

HORMON ECDYSTERON DARI EKSTRAK DAUN MURBEI, *Morus spp.* SEBAGAI MOULTING STIMULAN PADA KEPITING BAKAU

Herlinah, Andi Tenriulo, dan Emma Suryati

Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Payau
Jl. Makmur Dg. Sitakka No. 129, Maros 90512, Sulawesi Selatan
E-mail: hjompa@yahoo.com

(Naskah diterima: 4 Februari 2014; Revisi final: 10 Juli 2014;
Disetujui publikasi: 10 November 2014)

ABSTRAK

Murbei terbukti mampu mempercepat *moult* pada insekta (ulat sutera). Persamaan filum (Arthropoda) antara kepiting dan ulat sutera memungkinkan efek mekanisme kerja *ecdysteron* (ECD) daun murbei pada fase *moult* ulat sutera juga bekerja pada fase *moult* kepiting bakau. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan isolasi dan identifikasi kandungan ECD pada tanaman murbei. Selanjutnya pemanfaatan ekstrak daun murbei sebagai *moult* stimulan pada kepiting bakau. ECD dari daun murbei diperoleh melalui isolasi, pemurnian, serta identifikasi secara spektroskopi antara lain pengukuran panjang gelombang sinar ultra violet dan spektrum infra merah untuk menentukan gugus fungsi. Kandungan ECD pada kepiting dari setiap fase *moult* dilakukan melalui ekstraksi pada hemolimp menggunakan pelarut diethyl ether kemudian diukur menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Hasil penelitian memperlihatkan kandungan ECD pada tanaman murbei *Morus spp.* diperoleh pada fraksi kedua (1.058,62 mg/L) dan ketiga (1.088,4 mg/L). Sedangkan kandungan *ecdysteron* pada haemolimp yang paling tinggi pada fase sebelum *moult* (4,53 mg/L) dan sesudah *moult* (2,52 mg/L). Aplikasi *ecdysteron* pada kepiting bakau melalui penyuntikan memperlihatkan dosis yang paling optimal pada 100 mg/L ECD.

KATA KUNCI: *ecdysteron*, murbei, *moult* stimulan, kepiting bakau

ABSTRACT: *Hormone ecdysterone of mulberry leaves extract, Morus spp. as moult stimulant on mangrove crabs. By: Herlinah, Andi Tenriulo, and Emma Suryati*

*Mulberry has been proven to accelerate moult in insects such as silkworm. Silk worm and mangrove crab belonged to the same phylum and suggested that mulberry have some effect to the moult of crab. This study aimed to isolate and identify the content of ECD on mulberry plants. Further utilization of mulberry leaf extract as a stimulant agent on the mangrove crab moult. ECD of mulberry leaves was obtained through isolation, purification, and spectroscopic identification include measurement wavelength ultraviolet and infrared spectra to determine the functional groups. The content of ECD at each phase of moult crabs through solvent extraction using diethyl ether hemolimp then measured using High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The results showed that the content of ECD on mulberry plant *Morus spp.* obtained in the second fraction (1,058.62 mg/L) and third (1,088.4 mg/L). While the content of the haemolimp *ecdysterone* the highest in the phase prior to moult (4.53 mg/L) and after moult (2.52 mg/L). *Ecdysterone* application on mangrove crabs carried on through the controlled injection of basin showing the most optimal dose at 100 mg/L ECD.*

KEYWORDS: *ecdysterone, mulberry, moult stimulant, mangrove crabs*

PENDAHULUAN

Ecdysteron merupakan hormon steroid utama pada arthropoda (termasuk krustase dan serangga) yang memiliki fungsi utama sebagai hormon *moulting* (penggantian kulit) dan mengontrol pembentukan *exoskeleton* baru untuk menggantikan *exoskeleton* yang lama, selain itu, juga mengatur fungsi fisiologi, seperti pertumbuhan, metamorfosis, dan reproduksi. Pada budidaya kepiting, penggantian kulit dapat terjadi secara alami atau dapat diinduksi melalui rangsangan dan penambahan hormon ini (Lafont *et al.*, 2003; Gunamalai *et al.*, 2003).

Beberapa tumbuhan yang diketahui mengandung *ecdysteron* antara lain: tanaman bayam yang mengandung ECD pada semua bagian tanamannya, demikian juga dengan *Asparagus*, murbei, krokot, dan paku-pakuan yang banyak terdapat di dataran tinggi termasuk tanaman pakis raja atau yang dikenal dengan (*Cycas revoluta*) Thum (Suryati *et al.*, 2013). Murbei, *Morus* spp. dikenal juga sebagai tumbuhan sutra karena dapat dijadikan tempat hidup dan pakan ulat sutra, *Bombyx mori* (Sanchez, 2000). Murbei mengandung banyak senyawa kimia seperti: *ecdysteron*, *inokosterone*, *lupeol*, β -*sitosterol*, *rutin*, *moracetin*, *scopoletin*, *benzaldehida*, *eugenol*, *linalol*, *benzyl alkohol*, *butylamine*, *aseton*, *kholine*, dan *quercetin* (Kim *et al.*, 2000). Murbei telah terbukti mampu mempercepat *moulting* pada insekta (ulat sutera). Persamaan filum (Arthropoda) antara kepiting dan ulat sutra memungkinkan efek mekanisme kerja *ecdysteron* daun murbei pada fase *moulting* ulat sutra juga bekerja pada fase *moulting* kepiting bakau. Hormon *ecdysteron* yang ada, biasanya diperoleh melalui isolasi dari beberapa spesies krustase yang harganya relatif mahal dan sulit diperoleh sehingga perlu dicari alternatif lain untuk mengantisipasi hal tersebut yaitu menggunakan *ecdysteron* yang berasal dari tumbuhan (Harborn, 1973).

Ganti kulit (*moulting/ecdysis*) adalah proses yang sangat penting dalam siklus hidup arthropoda (termasuk dekapoda) sebab pelepasan cangkang adalah suatu keharusan untuk proses pertumbuhan dan metamorfosis (Dorrington, 1979; Fattah, 1998). Karena pentingnya mekanisme *moulting* untuk pertumbuhan dan produksi kepiting maka perlu inovasi teknologi dalam hal rekayasa fisiologi *moulting* (hormon *ecdysteron*). Rekayasa fi-

siologi dibutuhkan untuk mempercepat fase *moulting* dan mendapatkan waktu *moulting* yang bersamaan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi kandungan *ecdysteron* pada tanaman murbei dan menentukan dosis ekstrak daun murbei yang dapat memacu terjadinya pergantian kulit pada kepiting bakau. Informasi yang didapatkan akan sangat menunjang "Sistem Inovasi Teknologi Nasional" dalam rangka pengembangan teknologi budidaya kepiting bakau terutama dalam hal merekayasa fisiologi hormonal untuk mempercepat *moulting* khususnya dalam produksi kepiting cangkang lunak (*soft cell crab*) skala massal.

METODE PENELITIAN

Penelitian terdiri atas tiga tahapan utama yaitu: 1) isolasi *ecdysteron*, 2) identifikasi kandungan *ecdysteron*, dan 3) penentuan dosis ekstrak daun murbei yang dapat memacu terjadinya pergantian kulit pada kepiting bakau. Penelitian isolasi dan identifikasi *ecdysteron* dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Payau (BPPBAP) Maros dan analisis sampel di beberapa laboratorium yaitu: Laboratorium Kualitas Air BPPBAP Maros untuk uji *Ultraviolet Visible* (UV-VIS), Laboratorium Terpadu Kimia UNHAS untuk uji *Fourier Transform Infra Red* (FTIR), Laboratorium Bioteknologi Jakarta dan Laboratorium Bio Farmaka UNHAS untuk uji kandungan *ecdysteron*.

Tanaman murbei (*Morus alba*) dikumpulkan dari Balai Penelitian dan Pengembangan Sutra Alam Instalasi Perkebunan murbei di Bilibili, Kabupaten Gowa. Identifikasi nama, genus, spesies dilakukan di laboratorium menggunakan buku kunci (Steenis, 1981). Tanaman murbei dikoleksi dalam keadaan segar, kemudian daunnya dikeringanginkan pada suhu 27°C-30°C.

Isolasi *Ecdysteron* dari Daun Murbei

Isolasi dan pemurnian *ecdysteron* daun murbei dilakukan dengan cara maserasi, daun murbei kering ditimbang kurang lebih 300-500 g dihaluskan dengan *blender* kemudian diekstraksi menggunakan pelarut metanol 80% dengan lama perendaman 3 x 24 jam untuk mendapatkan ekstrak kasar. Ekstrak kasar yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* hingga kering berwarna hijau kehitaman (Harborn, 1973).

Fraksinasi

Ekstrak kental ditambahkan dengan aseton tiga kali, yaitu sebanyak 50, 100, dan 200 mL. Selanjutnya ekstrak dipisahkan dengan menggunakan corong pisah berdasarkan kepolaran pelarut. Fraksi yang diperoleh dikisat kembali dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga setengah volume. Kemudian ekstrak dilarutkan dengan metanol 50% sebanyak 100 mL dan diekstraksi cair dengan n-heksan tiga kali sebanyak 50 mL. Fraksi metanol yang diperoleh ditambahkan alumina sebanyak 140 g kemudian dikisat dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kering berupa serbuk berwarna coklat.

Ekstrak kering dielus dengan campuran pelarut diklorometan dan etanol dengan menaikkan tingkat kepolarannya yaitu dengan gradien 100:0 (F-1), 95:5 (F-2), 90:10 (F-3), dan 80:20 (F-4). Hingga diperoleh empat fraksi yang berbeda kepolarannya. Keempat fraksi dikisat hingga kering sehingga diperoleh pasta berwarna hijau tua.

Identifikasi Kandungan Ecdysteron

Setelah pelarut diuapkan, residu yang diperoleh dilarutkan dengan metanol HPLC masing-masing sebanyak 10 mL. Keempat fraksi dimurnikan dengan metode ekstraksi fase padat menggunakan *Seppak* C₁₈ selanjutnya disaring dengan filter *Polytetrafluoroethylene* (PTFE). Selanjutnya keempat fraksi diuji kemurniannya melalui HPLC dengan menggunakan detektor *photodiode-array* (PDA) yang mengacu pada Munson (1984). Selain uji kromatografi dengan HPLC juga dilakukan pengukuran *Ultraviolet Visible* (UV-Vis) dan spektrum infra merah atau *Fourier Transform Infra Red* (FT-IR).

Ekstraksi ECD pada Hemolimph Kepiting

Hewan uji yang digunakan adalah kepiting bakau yang berada dalam masa pertumbuhan dengan ukuran lebar karapas bervariasi antara 7-10 cm dan bobot 55-100 g. Setiap kepiting uji ditimbang bobot dan diukur lebar karapasnya untuk menentukan tingkat kegemukan (faktor kondisi) dengan menggunakan formula Effendie (1997), yaitu:

$$K = \frac{W}{L^3} \times 100$$

di mana:

K = Faktor kondisi

W = Bobot (g)

L = Panjang karapas (mm)

Pengukuran kandungan *ecdysteron* pada setiap fase *moulting* (*intermolt*, *pre-molt*, *molt*, dan *post molt*) dilakukan sebagai acuan untuk menentukan kadar haemolimp yang ada secara alami di dalam tubuh kepiting. Pengambilan hemolimph kepiting bakau sebanyak ± 1 mL. Hemolimph diambil pada pangkal kaki jalan ke-5 menggunakan syringe 1 mL yang sebelumnya telah dibilas dengan anti koagulan. Hemolimph kemudian diekstraksi menggunakan pelarut diethyl ether, dikocok menggunakan vortex selama 30 detik, dipisahkan dan diulangi sebanyak tiga kali. Hemolimph dikumpulkan lalu dikisat hingga kering, residu yang diperoleh dilarutkan dengan pelarut metanol dan diukur menggunakan HPLC dengan kolom C₁₈ dengan fasa terbalik, dan fasa gerak campuran metanol dengan air dengan perbandingan 85:15 yang dideteksi dengan spektrum *ultra violet* (UV) pada panjang gelombang 366 nm (Quinitio, 1991).

Aplikasi Pemberian Ecdysteron pada Kepiting

Aplikasi pemberian *ecdysteron* pada kepiting dilakukan beberapa kali tahapan uji coba baik di bak terkontrol maupun di tambak. Tahap demi tahap merupakan perbaikan metode melalui uji coba dosis dan perbandingannya dengan pemicu *moulting* lainnya baik yang bersifat hormonal (ekstrak herbal lain) maupun secara konvensional (melalui pemotongan capit dan pemberian pakan rucah biasa tanpa perlakuan) (Herlinah *et al.*, 2012).

Ekstrak murbei yang diperoleh dilakukan pengenceran berdasarkan estimasi dari bobot basah dan bobot kering sampel daun murbei yang diekstraksi hingga dilakukan pengenceran 40x dari ekstrak murni yang dihasilkan. Ekstrak murbei yang diperoleh mengandung *ecdysteron* sebanyak 2.664 mg/L setara dengan 500 g bobot segar. Aplikasinya dilakukan melalui pengenceran menggunakan aquadest dari larutan stok. Setelah dilakukan beberapa kali uji coba dan perbaikan metode dan perhitungan berdasarkan hasil uji kromatogram di HPLC, akhirnya ditentukan dosis 100, 125, dan 150 mg/L (Herlinah *et al.*, 2013; 2014). Aplikasi pada kepiting dilakukan melalui penyuntikan. Pemberian eks-

trak murbei disesuaikan dengan kandungan *ecdysteron* yang terukur dari setiap fase *moulting* (*intermolt*, *pre molt*, *molt*, dan *post molt*), dilakukan melalui penyuntikan pada pangkal kaki jalan ke-5 kepiting bakau.

Wadah pengujian berupa keranjang plastik (*crab box*) berukuran panjang, lebar, dan tinggi masing-masing 15 cm x 18,5 cm x 20 cm. Keranjang dilengkapi tutup untuk mencegah keluarnya kepiting dari wadah pemeliharaan. Pengujian ekstrak yang dihasilkan melalui beberapa kali pengujian aplikasi dosis penyuntikan baik di bak maupun di tambak (Herlinah *et al.*, 2012; 2013). Kepiting diberi pakan segar (ikan rucah) sebanyak 5% dari bobot badan per hari (Fujaya, 2008) dengan frekuensi pemberian pakan sekali dalam sehari secara *ad libitum*.

Pengamatan dilakukan setiap hari (pagi-siang-sore-malam) untuk melihat apakah ada kepiting yang mengalami *moulting* setelah dilakukan penyuntikan. Sesaat setelah *moulting*, kondisi kulit kepiting masih sangat lunak, dengan kondisi inilah yang dipanen sebagai kepiting lunak. Pengamatan kepiting *moulting* dilakukan secara ketat setiap hari hingga empat kali karena kepiting yang terlambat dipanen/diangkat (lebih dari satu jam) cangkangnya akan segera mengeras.

Persentase *moulting* dihitung berdasarkan jumlah kepiting yang *moulting* dibagi dengan jumlah kepiting yang diberi perlakuan dikali 100%. Masa laten *moulting* adalah waktu yang dibutuhkan sejak perlakuan ekstrak murbei hingga terjadi *moulting* pada kepiting yang diuji. Mortalitas dihitung dengan membandingkan jumlah kepiting yang mati dibagi dengan jumlah kepiting yang diberi perlakuan dikali 100%.

HASIL DAN BAHASAN

Isolasi dan Pemisahan *Ecdysteron* pada Daun Murbei

Ekstrak kasar *ecdysteron* dari daun murbei diperoleh melalui maserasi menggunakan pelarut metanol 80% dengan lama perendaman 3 x 24 jam. Hasil fraksinasi menggunakan pelarut dengan perbandingan campuran pelarut diklorometan dan etanol dengan menaikkan tingkat kepolarannya yaitu dengan gradien F-1 (100:0), F-2 (95:5), F-3 (90:10), dan F-4 (80:20). Kromatogram dari standar *ecdysteron* (ECD) dan ECD dari daun murbei dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2.

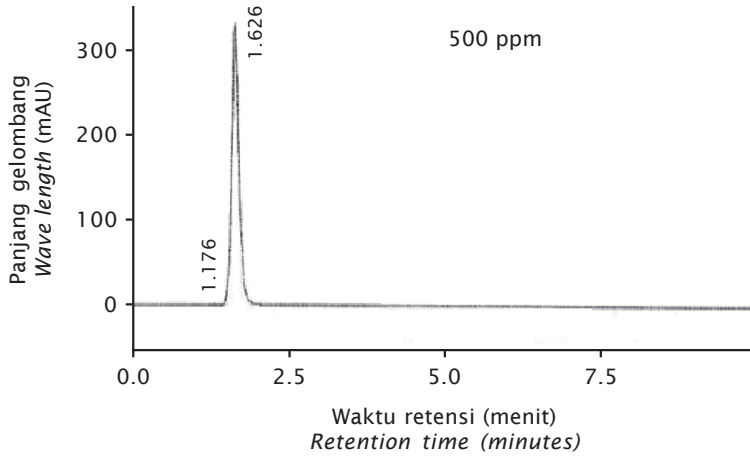
Uji Kemurnian ECD dari Daun Murbei

Kemurnian *ecdysteron* yang diperoleh serta standar ECD diuji menggunakan HPLC dengan larutan pembawa campuran metanol dan air dengan perbandingan 80:20. Standar *ecdysteron* memiliki waktu retensi 1,6 menit; sedangkan sampel tanaman F-1-F-4 berturut-turut yaitu 1,823 menit; 1,763 menit; 1,650 menit; dan 1,618 menit (Gambar 1 dan 2). Dari hasil tersebut didapatkan bahwa fraksi-3 dan fraksi-4 (sampel M-3 dan M-4) yang paling mendekati standar. Hal ini menunjukkan bahwa hormon *ecdysteroid* berhasil diisolasi dari daun murbei. Hasil ini berbeda dengan penelitian isolasi *ecdysteroid* pada pakis dan bayam (Fujaya *et al.*, 2008) yang menemukan bahwa yang memiliki waktu retensi yang menyerupai standar adalah pada fraksi-1 dan fraksi-2.

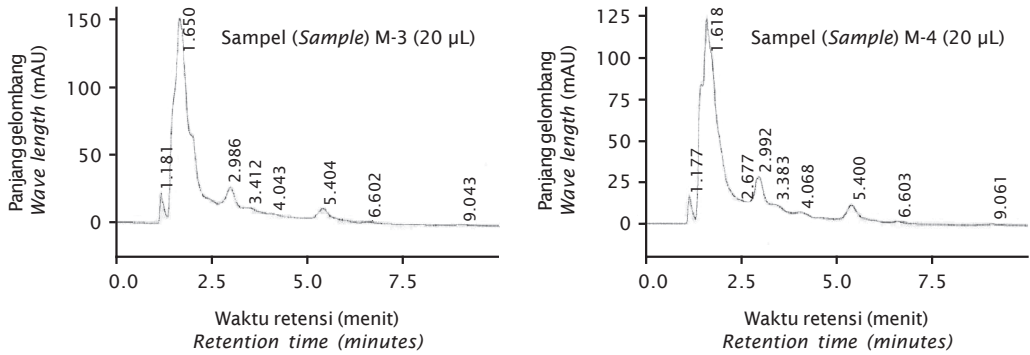
Selanjutnya dilakukan pengukuran ECD pada ekstrak murbei berdasarkan pengukuran luas area pada kromatogram menggunakan standar *20-hydroxyecdysone*, memperlihatkan gambar kurva kalibrasi seperti pada Gambar 3. Untuk menentukan jumlah ECD yang terkandung di dalam daun murbei, dibutuhkan konversi area dari standar *ecdysteron* dari luas area sampel yang dianalisis dengan nilai regresi $y = 5358,5x + 96721$ dengan $R^2 = 0,999$.

Hasil uji kemurnian *ecdysteron* dari daun murbei memperlihatkan adanya banyak puncak (Gambar 2) selain pada waktu retensi 1,6 menit; hal ini disebabkan karena adanya pengotor dari senyawa lain pada saat isolasi dan fraksinasi menggunakan kolom kromatografi, sehingga pemisahan kurang sempurna dan masih membawa senyawa-senyawa lain yang terdapat di dalam daun murbei walaupun dalam konsentrasi yang sangat kecil, sehingga dapat diabaikan dalam penggunaannya. Untuk itu, perlu dilakukan pemurnian yang lebih baik agar diperoleh *ecdysteron* yang lebih murni. Namun demikian ekstrak ECD yang dihasilkan masih dapat digunakan untuk stimulasi *moulting* pada kepiting.

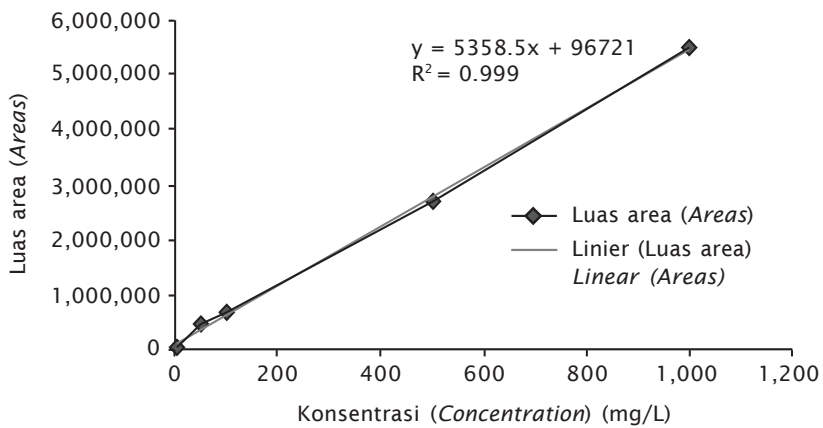
Kandungan *ecdysteron* pada daun murbei yang paling tinggi terdapat pada fraksi-3 yakni 1.088,4 mg/L dan yang paling sedikit pada fraksi-1 (33,29 mg/L) (Gambar 4). Sehingga selanjutnya penggunaan isolat ECD yang dapat digunakan untuk aplikasi stimulasi *moulting* pada kepiting yakni ekstrak yang berasal dari fraksi-3, demikian pula dengan



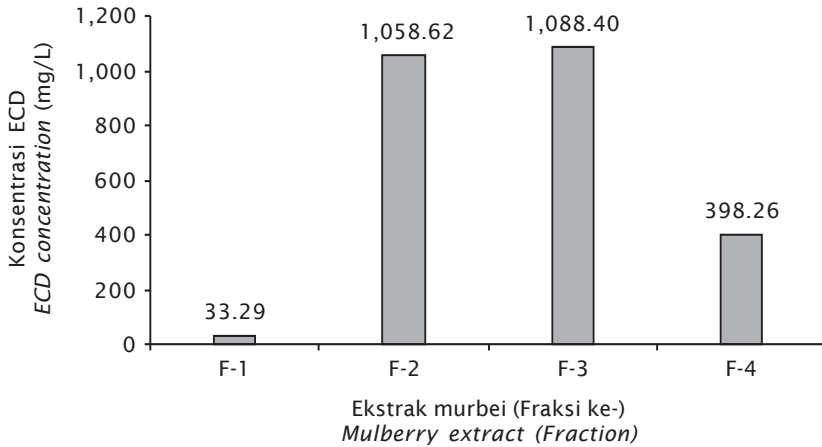
Gambar 1. Kromatogram dari standar ecdysteron
Figure 1. Chromatograms of standard ecdysterone



Gambar 2. Kromatogram ecdysteron dari ekstrak murbei fraksi-3 (M-3) dan fraksi-4 (M-4)
Figure 2. Ecdysterone chromatogram of mulberry extract fraction-3 (M-3) and fraction-4 (M-4)



Gambar 3. Kurva kalibrasi ecdysteron
Figure 3. Calibration curve ecdysterone



Gambar 4. Kandungan *ecdysteron* pada daun murbei hasil fraksinasi
 Figure 4. The content *ecdysteron* on mulberry leaves fractionation results

identifikasi dan penentuan struktur dan gugus fungsi dari ECD yang diperoleh. Pada penelitian ini, ekstrak yang digunakan untuk injeksi hormon pada kepiting juga adalah hasil fraksi-3 karena dianggap memiliki kandungan *ecdysteron* tertinggi.

Identifikasi ECD dari Daun Murbei

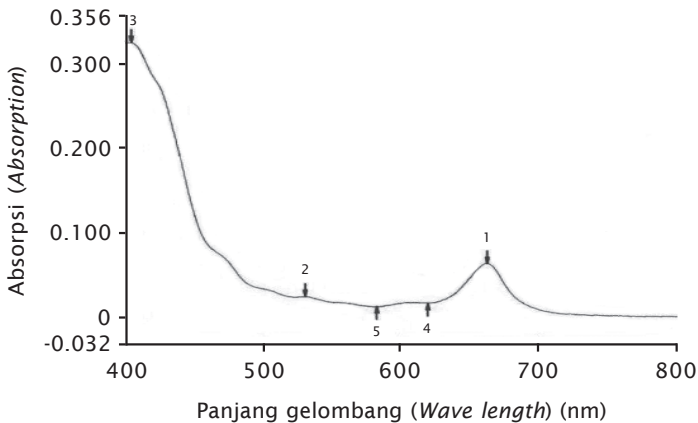
Pengukuran Panjang Gelombang UV-Vis dan FT-IR

Hasil pengukuran panjang gelombang UV-VIS isolat *ecdysteron* pada ekstrak murbei, memperlihatkan ada dua puncak yang dominan, hal ini memberikan gambaran bahwa se-

nyawa tersebut memiliki dua ikatan rangkap yang terkonjugasi. Gambar spektrum UV-VIS dapat dilihat pada Gambar 5.

Spektrum infra merah merupakan spektrum yang menunjukkan banyak puncak absorpsi pada frekuensi yang karakteristik. Untuk setiap ikatan kimia yang berbeda seperti C - C, C = C, C = -O, C = O, O = H dan sebagainya mempunyai frekuensi vibrasi yang berbeda. Untuk mengidentifikasi senyawa yang belum diketahui perlu dibandingkan dengan spektrum standar yang dibuat pada kondisi sama (Munson, 1984).

Spektrum sampel ekstrak murbei sangat mirip dengan *20-hydroxyecdisonone* yang di-



Gambar 5. Spektrum UV-VIS ECD dari ekstrak murbei
 Figure 5. UV-VIS spectrum of ECD mulberry extract

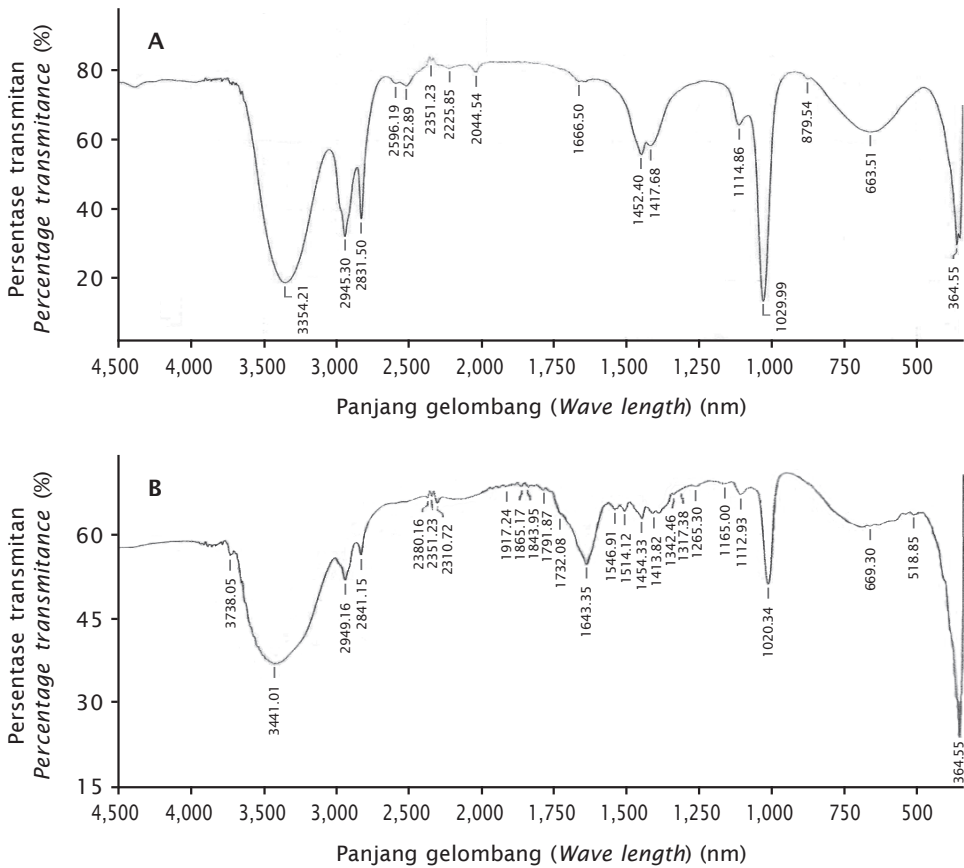
gunakan sebagai standar, ditandai dengan puncak yang melebar pada $3.500-3.300\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan adanya gugus fungsi OH, dan pada 1.667 cm^{-1} yang menunjukkan gugus $C = C$ (Gambar 6). Hal ini sejalan dengan yang telah dilaporkan oleh Louden *et al.* (2001) bahwa terdapat serapan yang kuat pada 1.667 cm^{-1} dan 1.630 cm^{-1} pada spektrum *fitoecdistreroid 14cz-hydroxy-7-en-6-one moiety*. Pada senyawa *ecdysteron* yang diisolasi dari *Lhycnis flos - cucul* juga diperoleh ada serapan yang kuat pada 1.667 cm^{-1} dan 1.642 cm^{-1} .

Ekstraksi ECD pada Hemolimp Kepiting

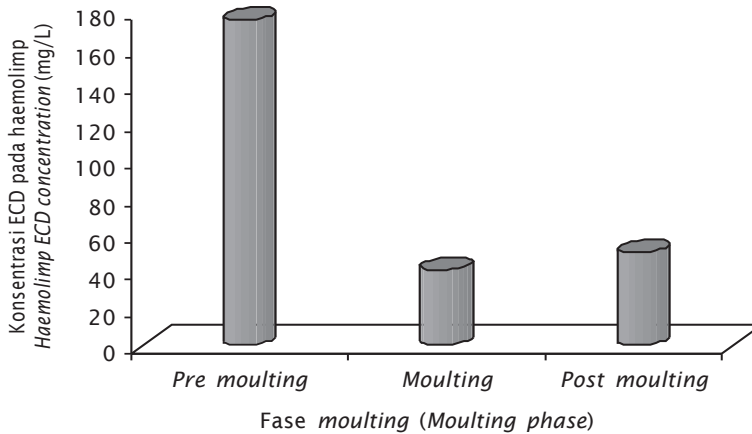
Hasil pengukuran ECD pada fase pergantian kulit pada kepiting memperlihatkan kandungan ECD yang tertinggi pada fase sebelum *moulting* dan fase sesudah *moulting* dan yang terendah pada saat *moulting* (Gambar 7),

hal ini memperlihatkan bahwa kepiting memerlukan ECD lebih tinggi pada saat sebelum *moulting* sehingga fenomena ini dapat dijadikan acuan untuk memberikan stimulan pada kepiting agar dapat *moulting* secara terkontrol.

Kandungan *ecdysteron* tertinggi dari tiap fase *moulting* kepiting uji terdapat pada fase *pre-moulting*, terendah pada fase *moulting* dan konsentrasi kembali naik pada fase *post-moulting*. Hal ini sesuai dengan yang telah dihasilkan oleh (Fujaya *et al.*, 2008; Gimenez *et al.*, 2001; Dooley *et al.*, 2002). Pada fase *pre-moulting*, konsentrasi *ecdysteron* sebesar $175,2\text{ mg/L}$, fase *moulting* sebesar $40,76\text{ mg/L}$, dan pada fase *postmoulting* sebesar $50,32\text{ mg/L}$. Nilai tersebut diperoleh dari perhitungan luas area dari hasil uji kromatogram dengan faktor pengenceran pada saat ekstraksi hormon.



Gambar 6. Spektrum FT-IR dari ECD daun murbei (A) dan standar *20-hydroxyecdysone* (B)
 Figure 6. FT-IR spectra of ECD mulberry leaves (A) and *20-hydroxyecdysone* standart (B)



Gambar 7. Konsentrasi *ecdysterone* pada setiap fase *moulting* kepiting bakau

Figure 7. *Ecdysterone* concentration in each phase of the mangrove crab moulting

Aplikasi Pemberian *Ecdysterone* pada Kepiting

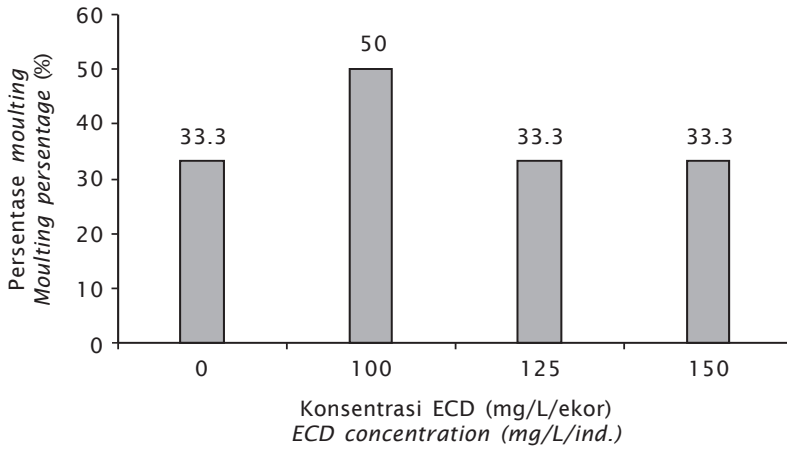
Pemberian ECD dari daun murbei pada kepiting sebagai *moulting* stimulan memperlihatkan pemberian ECD dengan konsentrasi 100 mg/L menghasilkan *moulting* sebanyak 50%, sedangkan pada kontrol dan konsentrasi 125 mg/L dan 150 mg/L hanya menghasilkan 33,3% saja (Herlinah *et al.*, 2014). Hal ini disebabkan karena kebutuhan ECD untuk stimulasi *moulting* cukup 100 mg/L saja dan kemungkinan lebih rendah dari konsentrasi tersebut, karena di dalam kepitingnya sendiri sudah memiliki ECD yang dapat digunakan untuk memacu *moulting*. Hal ini juga ditunjang oleh hasil yang diperoleh dari beberapa peneliti antara lain Gunamalai *et al.* (2003). *Ecdysterone*, sesuai namanya merupakan steroid tulang belakang (*steroid backbone*) dan sangat berkaitan dengan proses *moulting* atau yang biasa dikenal dengan *ecdysis*. Manfaat dari hormon ini selain sebagai hormon *moulting* juga dapat meningkatkan sintasan karena memberi efek positif terhadap proses metabolisme karbohidrat, lemak, protein, dan tulang (Anonim, 2014).

Secara alami pada kepiting sudah terdapat hormon *ecdysterone*, sehingga pemberian hormon melalui sistem injeksi didasarkan pada kandungan *ecdysterone* dan kebutuhan hormon kepiting tersebut pada fase tertentu (Gambar 7). Hormon yang tidak mencukupi maupun

pemberian hormon yang berlebih tidak akan termanfaatkan dengan baik.

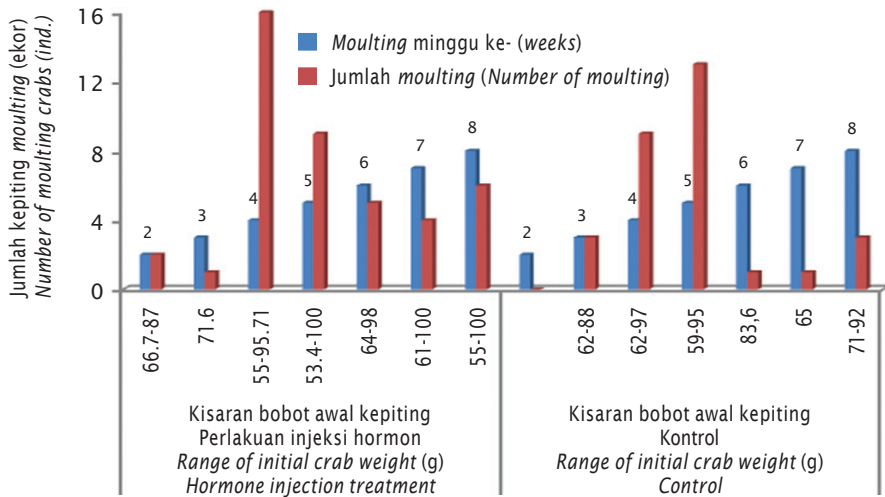
Masih rendahnya persentase *moulting* kepiting bakau hasil injeksi dengan *ecdysterone* murbei yang dihasilkan diduga akibat belum tepatnya dosis hormon yang diaplikasikan. Penentuan dosis yang tepat sangat penting untuk mendapatkan hasil yang optimal (Gambar 8). Hal ini sebagaimana yang dijelaskan oleh Turner & Bagnara (1998) dalam Fujaya *et al.* (2012) mengemukakan bahwa hormon dilepaskan pada saat yang tepat dalam jumlah yang wajar pada organisme normal. Kesalahan dalam pemilihan waktu, serta jumlah yang kurang atau lebih akan menimbulkan konsekuensi yang hebat terhadap organisme. Secara spesifik, Dorrington (1979) menjelaskan bahwa konsentrasi hormon yang tinggi menyebabkan produksi *reseptor* hormon tersebut menjadi terhambat dan kemampuan *reseptor* sel sasaran dalam mengikat hormon menurun. *Reseptor* adalah suatu perangkat biologi dalam tubuh yang bertugas mengenali kode yang dibawa oleh suatu hormon. Bila kinerja *reseptor* menurun maka pembentukan produk baru seperti protein akan terhambat pula. Akibatnya, pertumbuhan dan *moulting* akan terhambat.

Proses pergantian kulit atau *moulting* merupakan suatu fenomena yang mutlak terjadi pada krustase termasuk kepiting bakau. Namun peristiwa ini tidak berlangsung dalam waktu dan jumlah yang sama dikarenakan



Gambar 8. Persentase *moulting* pada kepiting menggunakan ECD dari daun murbei (Sumber: Herlinah *et al.*, 2014)

Figure 8. Percentage of *moulting* in crabs using ECD of mulberry leaves (Source: Herlinah *et al.*, 2014)



Gambar 9. Hubungan antara perlakuan injeksi hormon dengan bobot awal dan kecepatan *moulting* kepiting

Figure 9. Hormone injection relation on initial weight and *moulting* rate of crabs

adanya perbedaan mekanisme fisiologis yang dipengaruhi faktor internal dan eksternal masing-masing spesies. Dalam kondisi normal, kepiting muda tentunya akan memiliki kemungkinan yang lebih besar dan sering untuk *moulting* dibanding kepiting yang besar ataupun yang telah mencapai kematangan meskipun tidak terlepas dari siklus hormonal (proses fisiologis) yang ada terjadi di dalam tubuh kepiting tersebut. Namun berdasarkan

Gambar 9, menunjukkan bahwa ukuran kepiting uji yang digunakan tidak berpengaruh terhadap kecepatan *moulting*, hal ini terlihat oleh adanya variasi bobot awal kepiting yang *moulting* pada minggu kedua hingga minggu kedelapan. Sehingga dapat diyakini bahwa, injeksi hormon yang diberikan cukup menunjukkan efektivitas yang baik terhadap kecepatan *moulting* dan persentase *moulting* kepiting.

KESIMPULAN

Tanaman murbei *Morus* spp. mengandung *Ecdysteron*. Kandungan ECD tanaman murbei *Morus* spp. yang tertinggi digunakan untuk injeksi hormon pada kepiting berasal dari hasil fraksi ketiga dengan konsentrasi 1.088,4 mg/L. Kandungan *ecdysteron* pada haemolimp yang paling tinggi pada fase sebelum *moulting* (175,20 mg/L) dan yang paling rendah yaitu pada saat *moulting* (40,76 mg/L). Kecepatan *moulting* tidak dipengaruhi oleh ukuran kepiting uji yang digunakan namun merupakan pengaruh dari injeksi hormon yang menunjukkan efektivitas yang baik terhadap kecepatan *moulting* dan persentase *moulting* kepiting.

SARAN

Perbaikan dan penentuan dosis ekstrak murbei yang tepat dan sesuai untuk pemicu *moulting* kepiting bakau perlu terus dilakukan dan dikembangkan karena memiliki tren yang berbeda dengan ekstrak herbal yang dihasilkan sebelumnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Bapak Drs. Gunarto, M.Sc., Aan Fibro Widodo S.Si., Fauziah Ahmad, S.Si., dan Muhammad Syakaria, S.Pi. yang telah mendukung dan membantu selama pelaksanaan penelitian. Penelitian ini dibiayai oleh Kementerian Riset dan Teknologi melalui program Insentif Riset Nasional (InSINAS) tahun 2012 dan 2013.

DAFTAR ACUAN

- Anonim. (2014). *Ecdysteroids* scientific review on usage, dosage, and side effect. www.examine.com. Diakses tanggal 21 April 2014.
- Dooley, P.C., Crouch, P.J., & West, J.M. (2002). Free amino acids in claw and hemolymph from Australian freshwater crayfish at different stages of the molt cycle. *Comp. Biochem. Physiol.*, 131A, 625-637.
- Dorrington, J.H. (1979). Pituitary and placental hormones. In Austin, C.R. & Short, R.V. (Eds.), *Reproduction in Mammals; 7 Mechanisms of hormone action*. Cambridge University Press. Cambridge. Cambridge, p. 53-80.
- Effendie. (1997). *Metode biologi perikanan*. Yayasan Dewi Sri. Bogor, 112 hlm.
- Fattah, M.H. (1998). *Pengaruh suplemen hormon 20-hidroksiekdison dan kolesterol*

dalam pakan buatan serta ablasi tangkai mata terhadap sinkronisasi percepatan pelunakan karapaks dan pematangan telur kepiting bakau, Scylla serrata (FORSKAL, 1775). Disertasi. Program Pasca-sarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Fujaya, Y. (2008). *Kepiting Komersil Di Dunia, Biologi, Pemanfaatan, dan Pengelolannya*. Citra Emulsi. Makassar.
- Fujaya, Y., Suryati, E., Nurcahyono, E., & Nur, A. (2008). Titer ecdisteroid hemolimp dan ciri morfologi rajungan (*Portunus pelagicus*) selama fase moulting dan reproduksi. *Torani*, 18(3), 266-274.
- Fujaya, Y., Aslamyah, S., Fudjaya, L., Alam, N. (2012). *Budidaya dan bisnis kepiting lunak. Stimulasi Molting dengan ekstrak bayam*. Brillian International Surabaya. 109 hal.
- Gimenez, A.V.F., Garcia-Carreno, F.L., Navarette del Torro, M.A., & Fenucci, J.L. (2001). Digestive proteinases of red shrimp *Pleoticus muelleri* 9 Decapoda, Penaeoidea): partial characterization and relationship with moulting. *Comp. Biochem. Physiol.*, 130A, 331-338.
- Gunamalai, V., Kirubakaran, R., & Subramoniam, T. (2003). Sequestration of ecdisteroid hormone into the ovary of the mole crab, *emerita asitica*. (Milne Edwards). *Currents Science*, 85(4), 493-496.
- Harborn, J.D. (1973). *Phytochemical methods*. Chapman and Hill. London, 354 pp.
- Herlinah, Widodo, A.F., Suryati, E., Rachmansyah, Septiningsih, E., & Tenriulo, A. (2012). Uji efektifitas hormon ecdysteroid dari ekstrak daun murbei, *Morus* spp. sebagai *moulting* stimulan pada produksi kepiting cangkang lunak. Laporan Akhir. Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Payau. Maros (*Unpublish*).
- Herlinah, Suryati, E., Syah, R., Tenriulo, A., Suryanto, H., Septiningsih, E., Kamaruddin, Syakaria, M., Tamsi, dan Mujayana. (2013). Efektifitas hormon *ecdysterone* dari ekstrak daun murbei dalam *moist* pelet untuk produksi kepiting bakau cangkang lunak. Laporan Akhir Intensif Riset SINas. RT-2013-1367. Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Payau, Maros (*unpublish*).
- Herlinah, Risal, M., Tenriulo, A., Septiningsih, E., & Suwoyon, H.S. (2014). Respons *moulting* dan kelulusan hidup kepiting bakau (*Scylla olivacea*) yang diinjeksi dengan ekstrak daun murbei (*Morus* sp.). Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air

- Payau, Maros (*unpublish*).
- Kim, S.Y., Gao, J.J., & Kang H.K. (2000). Two flavonoids from the leaves of *Morus alba* induce differentiation of the human promyelocytic leukemia (HL-60) cell line. *Biology Pharmacy Bulletin*, 23(4), 451-5.
- Lafont, R., & Dinan, L. (2003). Practical uses for ecdysteroids in mammals including humans: an update. Available online: insectscience.org/3.7. *Journal of Insect Science*, 30 pp.
- Louden, D., Handley, A., Taylor, S., Lenz, E., Miller, S., Wilson, D., Sage, A., & Lafont, R. (2001). Spectroscopic characterisation and identification of ecdysteroids using high-performance liquid chromatography combined with 1 on-line UV-diode array, FT-infrared and H-nuclear magnetic resonance spectroscopy and time of flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 910, 237-246.
- Munson, J.W. (1984). Pharmaceutical analysis modern method. Part B. Marcel Dekker. Inc. The Upjohn Company. Kalamazoo. Michigan, 417 pp.
- Quinitio, E.T., Yamauchi, K., Hara, A., & Fuji, A. (1991). Profiles of progesterone and estradiol like substances in the hemolymph of female *Pandalus kessleri* during an annual reproductive cycle. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 81, 343-348.
- Sanchez, M.D. (2000). World distribution and utilization of mulberry, potential for animal feeding. In FAO Electronic Conference on "Mulberry for Animal Production". <http://www.fao.org/WAICENT/FAOINFO/AGRICULT/AGA/AGAP/FRG/Mulberry/Papers/HTML/Intro.htm>, Diakses Oktober 2011.
- Steenis, C.G.G.J. (1981). Flora untuk sekolah di Indonesia. Cetakan ke-3. PT Pradnya Paramita, 949 hlm.
- Suryati, E., Tenriulo, A., & Tonnek, S. (2013). Pengaruh pemberian ekstrak pakis sebagai *moulting* stimulan pada induk udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) di hatcheri. *J. Ris. Akuakultur*, 8(2), 221-228.
- Turner, C.D., & Bagnara, J.T. (1998). Endokrinologi umum. Jogjakarta. Airlangga University Press.