

## Efektivitas Ekstrak Daun Murbei dalam Menstimulasi Peningkatan Kandungan Ekdisteroid Hemolimph dan Molting Kepiting Bakau (*Scylla olivacea*)

Effectivity of mulberry leaf extract on stimulating ecdysteroid hemolymph content and molting of mud crab (*Scylla olivacea*)

Yushinta Fujaya<sup>1✉</sup>, Dody Dharmawan Trijuno<sup>1</sup>, Haryati<sup>1</sup>, Hasnidar<sup>2</sup>, Muhammad Rusdi<sup>3</sup>, Zainal Usman<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin Jl. Perintis Kemerdekaan Km 10 Tamalanrea Makassar 90245

<sup>2</sup>Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Muslim Indonesia, Makassar, Indonesia

<sup>3</sup>Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin, Makassar, Indonesia

<sup>4</sup>Politeknik Kelautan dan Perikanan, Bone, Indonesia

✉correspondent author: yushinta.fmuskar@gmail.com

### Abstrak

Penelitian ini bertujuan mempelajari kinerja fitoekdisteroid dari daun murbei dalam menstimulasi molting kepiting bakau. Penelitian dilaksanakan di Pusat Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Payau Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin yang terletak di Desa Bojo, Kecamatan Mallusetasi, Kabupaten Barru, Propinsi Sulawesi Selatan. Kepiting bakau (*Scylla olivacea*) dengan berat 45-55 g dan lebar karapas 60-65 mm digunakan sebagai hewan uji. Ada lima dosis ekstrak daun murbei yang diaplikasi melalui pakan, yakni : A) 1,1 mg/g pakan, B) 1,9 mg/g pakan, C) 2,7 mg/g pakan, D) 3,5 mg/g pakan. Kepiting dipelihara secara individu dalam kotak plastik yang mengapung di atas permukaan tambak. Selama pemeliharaan, kepiting diberi pakan ikan rucah kering sebanyak 3% berat badan per hari yang telah diperkaya dengan ekstrak daun murbei. Parameter yang diamati adalah senyawa ekdisteroid yang terkandung dalam ekstrak daun murbei, kandungan ekdisteroid hemolimph sebelum dan sesudah aplikasi ekstrak daun murbei, dan persentase molting. Identifikasi senyawa ekdisteroid yang terkandung dalam ekstrak daun murbei dilakukan menggunakan Thin Layer Chromatography (TLC) dan Pengukuran kandungan ecdysteroid dalam hemolimph kepiting dilakukan menggunakan Ultra Fast Liquid Chromatography (UFLC). Hasil penelitian menunjukkan bahwa dosis 3.5 mg ekstrak daun murbei/g pakan memberikan peningkatan ekdisteroid hemolimph tertinggi yaitu kurang lebih sebanyak 1760 ng ekdisteroid per mL hemolimph, sedangkan dosis 1.1 mg/g pakan hanya memberikan peningkatan sebesar 100 ng ekdisteroid per mL hemolimph. Semakin tinggi dosis ekstrak daun murbei dalam pakan semakin tinggi pula peningkatan konsentrasi ekdisteroid hemolimph, namun konsentrasi ekdisteroid yang tinggi dalam hemolimph tidak menjamin terjadinya molting. Dosis optimal ekstrak daun murbei dalam pakan untuk menstimulasi molting adalah 2.4 mg/g pakan.

Kata kunci: murbei, fitoekdisteroid, kepiting, molting, budidaya

### Abstract

This study aims to study the performance of phytoecdysteroids from mulberry leaves in molting stimulating of mangrove crabs. The research was carried out at the Research and Development Center for Aquaculture at the Faculty of Marine Sciences and Fisheries at Hasanuddin University, located in Bojo Village, Mallusetasi District, Barru Regency, South Sulawesi Province. Mangrove crabs (*Scylla olivacea*) weighing 45-55 g and carapace widths 60-65 mm were used as test animals. There were five doses of mulberry leaf extract applied through feed, namely: A) 1.1 mg / g feed, B) 1.9 mg / g feed, C) 2.7 mg / g feed, D) 3.5 mg / g feed. Crabs were kept individually in plastic boxes that are floated above the surface of the pond. During rearing, crabs are fed 3% dry fish per day which has been enriched with mulberry leaf extract. The parameters observed were ecdysteroid compounds contained in mulberry leaf extract, ecdysteroid content in hemolymph before and after application of mulberry leaf extract, and molting percentage. Identification of the ecdysteroid compounds contained in mulberry leaf extract was carried out using Thin Layer Chromatography (TLC) and Measurement of the content of ecdysteroids in crab hemolymph was carried out using Ultra Fast Liquid Chromatography (UFLC). The results showed that the 3.5 mg dose of mulberry leaf extract / g feed gave the highest increase in ecdysteroid hemolymph, which was approximately 1760 ecdysteroid per mL hemolymph, while the dose of 1.1

mg / g feed only provided an increase of 100 ng ecdysteroid per mL hemolymph. The higher the dose of mulberry leaf extract in the feed, the higher the increase in the concentration of hemolymph ecdysteroids, but the high concentration of ecdysteroid in the hemolymph does not guarantee molting. The optimal dose of mulberry leaf extract in the feed stimulating molting was 2.4 mg / g of feed.

Keywords: mulberry, phytoecdysteroid, molting, crab, aquaculture

## Pendahuluan

Kepiting cangkang lunak atau populer disebut SOKA sesungguhnya adalah kepiting bakau (*Scylla spp*) yang dibudidayakan secara khusus hingga mereka melepaskan kulitnya yang keras. Budidaya Kepiting soka dewasa ini sangat diminati karena mampu meningkatkan nilai jual kepiting. Sayangnya, bahan baku untuk memproduksi kepiting soka masih ditangkap dari alam dan karena umum menggunakan ukuran kecil sekitar 70-100 gram sebagai bibit maka budidaya ini sangat rentan mengancam kelestarian sumberdaya kepiting di alam.

Keberhasilan pembibitan kepiting diharapkan mampu mengatasi masalah tersebut. Masalah pembenihan untuk bibit kepiting soka tidak hanya terbatas pada pembenihan dipanti benih pada fase zoea hingga juvenil yang hingga saat ini masih memiliki mortalitas yang sangat tinggi, namun juga pembesaran dari juvenile hingga ukuran  $\pm 70$  gram.

Molting adalah salah satu faktor penting dalam budidaya karena terkait dengan pertumbuhan dan produksi. Molting pada arthropoda, mulai dari invertebrata hingga krustasea adalah esensial untuk pertumbuhan (Kuballa dan Elizur, 2007). Molting akan terjadi setelah terjadi pertumbuhan jaringan tubuh yang terbungkus eksoskeleton yang keras. Demi memperbesar dimensi tubuh maka penggantian eksoskeleton lama yang keras perlu dilakukan (Luppi et al., 2004). Pertumbuhan jaringan terjadi secara kontinu pada krustacea, namun peningkatan dimensi eksternal adalah diskontinu. Proses pertumbuhan tersebut haruslah melewati serangkaian proses molting atau ecdysis (Hartnoll, 1983).

Penggunaan vitomolt yang mengandung fitoekdisteroid diharapkan mampu memacu pertumbuhan dan molting kepiting. Fitoekdisteroid adalah ecdysteroid yang diisolasi dari tumbuhan. Senyawa ini ditemukan sejak 1966 dan dilaporkan berperan menstimulasi sintesis protein pada hewan dan manusia, juga bersifat adaptogenic, antimutagenic, hypocholesterolemic, Immunostimulating, nutritive, dan penambah stamina (Lafont dan Dinan, 2003). Fitoekdisteroid memiliki struktur yang analog dengan hormon molting invertebrata yakni ecdyson (Klein, 2004). Proses molting dimulai ketika sel-sel epidermal merespon perubahan hormonal melalui peningkatan laju sintesis protein (Meyer, 2007).

Penggunaan fitoekdisteroid dari tanaman bayam dalam produksi kepiting soka telah dilakukan sejak tahun 2008 dan secara signifikan mampu menstimulasi molting kepiting (Fujaya, 2011). Melalui berbagai riset penyempurnaan, formula vitomolt yang

mengandung fitoekdisteroid dikembangkan tidak saja bersumber dari tanaman bayam namun juga dari tanaman murbei yang lebih mudah didapatkan dengan harga murah (Fujaya et al., 2012).

Aplikasi vitomolt melalui penyuntikan cukup efektif dalam produksi kepiting soka, namun untuk produksi bibit kepiting soka, cara ini kurang efisien. Aplikasi vitomolt melalui pakan diduga dapat mengatasi masalah tersebut. Namun karena fitoekdisteroid dapat mudah larut dalam air maka masih diperlukan pencarian dosis optimal dan upaya menghambat larutnya fitoekdisteroid tersebut. Chitosan diduga dapat membantu untuk berperan sebagai coating.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari kandungan fitoekdisteroid pada daun murbei dan efektivitas kinerja ekstrak daun murbei yang diaplikasi melalui pakan dalam menstimulasi molting dalam rangka produksi bibit kepiting soka. Aplikasi ekstrak daun murbei melalui pakan diharapkan dapat lebih efisien dalam pelaksanaannya secara massal.

## **Bahan dan Metode**

### **Hewan uji**

Kepiting bakau (*Scylla olivacea* Herbst, 1979), sebanyak 120 ekor berukuran berat 45-55 g dan lebar karapas 60-65 cm. Selama pemeliharaan kepiting diberi pakan ikan rucah sebanyak 3% berat badan per hari. Pakan yang diberikan telah diperkaya ekstrak daun murbei dengan dosis sesuai perlakuan. Kepiting dipelihara hingga molting.

### **Pengkayaan pakan dengan ekstrak daun murbei**

Pakan berupa ikan rucah kering ditimbang sesuai kebutuhan (250 g per perlakuan). Sejumlah ekstrak daun murbei sesuai perlakuan (A=274 mg, B=475 mg, C=675 mg, D=875 mg) dilarutkan dalam etanol 80% sebanyak 20 mL. Selanjutnya pakan disemprot dengan larutan ekstrak secara merata kemudian dikering anginkan. Untuk mencegah ekstrak larut dalam air saat pemberian pakan maka pakan selanjutnya dicoating menggunakan larutan chitosan 1%. Larutan chitosan disiapkan dengan cara melarutkan 10 g chitosan dalam 1000 mL larutan cuka 2%. Coating dilakukan dengan cara menyemprot pakan dengan 20 mL larutan chitosan.

### **Koleksi dan ekstraksi hemolimph**

Koleksi hemolimph dilakukan dua kali selama penelitian, yakni: 1) sebelum perlakuan ekstrak daun murbei, dan 2) pada 6 hari aplikasi masing-masing terhadap tiga sampel kepiting. Hemolimph kepiting diambil dari pangkal kaki jalan kelima menggunakan syringe 1-mL dengan jarum suntik berukuran 27-gauge. Hemolimph sebanyak 1 mL disimpan dalam

eppendoft dan dicampur dengan antikuagulan dengan perbandingan 1:1, selanjutnya sampel disimpan di lemari pendingin (freezer) dengan suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ , hingga siap untuk diekstraksi. Prosedur ekstraksi yakni 3mL dietil ether ditambahkan ke dalam 1mL hemolimph, dihomogenkan menggunakan vortex selama 30 detik, lalu didiamkan selama 2 menit. Lapisan bagian atas merupakan fase ether yang mengandung steroid. Residu yang tertinggal diekstraksi kembali sebanyak 3 kali kemudian dikumpulkan dan dikisatkan hingga kering pada suhu  $40^{\circ}\text{C}$ .

### **Pengukuran kandungan ekdisteroid**

Identifikasi kandungan ekdisteroid ekstrak daun murbei dilakukan menggunakan Thin Layer Chromatography sedangkan pengukuran kandungan ekdisteroid hemolimph dilakukan menggunakan Ultra Fast Liquid Chromatography (UFLC) Shimadzu LC-20 AD. Kolom: Shim-Pack ODS C18 250x4.6 mm. Sistem Fase Terbalik. Fase gerak = Metanol – Air (80:20 v/v). Laju Alir 1 mL/menit. Suhu kolom  $40^{\circ}\text{C}$ . Detektor Photodiode array (UV) 246 nm. Volume injeksi 20  $\mu\text{L}$ . Kuantifikasi ekdisteroid menggunakan seri standar 20-hydroxyecdysone (Sigma).

### **Rancangan percobaan**

Percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan empat perlakuan dan tiga ulangan. Ada empat perlakuan dosis ekstrak daun murbei yang dicobakan, yakni: A (1,1 mg /g pakan), B (1,9 mg /g pakan), C (2,7 mg /g pakan), dan D (3.5 mg /g pakan). Masing-masing perlakuan diulang tiga kali dan setiap unit percobaan terdiri atas 10 keping.

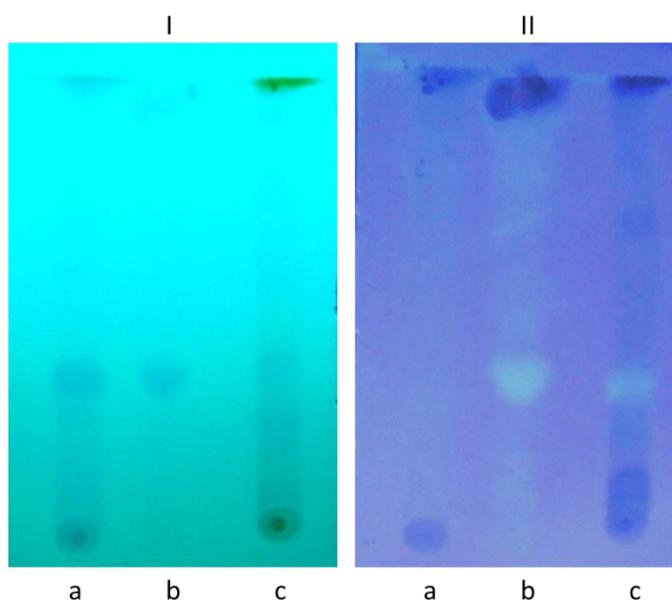
### **Analisis data**

Data kadar hormon ekdisteroid dan persentase molting, dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA). Kromatogram Lapis Tipis dan UFLC senyawa ekdisteroid ditampilkan dalam bentuk gambar dan dianalisis secara deskriptif. Dosis optimal ekstrak daun murbei dalam pakan diduga menggunakan persamaan regresi.

### **Hasil dan Pembahasan**

Ekdisteroid yang dikandung ekstrak daun murbei sebagaimana yang terkandung dalam ekstrak bayam (Fujaya et al., 2011) dapat dimanfaatkan oleh keping. Meskipun berasal dari tanaman, namun kelompok senyawa ekdisteroid keduanya, baik pada bayam dan murbei maupun pada keping memiliki kemiripan. Fitoekdisteroid adalah senyawa kimia yang disintesis oleh tanaman untuk melindungi diri dari insekta yang memakan tanaman (Klein, 2004). Komponen senyawanya sama dengan ekdisteroid, suatu hormon yang digunakan oleh arthropoda dan keluarga krustasea untuk proses molting yang dikenal dengan istilah

ekdisis. Banyak jenis ekdisteroid yang ditemukan pada hewan, misalnya pada ulat sutera (*Bombyx mori*) terdapat sedikitnya 19 ecdysteroid. Sedangkan pada tanaman telah diidentifikasi lebih dari 250 ecdysteroid analog. Bahkan, lebih dari 1000 struktur yang mungkin muncul secara alami (Dinan, 2001). Diantara banyak ekdisteroid tersebut, umum terdapat pada tanaman maupun hewan adalah 20-hydroxyecdysone (20-HE). Hasil pengamatan senyawa ekdisteroid pada tanaman bayam dan murbei menggunakan Kromatografi Lapis Tipis menunjukkan kelompok senyawa yang mirip dengan 20-HE (Gambar 1)



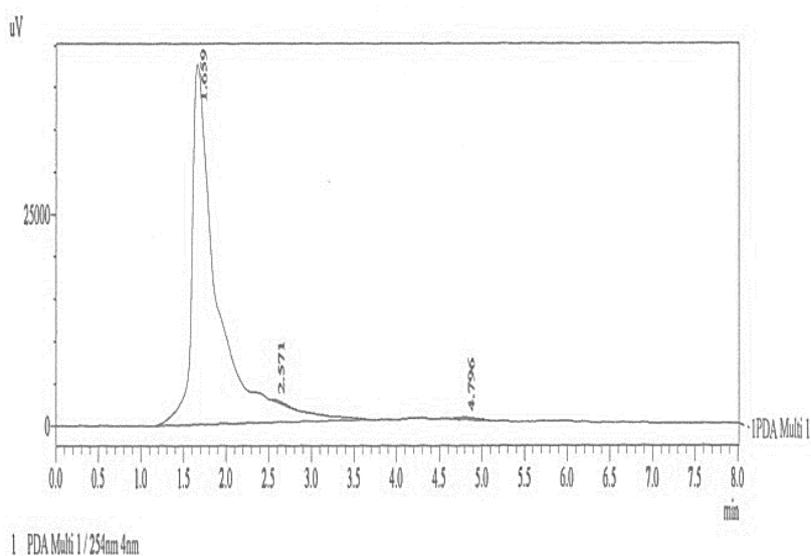
Gambar 1. Kromatogram kelompok senyawa dari Tanaman Bayam (a), Murbei (b), dan 20-hydroxyecdysone (c) menggunakan Silika Gel 60 F254 untuk fase diam dan Diklorometan:Etanol = 5:1 untuk fase gerak. I, pengamatan pada UV 254 dan II pada UV 366

Hasil ini menunjukkan bahwa sistem signal hormonal tidak dibatasi oleh perbedaan phyla. Sebagai contoh, beberapa spesies echinodermata menunjukkan bahwa hormon tiroid eksogen dapat merangsang perkembangan dan metamorfosis larva dan data terbaru menunjukkan pengaruh yang kuat dalam sintesis endogenous hormon tiroid bulu babi (*sea urchin*). Sumber endogenous hormon tiroid adalah ketika larva mengkonsumsi fitoplankton. Selain itu, sterol dari tanaman adalah esensial untuk sintesis ekdisteroid (Miller dan Heyland, 2010).

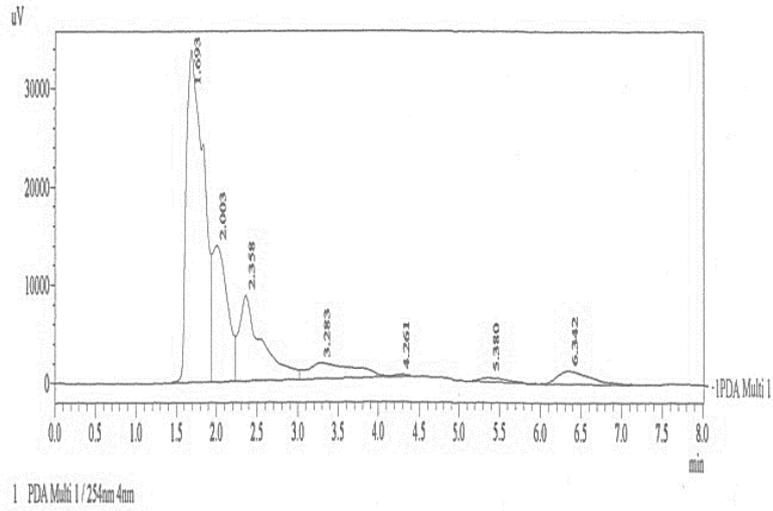
Meskipun belum dapat dipastikan struktur ekdisteroid dari bayam dan murbei, namun dapat dijelaskan bahwa senyawa tersebut merupakan kelompok senyawa yang sama dengan 20-HE. Dari data kromatogram TLC menunjukkan bahwa ada bercak noda yang memiliki kesamaan nilai Rf antara fraksi daun dan fraksi bayam yaitu 0,25 dan 0,67. Selain itu bercak noda tersebut memiliki warna yang sama ketika disinari lampu UV 254, 366 nm dan penyemprotan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10 %. Hal ini menunjukkan bahwa bercak tersebut adalah sama.

Setelah disemprot dengan vanilin H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, bercak noda berubah warna menjadi warna merah jambu dan coklat-oranye yang menunjukkan golongan terpenoid/steroid. Akan tetapi jika dibandingkan dengan standar 20 HE yang memiliki nilai R<sub>f</sub> 0,25, bercak noda tersebut berbeda. Hal ini dibuktikan adanya perbedaan warna penampakan ketika disinari UV 366, penyemprotan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10 % dan vanilin H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. akan tetapi kepolaran senyawa antara senyawa 20 HE dengan bercak noda (fraksi daun murbei dan fraksi bayam) memiliki kedekatan tingkat kepolaran. Ini menunjukkan senyawa terpenoid/steroid yang terdapat pada sampel (murbei dan bayam) termasuk golongan ekdisteroid.

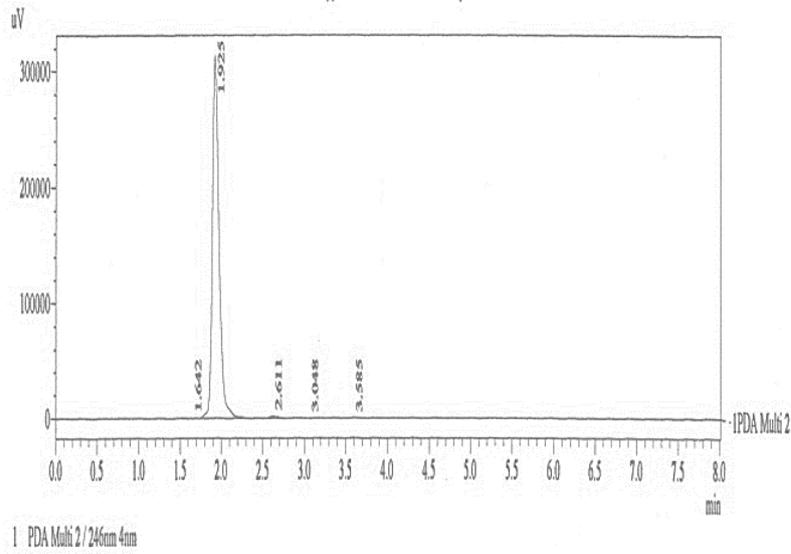
Dari hasil kromatogram UFLC menunjukkan bahwa ada kesamaan nilai retention time (RT) antara ekstrak fraksi bayam dan fraksi murbei yaitu 1,69. Hal ini membuktikan ada kesamaan senyawa yang terkandung di dalam fraksi daun murbei dan fraksi bayam. Selain itu senyawa tersebut memiliki nilai RT yang sama 1,69 pada kromatogram hemolimph. Akan tetapi senyawa tersebut (fraksi daun murbei dan fraksi bayam) berbeda dengan 20-HE karena nilai RTnya yang berbeda yaitu 1,9 (Gambar 2, 3, 4, 5).



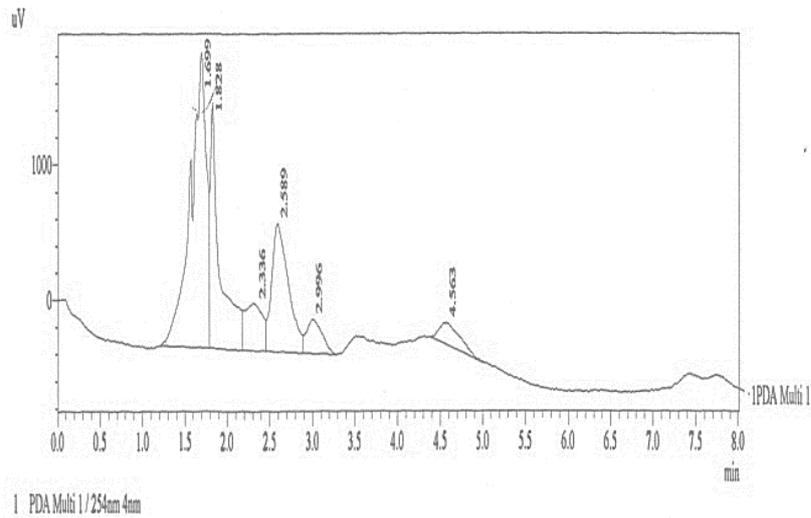
Gambar 2. Kromatogram Ultra Fast Liquid Chromatografi (UFLC) Fraksi Bayam



Gambar 3. Kromatogram Ultra Fast Liquid Chromatografi (UFLC) Fraksi Murbei



Gambar 4. Kromatogram Ultra Fast Liquid Chromatografi (UFLC) 20-hydroxyecdysone (HE)



Gambar 5. Kromatogram Ultra Fast Liquid Chromatografi (UFLC) Hemolimph Kepiting

Lebih dari 300 ecdisteroid berbeda telah diisolasi dari hewan dan tanaman (semua strukturnya dapat ditemukan pada Ecdybase, <http://ecdybase.org>). Perbedaan ditentukan pada jumlah, lokasi, dan posisi gugus hidroksilnya (Lafont dan Dinan, 2003). Pada zooecdysteroids, umum ditemukan lima atau enam gugus hidroksil, sedangkan pada phytoecdysteroid terdapat enam hingga delapan gugus hidroksil (Bathori dan Pongracz, 2005). Data dari ecdybase mengelompokkan ecdysteroid dari murbei dan dari keluarga bayam adalah Inokosterone yang juga identik dengan callinecdysone A yang ditemukan pada kepiting *Callinectes sapidus*.

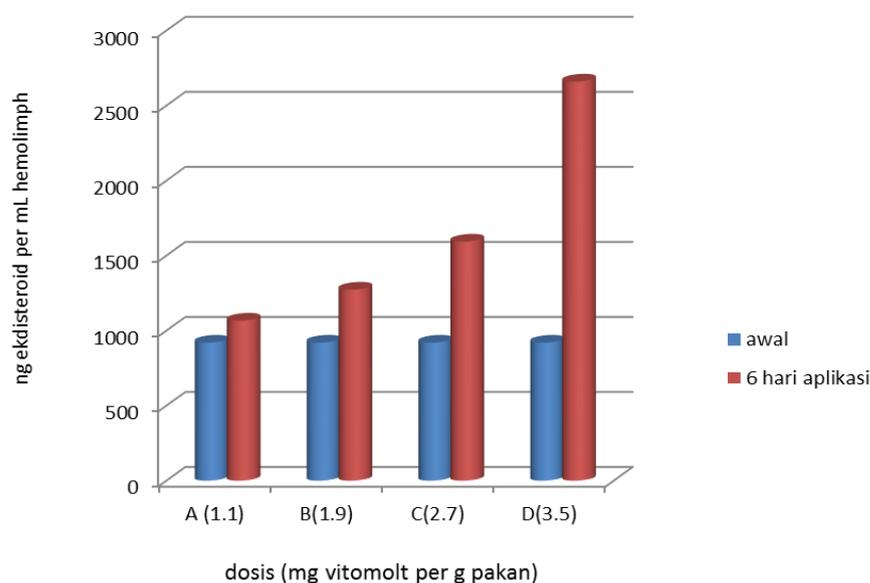
Peranan fitoekdisteroid dalam menstimulasi molting crustacea belum sepenuhnya dipahami. Telah dilaporkan bahwa hormon molting pada krustasea dibentuk pada organ Y dalam bentuk ecdison. Di dalam Hemolimph, hormon ini dikonversi menjadi hormon aktif, 20-HE oleh enzim 20-hydroxylase yang terdapat di epidermis organ Y dan jaringan tubuh lainnya (Huberman, 2000). Selain 20-HE, dilaporkan bahwa Ponasterone A (25—deoxy-20-hydroxyecdysone atau 25d20E) juga merupakan komponen aktif utama yang dikonversi di jaringan tepi. Ekdisteroid utama yang diidentifikasi pada hemolimph decapoda crustacea adalah ecdysone, 20-E atau 20-HE, 3D20E, dan Ponasterone A (PA). Selama fase transisi juvenil, prepubertal, dan fase dewasa didapatkan bahwa PA merupakan komponen ekdisteroid utama. Namun Titer PA secara signifikan lebih tinggi pada fase juvenil dibandingkan 20HE dan lebih rendah pada fase prepubertal dan dewasa (Mykles, 2011). Hal ini menunjukkan bahwa sangat banyak variasi yang mungkin timbul dalam metabolisme ekdisteroid. Selain dipengaruhi oleh siklus hidup juga dipengaruhi oleh siklus molting dan oleh berbagai kondisi lingkungan. Dilaporkan bahwa pelepasan neurohormon mungkin dittrigger oleh radiasi elektromagnetik dan atau gaya gravitasi bulan (Zimecki, 2006). Pada kepiting, hal ini mungkin merupakan penyebab adanya fenomena molting yang tinggi pada fase sebelum atau sesudah bulan purnama dan bulan gelap. Molting terendah terjadi pada bulan purnama dan bulan gelap (Fujaya et al., 2012).

Titer ekdisteroid total dalam hemolimph sangat bervariasi selama siklus molting. Secara umum, titer ekdisteroid rendah selama intermolt dan post molt, selama fase premolt, konsentrasi meningkat dan mencapai puncak beberapa saat sebelum molting (ecdysis), namun bervariasi tergantung spesies. Pada kepiting dungeness (*Cancer magister*) Puncak konsentrasi ekdisteroid adalah  $\pm 2.000$  ng/mL (Thompton et al., 2006). Pada kepiting bakau ditemukan konsentrasi tertinggi selama fase premolt 2.005-2.821 ng/mL (Fujaya dan Trijuno, 2007). Pada kepiting Tanner, konsentrasi terendah pada fase intermolt mencapai 500 ng/mL hemolimph (Chang dan Mykles, 2011).

Kontrol hormonal terhadap molting sangat kompleks (Chang dan Mykles, 2011). Selama beberapa tahun diyakini bahwa endokrinologi krustasea memiliki model yang sangat sederhana. Ada hubungan timbal balik antara Molting Inhibiting Hormon (MIH) dan

Molting Stimulating Hormon yang juga dikenal dengan ekdisteroid. Bila level ekdisteroid tinggi selama fase premolt maka level MIH rendah demikian pula sebaliknya. Kenyataannya ditemukan bahwa pola seperti itu tidak selalu terjadi. Selama intermolt level MIH tidak selalu tinggi dan selama premolt level MIH dapat lebih tinggi dibanding intermolt.

Hasil pengukuran kandungan ekdisteroid dalam hemolimph kepiting sebelum dan setelah aplikasi menunjukkan bahwa aplikasi ekstrak daun murbei melalui pakan dapat meningkatkan kandungan ekdisteroid kepiting. Semakin tinggi dosis ekstrak daun murbei maka semakin tinggi pula kandungan ekdisteroidnya. Dosis 3.5 mg ekstrak daun murbei per gram pakan memberikan peningkatan ekdisteroid hemolimph tertinggi yaitu kurang lebih sebanyak 1700 ng ekdisteroid per mL hemolimph, sedangkan dosis 1.1 mg ekstrak daun murbei per gram pakan hanya memberikan peningkatan sebesar 100 ng ekdisteroid per mL hemolimph (Gambar 6).



Gambar 6. Dinamika Kandungan Hormon Ekdisteroid dalam Hemolimph Kepiting pada Berbagai Dosis ekstrak daun murbei Setelah 6 Hari Aplikasi.  $P < 0.05$

Kandungan ekdisteroid yang tinggi dalam sirkulasi tidak menjamin bahwa molting kepiting akan tinggi pula. Pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa perlakuan dosis ekstrak daun murbei tertinggi pada kepiting, yakni sebanyak 3,5 mg per g pakan menghasilkan peningkatan ekdisteroid hemolimph tertinggi pula, yakni 2660 ng ekdisteroid per mL hemolimph, namun hanya menghasilkan rata-rata 40% molting. Total molting tertinggi didapatkan pada perlakuan 2,7 mg per g pakan yang hanya menstimulasi peningkatan kandungan ekdisteroid sebesar 1.593  $\mu\text{g}$  per mL hemolimph, yakni sebanyak 60%. Demikian pula waktu molting setelah aplikasi paling lambat dicapai oleh perlakuan 3,5 mg per g pakan, yakni setelah hari ke 45, sedangkan pada perlakuan lainnya, molting sudah mulai terjadi setelah 30 hari aplikasi ekstrak daun murbei.

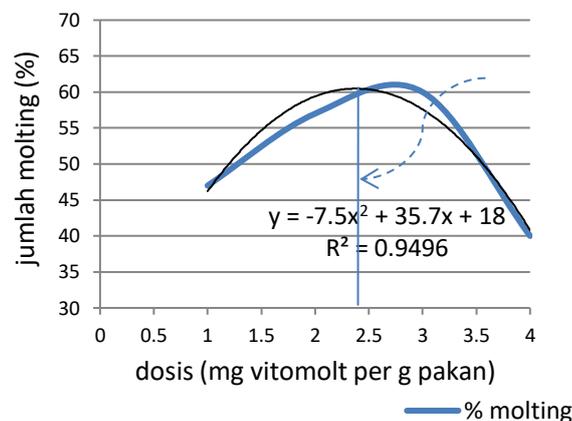
Tabel 1. Waktu Molting Kepiting pada Berbagai Dosis Ekstrak Daun Murbei Selama 60 Hari Pemeliharaan

Perlakuan (mg ekstrak daun murbei per gram pakan)	Persen molting pada hari ke				Total molting (%)
	15	30	45	60	
A (1.1)	0.00	3.33	33.33	13.33	50.00
B(1.9)	0.00	6.67	16.67	33.33	56.67
C(2.7)	0.00	6.67	20.00	33.33	60.00
D(3.5)	0.00	0.00	30.00	10.00	40.00

Diduga konsentrasi ekdisteroid yang sangat tinggi menimbulkan umpan balik negatif. Akibatnya, respon penghambatan molting yang terjadi. Beberapa organisme melakukan respon umpan balik negatif melalui berbagai cara, yakni pengurangan reseptor atau melakukan inaktivasi pada hormon yang ada (Mykles, 2011).

Krustasea memiliki mekanisme unik dalam mengatur keseimbangan level hormonalnya termasuk level ekdisteroid yang mengontrol molting. Kelebihan konsentrasi hormon dalam hemolimfnya dapat diekskresi melalui urine dan feces. Ada dua organ utama yang bertanggungjawab dalam pengeluaran ekdisteroid dari hemolimf yaitu antenal gland dan hepatopankreas. Inaktivasi dilakukan melalui konversi metabolit menjadi lebih polar dan atau membuat formasi konjugasi (Mykles, 2011). Keragaman dalam jalur inaktivasi pada krustasea digunakan oleh insekta untuk detoksifikasi ekdisteroid yang dimakan dari tanaman.

Fitoecdysteroid yang disuplementasi pada pakan kepiting guna menstimulasi molting dapat mengalami proses inaktivasi sebagaimana dikemukakan oleh Mykles. Karena itu, dosis optimal sangat penting diketahui. Pada penelitian ini, dosis ekstrak daun murbei yang optimal menstimulasi peningkatan ekdisteroid dan molting kepiting, berdasarkan analisis regresi diduga adalah 2,4 mg per gram pakan (Gambar 7)



Gambar 7. Persamaan regresi yang digunakan menentukan dosis optimal ekstrak daun murbei yang dapat menstimulasi molting tertinggi pada kepiting. Tanda panah menunjukkan dosis optimal

## Simpulan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa senyawa terpenoid/steroid yang terdapat pada sampel (murbei dan bayam) termasuk golongan ekdisteroid. Ekstrak daun murbei yang mengandung ekdisteroid ini dapat mempengaruhi molting pada kepiting. Semakin tinggi dosis ekstrak daun murbei dalam pakan semakin tinggi pula peningkatan konsentrasi ekdisteroid hemolimph. Namun konsentrasi ekdisteroid yang tinggi dalam hemolimph tidak menjamin terjadinya molting. Terdapat konsentrasi ekdisteroid tertentu yang mampu menstimulasi molting. Hal ini harus menjadi pertimbangan dalam menentukan dosis ekstrak daun murbei yang optimal dalam pakan.

## Daftar Pustaka

- Bathori, M., Pongracz, Z., (2005), Phytoecdysteroids- from isolation to their effects on humans. *Current Medicinal Chemistry*, 12: 153-172
- Chang, ES., Mykles, DL., (2011), Regulation of crustacean molting: A review and our perspectives. *General and Comparative Endocrinology*, 172:323-330
- Dinan, L., (2001), Phytoecdysteroids: biological aspects. *Phytochemistry*, 57:325-339
- Fujaya, Y., Trijuno, DD., (2007), Haemolymph ecdysteroid profile of mud crab during molt and reproductive cycles. *Torani* 17(5): 415-421.
- Fujaya, Y., S Aslamyah, L Fudjaja., N Alam. (2012). *Budidaya dan Bisnis Kepiting Lunak*. Brillian Internasional. Surabaya
- Fujaya, Y., (2011). Pertumbuhan dan Molting Kepiting Bakau yang Diberi Dosis Vitomolt Berbeda. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 10(1), 24-28.
- Hartnoll, RG., (1983), Strategies of Crustacean Growth. Dalam *Papers from the Conference on the Biology and Evolution of Crustacea*. James K. Lowry (editor). Trustees of the Australian Museum. Sydney, Australia
- Huberman. (2000). Shrimp endocrinology: a review. *Aquaculture*, 191, 191-208.
- Klein R., (2004), Phytoecdysteroids. *Journal of the American Herbalist Guild*, 18-28.
- Kuballa, A., Elizur, A., (2007), Novel molecular approach to study moulting in crustaceans. *Bull. Fish. Res. Agen.* 20:53-57
- Lafont R., Dinan, L., (2003), Practical uses for ecdysteroids in mammals including humans: and update. *Journal of insect science*, 3(7): 1-21.
- Luppi, TA., Spivak, ED., Bas, CC., Anger, K., (2004), Molt and growth of an estuarine crab, *Chasmagnathus granulatus* (Brachyura:Varunidae), in Mar Chiquita coastal lagoon, Argentina. *J. Appl. Ichthyol*, 20:333-344
- Meyer, JR., (2007). Morphogenesis. Department of entomologi NC State University. Retrieved from [www.morphogenesis .htm](http://www.morphogenesis.htm). DL 27 September 2007.
- Miller, AEM., Heyland, A., (2010), Endocrine interaction between plants and animals: implications of exogenous hormone sources for the evolution of hormone signaling. *General and Comparative Endocrinology*, 166:455-461.

- Mykles, DL., (2011), Ecdysteroid metabolism in crustaceans. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 127:196-203
- Thompton, JD., Tamone, SL., Atkinson, S., (2006), Circulating ecdysteroid concentration in Alaskan Dungeness crab (*Cancer magister*). *Journal of crustacean biology*, 26(2), 176-181
- Zimecki, M., (2006), The lunar cycle: effects on human and animal behavior and physiology. *Postepy Hig Med Dosw (online)*, 60:1-7.