

TITER EKDISON LOBSTER HIJAU PASIR, *Panulirus homarus*, PADA FASE PREMOLTING AKHIR

MUHSINUL IHSAN¹, TRIJOKO², NASTITI WIDJAYANTI³

¹Jurusan Pendidikan IPA Biologi, UIN Mataram, Jalan Gajah Mada No. 100 Jempong Mataram

²Laboratorium Ekologi dan Biosistematikan Hewan, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada

³Laboratorium Fisiologi Hewan, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada

ABSTRACT

Spiny Lobster, *Panulirus homarus*, farming is very potential to be developed in Lombok Island, but physiological aspects such as nutrient needs and growth hormone, especially ecdysone titer, were little known. This research aimed to determine the ecdysone titer of *Panulirus homarus* during the last pre-molting phase. This study was conducted as a quasi-experiment with one group post-test design. The lobsters used in this experiment have the length of carapacs and the body weight of 1.5–2.0 cm and 4.33–5.77 g respectively. The lobster fed for 42 days with gel pellets three times a day before ecdysone titer measurement. The ecdysone hormone was then isolated from the second segment of the abdomen on the basal of the fifth pereopod. Ecdysone titer was measured by using High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). The result showed that the titer of ecdysone was 5.27 µg/ml hemolymph. The titer of ecdysone was found higher compared to previous research on *Homarus americanus*; this result suggested that the spiny lobster *Panulirus homarus* needs a higher amount of ecdysone hormone to initiate the molting process.

KEY WORDS: *Panulirus homarus*, ecdysone, molting, growth

Penulis korespondensi: MUHSINUL IHSAN | email: ihsan@uinmataram.ac.id

Dikirim: 02-11-2017 | Diterima: 24-11-2017

PENDAHULUAN

Lobster hijau pasir, *Panulirus homarus*, merupakan spesies yang paling banyak ditemukan di pesisir Pantai Selatan Lombok seperti Teluk Awang, Teluk Gerupuk, dan Teluk Bumbang. Jumlah lobster fase juvenil yang ditangkap pada tahun 2011 sebanyak 610.063 ekor, terdiri atas lobster hijau pasir *Panulirus homarus* sebanyak 485.017 ekor, lobster mutiara *Panulirus ornatus* 122.958 ekor, dan jenis lain 2.088 ekor (Priyambodo, 2011). Lobster hijau pasir, *Panulirus homarus*, sangat potensial untuk dikembangkan sebagai komoditas budidaya unggulan Pulau Lombok. Salah satu aspek biologi yang harus dipahami untuk kepentingan industrialisasi budidaya lobster adalah aspek fisiologis lobster yang meliputi kebutuhan nutrisi, pertumbuhan dan pengaturan pertumbuhan melalui molting.

Molting pada lobster merupakan peristiwa penggantian cephalotoraks dan abdomen yang lama dengan yang baru. Pertumbuhan pada crustacea didahului dengan peristiwa molting sehingga molting dapat dijadikan sebagai indikator pertumbuhan. Siklus molting pada lobster terdiri atas 4 tahapan yaitu post molting, intermolting, premolting, dan molting. Tahap premolting merupakan tahap yang terjadi sesaat sebelum lobster mengalami molting. Fase ini terbagi menjadi 2 yaitu premolting awal dan akhir (Waterman, 1961).

Molting diatur oleh dua jenis hormon yaitu *Molt inhibiting hormone* dan ecdison (Phillips, 2006). Gangguan sekresi kedua hormon ini dapat mengganggu molting dan pertumbuhan. Titer ecdison yang disekresi berlebihan sebelum fase premolting akhir akan menyebabkan molting sebelum waktunya, yang menyebabkan lobster hanya mengalami molting tanpa diikuti pertumbuhan.

Terdapat dua penelitian yang mengkaji tentang hormon ecdison yaitu penelitian Chang *et al.* (2001) dan Ahmad *et al.* (2007). Chang *et al.* (2001) meneliti titer ecdison pada semua fase molting. Akan tetapi, hewan yang digunakan adalah lobster *Homarus americanus* dewasa (200–300 g). Ahmad *et al.* (2007) meneliti titer ecdison larva serangga pada setiap fase molting. Penelitian tentang titer ecdison pada lobster hijau pasir, *Panulirus homarus*, fase premolting akhir belum pernah dilakukan.

Titer ecdison lobster hijau pasir, *Panulirus homarus*, fase premolting akhir sangat penting diketahui supaya terdapat data ilmiah tentang titer ecdison yang dibutuhkan oleh lobster untuk menimbulkan efek molting. Titer ecdison pada lobster sangat tergantung pada komposisi nutrisi dalam makanan. Informasi mengenai titer ecdison pada fase premolting akhir ini dapat dijadikan sebagai acuan dalam menyusun komposisi pakan buatan, sehingga mempercepat pertumbuhan lobster. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengukur titer hormon ecdison pada fase premolting akhir lobster hijau pasir, *Panulirus homarus*.

METODE

Penelitian ini adalah penelitian kuasi eksperimental berjenis *one group post test design*. Jenis penelitian ini memiliki beberapa kriteria yaitu ukuran obyek penelitian kecil, masing-masing hewan uji menjadi kontrol bagi dirinya sendiri, penentuan sampel untuk pengamatan variabel hasil tidak dilakukan secara acak dan pengukurannya dilakukan hanya sesudah perlakuan (Prahasto & Probandari, 2017).

Hewan uji yang digunakan adalah lobster hijau pasir, *Panulirus homarus*, pada fase juvenil sebanyak lima ekor; panjang karapaks dan berat lobster yang digunakan berturut-turut adalah 1,5–2,0 cm dan 4,33–5,77 gram. Lobster ditempatkan dalam satu wadah penelitian berupa keranjang yang terbuat dari jaring dengan volume 0,19 m³.

Keranjang tersebut ditempatkan di dalam bak polietilen volume 1500 L. Perlakuan pada penelitian ini adalah perlakuan tunggal berupa pemberian pakan gel selama 42 hari. Pada hari ke-42 dilakukan pengukuran variabel hasil berupa pengukuran titer ekdison pada hewan uji yang sedang berada dalam fase premolting akhir. Penentuan hewan uji yang diukur titer ekdisonnya dilakukan dengan metode *purposive sampling* yaitu pengukuran hanya pada hewan uji yang memenuhi kriteria fase premolting akhir. Terdapat tiga kriteria yang menandai fase premolting akhir yaitu karapaks sangat keras, nafsu makan tidak ada, dan pergerakan hewan uji sangat pasif bahkan tidak bergerak.

Pakan yang digunakan adalah pakan berbentuk gel. Pakan gel dibuat dengan menambahkan agar-agar cair ke dalam bahan-bahan pakan yang lain. Agar-agar cair berperan sebagai binder sekaligus memberikan kelenturan pada pakan (Houser & Akiyama, 1997). Konsentrasi serbuk agar-agar untuk membuat agar-agar cair sebesar 3% dari berat bahan-bahan sumber protein pakan (tepung ikan, tepung kedelai, tepung jagung dan tepung terigu), sedangkan volume air sebesar 50% dari berat bahan-bahan sumber protein pakan.

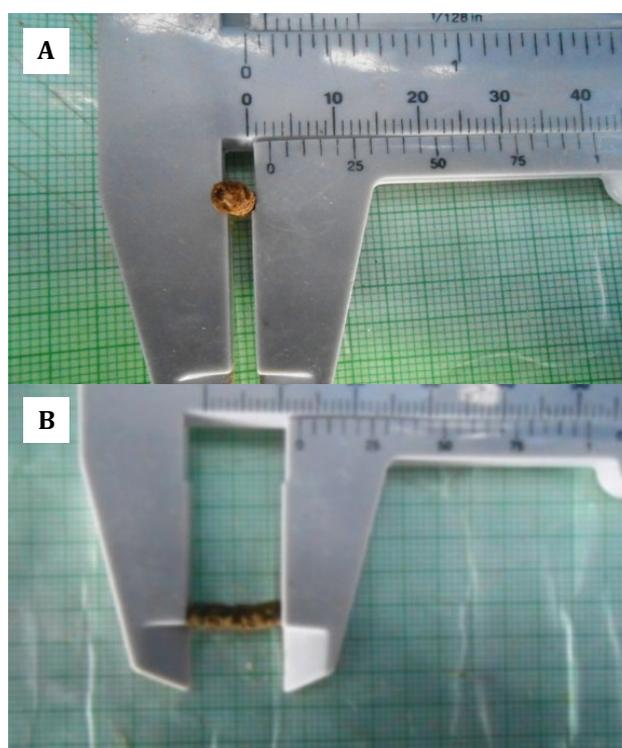
Komposisi pakan gel yang digunakan mengacu pada komposisi *semi moist pellets* Lobster Mutiara (*Panulirus ornatus*) fase juvenil awal (Tabel 1) (Smith *et al.*, 2009). Lobster mutiara, *Panulirus ornatus*, dan lobster hijau pasir, *Panulirus homarus*, tergabung dalam kelompok *spiny lobster* sehingga diasumsikan kebutuhan nutrisinya hampir sama. Komposisi pakan harus sesuai dengan kebutuhan nutrisi lobster karena nutrisi yang rendah menyebabkan bahan dasar pembuatan hormon sulit terpenuhi. Hal ini akan menyebabkan sintesis hormon terganggu dan pertumbuhan lambat bahkan lobster mengalami penurunan berat biomassa (Ihsan *et al.* 2013)

Tabel 1. Formulasi pakan gel

Komposisi	Jumlah (g)
Tepung ikan	851,24
Tepung kedelai	2,55
Tepung jagung	2,55
Tepung terigu	28,09
Serbuk agar-agar	40,26
Minyak ikan	28,09
Astaxanthine	0,05
Kolesterol	8,51
Vitamin C	6,72
Mineral mix	7,24
Vitamin mix	14,47
Binder pearl 'E'	10,21
Total	1000,00

Cara pembuatan pelet gel mengacu pada cara kerja pembuatan pakan gel oleh Faturrahman (2012) dan *semi moist pellets* (Smith *et al.*, 2009) yang telah dimodifikasi, yaitu tahap pertama semua bahan pakan kecuali serbuk agar-agar, vitamin C, vitamin mix dicampur dan dihomogenkan. Pencampuran minyak ikan dilakukan pada tahap yang terakhir setelah bahan-bahan lain homogen. Tahap kedua Serbuk agar-agar dicampurkan ke dalam air tawar sambil diaduk rata dan dipanaskan sampai mendidih. Tahap ketiga adalah pencampuran adonan kering pakan dengan agar-agar cair. Pencampuran adonan kering pakan dilakukan pada suhu agar-agar cair agak dingin ($\pm 45-50^{\circ}\text{C}$). Adonan yang sudah terbentuk dicetak menjadi pelet dengan CCCP4025-83 *Aluminium Meat Mincer*. Ukuran diameter pelet yang terbentuk berkisar 2–2,5 mm.

Pakan hasil cetakan pada tahap ini belum memiliki *water stability* yang bagus (tidak bisa bertahan dalam air selama 1 jam). *Water stability* pelet ditingkatkan dengan cara mengukus pakan dengan sistem kukus semi terbuka dan suhu wadah pengukusan maksimal 60°C . Sebelum dikukus, pakan dibungkus rapat dengan aluminium foil untuk mencegah terjadinya penambahan air ke dalam pakan. Pengukusan bertujuan untuk mematangkan binder yang berupa tepung terigu sehingga bisa lebih kuat mengikat nutrisi dalam pakan. Tahap selanjutnya adalah pengurangan kandungan air dalam pakan. Kandungan air dalam pakan dikurangi dengan diangin-anginkan menggunakan kipas angin selama 3 jam. Pengurangan kandungan air bertujuan untuk menaikkan kadar protein dan nutrisi yang lain dalam pelet. Tahap terakhir dalam pembuatan pakan gel adalah pemotongan pakan secara manual menjadi ukuran yang lebih kecil yaitu panjang 10–15 mm dan diameter 2,0–2,5 mm (gambar 1).



Gambar 1. Ukuran pakan gel, (A) diameter dan (B) panjang

Persentase pakan yang diberikan sebesar 15%/hari dari biomassa lobster. Pakan diberikan 3 kali sehari yaitu pada pukul 08.00 WITA sebanyak 5%, pukul 14.00 WITA sebanyak 2% dan pukul 18.00 WITA sebanyak 8%. Persentase pakan diperbaharui sesuai dengan pertumbuhan biomassa lobster setiap 14 hari sekali. Persentase pakan pada pukul 18.00 WITA lebih banyak dibandingkan pagi dan siang karena lobster bersifat nokturnal yang aktif pada malam hari.

Hemolimfa diambil dari abdomen segmen kedua dan bagian basal kaki jalan (pereopoda) yang kelima. Ekdison diisolasi dari hemolimfa berdasarkan metode isolasi dan analisis ekdison oleh Ahmad *et al.* (2007) yang telah dimodifikasi. Ekdison diekstraksi dari hemolimfa dengan menambahkan pelarut aseton-etanol (1:1) dengan rasio 1:10 ke dalam sampel dan diseker pada 128 rpm selama 10 menit. Sampel kemudian disentrifugasi pada 6500 g selama 13 menit. Supernatan dipisahkan dan pellet diekstrak kembali. Supernatan hasil sentrifus pertama dan kedua dicampur dan dievaporasi sampai kering.

Evaporasi dilakukan dengan *water bath* pada suhu 80°C. Hasil evaporasi ditambahkan 500 µl heksan-metanol 80% (1:1). Fase metanol (bagian bawah) yang mengandung ekdison diambil dan dievaporasi kembali sampai kering. Produk dilarutkan dalam metanol dan difilter menggunakan “*seppak cartridges*” kemudian dianalisa menggunakan HPLC.

HPLC yang digunakan untuk menganalisis ekdison adalah HPLC merek Water tipe Breeze 2 dan jenis kolom yang digunakan adalah Alltech (250 mm x 4,6 mm) yang dipacking dengan nucleosil NH₂ 10U. Fase gerak merupakan campuran metanol dan air (9:1). Panjang gelombang yang digunakan adalah 254 nm selama 1 ml/menit. Sebelum dianalisis, fase gerak difilter menggunakan selulosa asetat membran filter (PTFE) 0,45 µm dan ekdisteroid standar dengan konsentrasi 2400 ppm (2,4 mg/ml) dilarutkan dalam metanol.

Analisis kualitatif dilakukan dengan membandingkan waktu retensi antara standar dengan sampel. Jika waktu retensinya relatif sama maka sampel mengandung ekdison, sedangkan analisis kuantitatif dengan cara membandingkan luas area sampel dengan kurva kalibrasi standar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada hari ke 42, hanya terdapat satu ekor lobster yang berada dalam fase premolting akhir sehingga analisis titer ekdison hanya dilakukan pada satu ekor lobster. Hasil analisis kualitatif dan kuantitatif sampel ekdisteroid standar menunjukkan bahwa hormon ekdison terlacak pada *retention time* (RT) 2,719 menit dan luas area standar sebesar 40.456.589 µV*sec (Tabel 2 & Gambar 2).

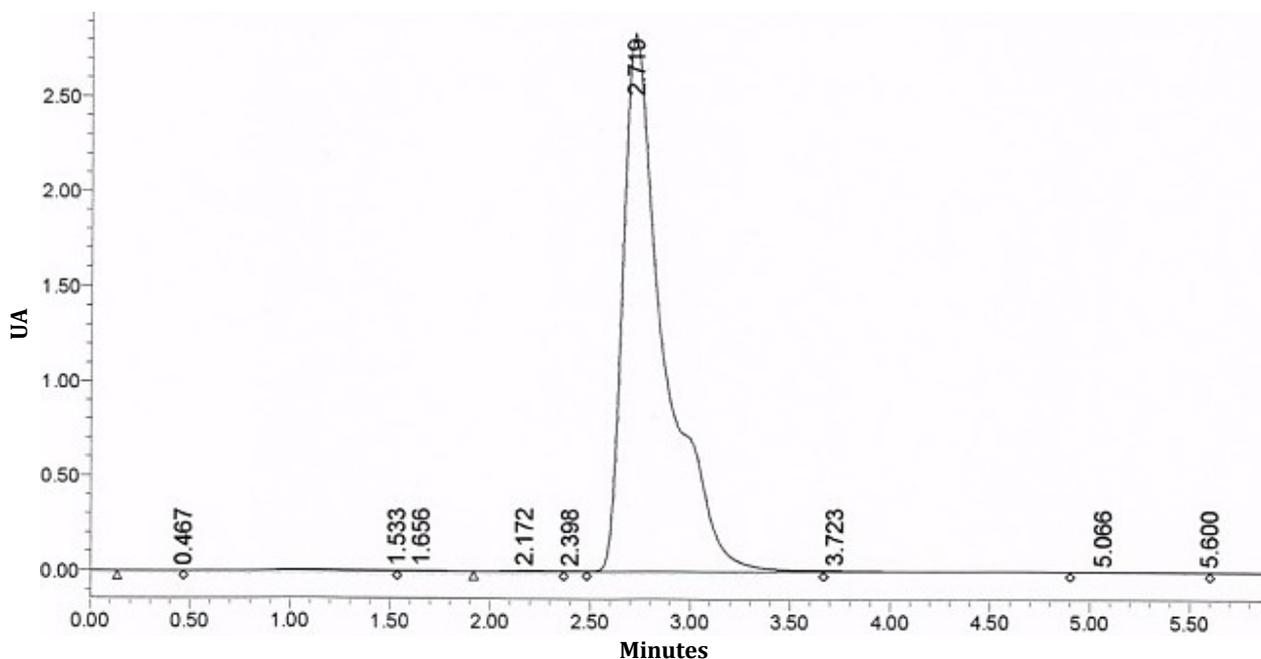
Sampel hemolimfa lobster yang dianalisis memiliki *retention time* (RT) 2,711 menit. Hal ini berarti bahwa di dalam hemolimfa terdapat hormone ekdison. Luas

area sampel sebesar 88.868 µV*sec. Titer ekdison dalam sampel uji didapatkan dengan membandingkan antara luas area sampel uji dengan luas area sampel standar kemudian dikalikan titer sampel standar. Berdasarkan hasil perhitungan didapatkan titer ekdison dalam sampel uji sebesar 5,27 µg/ml hemolimfa (Tabel 3).

Tabel 2. Hasil analisis kualitatif dan kuantitatif hormon ekdison standar

No.	RT (min)	Area (µV*sec)	% Area	Height (µV)	% Height
1	0,467	439	0,00	49	0,00
2	1,535	22.076	0,05	555	0,02
3	1,656	9.454	0,02	604	0,02
4	2,172	56.108	0,14	5.287	0,19
5	2,398	14.511	0,04	2.135	0,07
6	2,719	40.456.589	99,29	2.841.037	99,43
7	3,723	156.082	0,38	6.469	0,23
8	5,066	26.310	0,06	757	0,03
9	5,600	5.591	0,01	472	0,02

Titer ekdison yang terukur pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan titer ekdison yang diukur oleh Chang *et al.* (2001) pada *Homarus americanus* dewasa. Titer ekdison pada penelitian ini adalah 5,27 µg/ml hemolimfa, sedangkan titer ekdison pada fase premolting yang terukur oleh Chang *et al.* (2001) adalah 0,25 µg/ml hemolimfa. Perbedaan ini mengindikasikan bahwa spiny lobster, *Panulirus homarus*, membutuhkan titer ekdison yang lebih tinggi untuk menimbulkan efek molting.



Gambar 2. Hasil analisis kualitatif dan kuantitatif hormon ekdison standar

Tabel 3. Perbandingan luas area sampel uji dan sampel standar

No	Retention time (menit)	Luas area (µV*sec)	Konsentrasi standar (mg/ml)	Konsentrasi ekdison sampel uji (mg/ml)	Konsentrasi ekdison sampel uji (µg/ml)
1	2,719	40.456.589	2,4	-	-
2	2,711	88.868	-	0,00527	5,27

Tingginya titer ekdison pada penelitian ini didukung oleh kandungan mineral yang tinggi dalam pakan gel. Hasil analisis proksimat pakan gel menunjukkan bahwa kandungan protein, lemak, abu, dan air berturut-turut 37,06%; 8,46%; 23,99%; dan 24,02%. Setelah dikonversi ke dalam 100% berat kering atau 0% air, kandungan protein, lemak, dan abu berturut-turut 39,33%; 8,98% dan 25,46%. Kandungan abu dalam pakan gel sangat tinggi. Hal ini menunjukkan kandungan mineral sangat tinggi pula. Salah satu jenis mineral yang dapat menstimulus sekresi ekdison adalah kalsium. Konsentrasi kalsium yang tinggi akan memicu sintesis ekdison dalam jumlah yang lebih banyak.

Mekanisme sintesis ekdison sudah diteliti oleh Spaziani *et al.* (2001) dan Imayavaramban *et al.*, (2007). Kalsium diduga mampu menstimulasi sintesis ekdison. Kalsium meningkatkan sintesis ekdosteroid dengan cara terikat pada kalmodulin sehingga menurunkan spesifisitas MIH dengan reseptornya. Protein G tidak akan aktif karena MIH tidak berikatan dengan reseptornya, sedangkan Kalsium yang berikatan dengan kalmodulin akan mengaktifkan protein kinase C. Protein kinase C akan mengaktifkan SP-1, SF-1 dan CREB sebagai *transcription factor* yang efeknya menginduksi sintesis protein StAR dan sitokrom 450. Peningkatan jumlah StAR dan sitokrom akan menyebabkan terjadinya sintesis ekdisteroid.

Protein StAR berperan mentransfer kolesterol yang terikat pada LDL (apoB) dari membran luar mitokondria menuju membran dalam mitokondria, sedangkan sitokrom 450 berperan mengkonversi kolesterol menjadi pregnenolone (steroid yang menjadi prekursor ekdisteroid). Pregnenolone selanjutnya dikonversi menjadi ekdisteroid (Pankotai, 2010).

Ekdisteroid akan dirubah menjadi bentuk yang lebih aktif yaitu 20-hidroksiekdison (20E) di jaringan tergetnya seperti badan lemak, epidermis, saluran pencernaan tengah (*midgut*) dan jaringan lainnya (Chapman, 1998).

Peristiwa molting hanya akan terjadi jika titer hormon dalam tubuh lobster cukup untuk menimbulkan efek molting. Pada kondisi normal, sekresi hormon ekdison mencapai puncaknya pada saat premolting akhir atau sesaat sebelum terjadi molting. Pada kondisi tidak normal seperti stres, sekresi hormon ekdison bisa mencapai puncaknya sebelum fase premolting. Apabila hal ini terjadi maka lobster akan mengalami molting tetapi tidak diikuti oleh pertumbuhan. Stres pada lobster dapat disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya faktor lingkungan, infeksi bakteri, dan transportasi. Supriyono *et al.* (2017) menyatakan stres sangat tinggi setelah proses transportasi yang ditandai dengan tingginya jumlah *total hemocyte count* (THC). Ihsan *et al.* (2013) menyatakan pada lobster fase juvenil molting sangat sering terjadi sesaat setelah transportasi lobster. Akan tetapi, molting tersebut tidak diikuti oleh penambahan berat lobster.

Perbedaan hasil pengukuran titer ekdison pada penelitian ini juga berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Ahmad *et al.* (2007). Pada penelitian Ahmad *et al.* (2007), titer ekdison diukur pada *Bombyx mori* larva instar kelima fase premolting. Ahmad *et al.* (2007) mendapatkan titer ekdison pada *Bombyx mori* larva instar kelima sebesar 100–120 µg/ml hemolimfa. Titer ekdison ini jauh lebih tinggi jika dibandingkan dengan titer ekdison pada penelitian ini. Perbandingan kedua hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *Bombyx mori* larva instar kelima membutuhkan titer ekdison yang lebih tinggi untuk menimbulkan efek molting.

Titer ekdison pada berbagai fase dalam siklus molting lobster mengalami fluktuasi. Pada fase postmolting dan intermolting titer ekdison sangat rendah, titer ekdison mulai meningkat pada fase premolting awal dan mencapai puncaknya pada fase premolting akhir. Hasil penelitian Chang *et al.* (2001) menunjukkan bahwa titer ekdison pada fase postmolting sebesar 0,01–0,02 µg/ml hemolimfa, intermolting sebesar 0,01–0,03 µg/ml hemolimfa, dan fase premolting sebesar 0,025–0,25 µg/ml hemolimfa.

KESIMPULAN

Titer ekdison lobster hijau pasir, *Panulirus homarus*, pada fase premolting akhir sebesar 5,27 µg/ml hemolimfa.

DAFTAR REFERENSI

- Ahmad I, Rahayu R, Permana AD, Astari S. 2007. Alteration of ecdysteroid titre by thyroxine and juvenile hormone analogue (methoprene) in *Bombyx mori* (Lepidoptera : Bombycidae). *Biota*. 12(2): 116–121.
- Chang ES, Sharon AC, Eva PM. 2001. Hormones in the lives of crustaceans: an overview. *AMER. Zool.* 41:1090–1097.
- Chapman RF. 1998. *The insect: structure and function* 4th edition. UK: Cambridge university press.
- Faturrahman. 2012. Penggunaan puding *gracilaria* sebagai karir *feed additive* untuk abalone. Simposium nasional bioteknologi akuakultur IV di Bogor.
- Houser RH, Akiyama DM. 1997. Feed formulations principles. In D'Abramo LR, Conklin DE, Akiyama DM. *Crustacean nutrition, advances in world aquaculture*. Vol.6. USA : International Working Group on Crustacean Nutrition, World Aquaculture Society. 587 p.
- Ihsan M, Trijoko, Widjayanti N. 2013. Pengaruh penambahan silase artemia dalam pelet gel terhadap pertumbuhan, persentase molting dan titer ekdison lobster hijau pasir (*Panulirus homarus*) pada fase juvenil (Tesis). Fakultas biologi UGM. Yogyakarta.
- Imayavaramban L, Dhayaparan, Halagowder D. 2007. Molecular mechanism of molt-inhibiting hormone (MIH) induced suppression of ecdysteroidogenesis in the Y-organ of mud crab: *Scylla serrata*. *FEBS Letters*. 581: 5167–5172.
- Pankotai T, Popescu C, Martin D, Grau B, Zsindley B, Bodai L, Tora L, Ferrus A, Boros I. 2010. Genes of the ecdysone biosynthesis pathway are regulated by the dATAC histone acetyltransferase complex in *Drosophila*. *Molecular and cellular biology*. 30:4254–4266
- Philips BF. 2006. *Lobsters: Biology, management, aquaculture and fisheries*. USA: Blackwell Publishing Ltd. 506 p
- Prahasto D, Probandari A. 2017. Rancangan penelitian eksperimen murni dan kuasi-eksperimental. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada (UGM). [Internet] Available from http://gamel.fk.ugm.ac.id/pluginfile.php/72599/mod_folder/content/0/materi/Materi%2021a%20Penelitian%20Kuasi%20Eksperimental%20dan%20Eksperimental.pdf?forcedownload=1

- Priyambodo B. 2011. Seed census & puerulus assessment techniques, seasonality, sustainability in Indonesia. *Annual meeting lobster research* di Lombok.
- Smith DM, Irvin SJ, David M. 2009. Optimising the physical form and dimension of feed pellets for tropical spiny lobsters. Dalam K.C. Williams. *Spiny lobster aquaculture in the Asia-Pacific region*. ACIAR Proceedings 132: Canberra; P. 157-162.
- Spaziani E, Thomas CJ, Wenan LW, Jeffrey AB, Shanon MC, Corey CC, Matt JD, Christopher MS, Danice KS, Rex M. 2001. Further studies on signaling pathways for ecdysteroidogenesis in crustacean Y-organs. *AMER. ZOOL.* 41:418-429.
- Supriyono E, Prihardianto RW, Nirmala K. 2017. The stress and growth responses of spiny lobster *Panulirus homarus* reared in recirculation system equipped by pvc shelter. *AAFL Bioflux.* 10(2): 147-155.
- Waterman TH. 1961. *Sense organ, integration, and behavior* vol. 1. New York & London : Academic Press. 350 p