase inhibitor 20 mg L<sup>-1</sup> (AI)

Figure 4. Performance on each materials compared to MT for masculinization on treatment without immersion (K), 5,4 mg L<sup>-1</sup> 17 $\alpha$ -methyltestosterone (MT), 0,02 ml L<sup>-1</sup> pine cone extract (P), combination of 0,02 mL L<sup>-1</sup> pine cone extract and 20 mg L<sup>-1</sup> aromatase inhibitor (PAI), and 20 mg L<sup>-1</sup> aromatase inhibitor (AI)

79,01% dan 81,89%. Sedangkan untuk perlakuan AI, nilai NKJ yang diperoleh adalah sebesar 69,39%. Nilai NKJ dan rata-rata produksi individu jantan yang diperoleh tiap perlakuan disajikan pada Gambar 2.

Penelitian yang dilakukan oleh Abaho *et al.*, (2022) mengungkapkan bahwa penggunaan pinus diharapkan mampu mendorong proses perkembangan seksual cenderung ke arah individu jantan. Penerapan dari

ekstrak berbahan dasar tanaman telah banyak dilakukan sebagai alternatif dari penggunaan hormon sintetis untuk menghasilkan benih dengan jenis kelamin jantan. Hal tersebut dikarenakan penggunaan bahan alami dianggap lebih ramah lingkungan dan merupakan pendekatan yang lebih aman (Bilen *et al.*, 2019; Hasan *et al.*, 2021). Sebagai contoh, penggunaan pinus mulai menarik perhatian sebagai alternatif dari MT dalam

menghasilkan populasi *all-male* pada ikan (Nian *et al.*, 2017; Nieves, 2017). Pinus mengandung testosterone dan merupakan salah satu senyawa bioaktif utama (Janeczko & Skoczowski, 2005; Velasco *et al.*, 2018), yang merupakan steroid androgenik yang mampu menginduksi perkembangan karakteristik reproduktif jantan pada vertebrata, termasuk ikan (Celik *et al.*, 2011; Leet *et al.*, 2011).

Penelitian yang dilakukan oleh Jiang *et al.*, (2022) menunjukkan hasil bahwa juvenil belut yang diberi perlakuan aromatase inhibitor tidak mengalami perkembangan ovarium dan kemudian belut tersebut berkembang menjadi jantan. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa adanya peran penting dari estrogen dalam mengarahkan jenis kelamin menjadi betina. Salah satu faktor pembatas dalam sintesis estrogen adalah katalisis aromatase dan tingkat estrogen menjadi menurun secara signifikan ketika adanya aktivitas dari aromatase inhibitor. Tidak tersedianya estrogen dalam jumlah yang memadai pada ovarium berujung pada degenerasi oosit, dengan diferensiasi *gonadal epithelium germ cells* menjadi spermatogonia, serta transformasi secara berkala ovarium menjadi testis. Selain itu, kadar hormon androgen (testosterone dan 11-ketotestosterone) secara berkala meningkat. Pada penelitian ini, ditemukan hasil bahwa kombinasi antara ekstrak buah pinus dengan aromatase inhibitor mampu meningkatkan nilai NKJ pada ikan plati pedang.

## KESIMPULAN

Ekstrak buah pinus dapat meningkatkan kinerja maskulinisasi pada ikan plati pedang. Ekstrak buah pinus mampu memberikan kinerja maskulinisasi hingga 81% dari kinerja MT. Dosis optimal untuk maskulinisasi ikan plati pedang berdasarkan penelitian ini adalah ekstrak pinus dengan dosis 0,02 mL L<sup>-1</sup>.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis ucapkan untuk IPB atas pendanaan studi melalui Program Beasiswa Sinergi. Tak lupa juga ucapan terima kasih kepada seluruh laboran dan teknisi yang atas perizinan dan pengarahan penggunaan fasilitas laboratorium untuk keberlangsungan penelitian ini.

## DAFTAR ACUAN

- Abaho, I., Akoll, P., Jones, C. L. W., & Masembe, C. (2022). Dietary inclusion of pine pollen alters sex ratio and promotes growth of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L. 1758). *Aquaculture Reports*, 27, 1 – 10.
- Abo-Al-Ela, H. G. (2018). Hormones and fish monosex farming: a spotlight on immunity. *Fish and Shellfish Immunology*, 72, 23–30.

- Immunology, 72, 23–30.
- Abo-Al-Ela, H. G., El-Nahas, A. F., Mahmoud, S., Ibrahim, E. M. (2017). The extent to which immunity, apoptosis and detoxification gene expression interact with 17 alphamethyltestosterone. *Fish and Shellfish Immunology*, 60, 289–298.
- Aisyah. (2017). Pengembangan Material Pengantar Herbal: Komposit Nanotabung Imogolit/Tabat Barito (*Ficus deltoidea*) Sebagai Film Antibakteri. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor
- Alcantar-Vazquez, J. P. (2018). Sex proportion in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fed estrogen mixtures: A case of paradoxical masculinization. *Latin American Journal of Aquatic Research*. 46(2), 337–345.
- Ayyappan, S., Jena, J. K., Gopalakrishnan, A., Pandey, A. K. (2011). *Handbook of fisheries and aquaculture*. Indian Council of Agricultural Research (p. 755). India: Directorate of Information and Publications of Agriculture, Indian Council of Agricultural Research.
- Baluran, S. M. D. L., Quiazon, K. M., Garcia, G. G., Fernando, S. I. D., Velasco, R. R. (2018). Immunostimulatory effect of benguet pine (*Pinus kesiya*) pollen on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *International Journal of Biological Pharmacy & Allied Science*, 7(9), 1652–1663.
- Bilen, S., Kenanoglu, O. N., Terzi, E., Ozdemir, R. C., Sonmez, A. Y. (2019). Effects of tetra (*Cotinus coggyria*) and common mallow (*Malva sylvestris*) plant extracts on growth performance and immune response in Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata*) and European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 512.
- Celik, I., Guner, Y., & Celik, P. I. N. A. R. (2011). Effect of orally-administered 17 $\alpha$ -Methyltestosterone at different doses on the sex reversal of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1758). *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10(7), 853-857.
- Doering, J. A., Villeneuve, D. L., Tilton, C. B., Kittelson, A. R., Blackwell, B. R., Kahl, M. D., & Ankley, G. T. (2021). Assessing effects of aromatase inhibition on fishes with group-synchronous oocyte development using western mosquitofish (*Gambusia affinis*) as a model. *Aquatic Toxicology*, 232, 105741.
- Hartiningtias, D., Fule, P. Z., & Gunawan, A. A. (2020). Wildfire effects on forest structure of *Pinus merkusii* in Sumatra, Indonesia. *Forest Ecology and Management*, 457, 117660.
- Hasan, N. A., Haque, M. M., Bashir, A., Hasan, M. T., Faruk, M. A. R., & Ahmed, G. U. (2021). Effects of dietary Papaveraceae extract on growth, feeding

- response, nutritional quality and serum biochemical indices of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Aquaculture Reports*, 21, 100793.
- Hoga, C. A., Almeida, F. L., & Reyes, F. G. (2018). A review on the use of hormones in fish farming: Analytical methods to determine their residues. *CyTA-Journal of Food*, 16(1), 679-691.
- Janeczko, A., & Skoczowski, A. (2005). Mammalian sex hormones in plants. *Folia Histochemica et cytobiologica*, 43(2), 71-79.
- Jiang, Y., Luo, H., Hou, M., Chen, J., Tao, B., Zhu, Z., & Hu, W. (2022). Aromatase inhibitor induces sex reversal in the protogynous hermaphroditic rice field eel (*Monopterus albus*). *Aquaculture*, 551, 737960.
- [KKP] Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2022. Laporan Kinerja Triwulan Dua. [diunduh 2022 November 8]. Tersedia dari : <https://kkp.go.id/an-component/media/upload-gambar-pendukung/DJPB/Laporan%20Kinerja/2.%20LKJ%20DJPB%20TW%202%202022.pdf>
- Kusuma, E., Sudrajat, A. O., Arfah, H., & Alimuddin, A. (2022). Keberhasilan maskulinisasi dan kinerja reproduksi ikan gapi, *Poecilia reticulata* diberi ekstrak serbuk sari pinus melalui pakan. *Jurnal Riset Akuakultur*, 16(3), 177-183.
- Leet, J. K., Gall, H. E., & Sepúlveda, M. S. (2011). A review of studies on androgen and estrogen exposure in fish early life stages: effects on gene and hormonal control of sexual differentiation. *Journal of Applied Toxicology*, 31(5), 379-398.
- Liao, P. H., Chu, S. H., Tu, T. Y., Wang, X. H., Lin, A. Y. C., & Chen, P. J. (2014). Persistent endocrine disruption effects in medaka fish with early life-stage exposure to a triazole-containing aromatase inhibitor (letrozole). *Journal of Hazardous Materials*, 277, 141-149.
- Liu, S., Xu, P., Liu, X., Guo, D., Chen, X., Bi, S., & Li, G. (2021). Production of neo male mandarin fish *Siniperca chuatsi* by masculinization with orally administered 17 $\alpha$ -methyltestosterone. *Aquaculture*, 530, 735904.
- Maddern, M. G., Gill, H. S., Morgan, D. L. (2011). Biology and invasive potential of the introduced swordtail *Xiphophorus hellerii* Heckel (Poeciliidae) in Western Australia. *Aquatic Conservation: Marine And Freshwater Ecosystems*, 21(3), 282-291.
- Mirea, C., Cristea, V., Grecu, I. R., Dediu, L. (2013). Influence of different water temperature on intensive growth performance of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* Linnaeus 1758 in a recirculating aquaculture system. *Lucrări de Cercetare Zootehnică*, 60, 227-231.
- Mousavi-Sabet, H., & Ghasemnezhad, H. (2013). Masculinization, mortality and growth rates of swordtail *Xiphophorus hellerii* (Poeciliidae) affected by methyltestosterone. *Poeciliid Research*, 3(1).
- Nian, C. T., Tumbokon, B. L. M., & Serrano, A. E. (2017). Pinus tabulaeformis Pollen as Replacement for 17-alpha-methyltestosterone in the Diet of *Oreochromis niloticus* Larvae for Sex Reversal and Growth. *Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 69.
- Nieves, P. M. (2017). On-farm trials of phytoandrogen for sex inversion of tilapia. *Kuroshi o Sci*, 11, 8-13.
- Ruksana, S., Pandit, N. P., & Nakamura, M. (2010). Efficacy of exemestane, a new generation of aromatase inhibitor, on sex differentiation in a gonochoristic fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 152(1), 69-74.
- Sudrajat, A. O., Astutik, I. D., & Arfah, H. (2007). Seks reversal ikan nila merah (*Oreochromis* sp.) melalui perendaman larva menggunakan aromatase inhibitor. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 6(1), 103-108.
- Velasco, R. R., Dollente, D. J. M., Natividad, L. R., & Abella, T. A. (2018). Benguet pine pollen (*Pinus kesiya*) as natural source of phytoandrogen. *Journal of Biology, Pharmacy & Allied Sciences*, 7(6), 1121-1132.
- Wang, M., & Lu, M. (2016). Tilapia polyculture: a global review. *Aquaculture research*, 47(8), 2363-2374.