

PENYEMBUHAN LUKA DAN REGENERASI MANTEL PADA *Atrina vexillum* (BIVALVIA : PINNIDAE) DENGAN ANESTESI 1-PHENOXY-2-PROPANOL

(Wound Healing and Mantle Regeneration in *Atrina vexillum* (Bivalvia :
Pinnidae) with Anesthesia 1-Phenoxy-2-propanol)

Chrisye L. Polakitan¹, N. Gustaf F. Mamangkey², Georis F. Kaligis²

¹Mahasiswa Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan,
Universitas Sam Ratulangi, Manado.

²Staf Pengajar Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan,
Universitas Sam Ratulangi, Manado.

In order to know the time of wound healing and regeneration on mantle of *Atrina vexillum*, 30 individuals of *Atrina vexillum* were collected from the coast of Arakan village, Tatapaan Distric, Minahasa Selatan Regency. A distal portion (1x1 cm) on mantle from the left shell of each individual was cut off after the organisms were anesthetized using 1-Phenoxy-2-propanol. Two individuals were sampled every 1, 3, 6, 12 hours and 1, 3, 6, 12 and 24 days and the ex-wounds were cut off for histological observation in laboratory. The result showed that the healing time of the wound started from three to twelve days of the observation and mantle regeneration was first detected from twelve to twenty four days of observation; then there was no mortality recorded during this study.

Keywords : Wound healing, mantle regeneration, *Atrina vexillum*, pearl oyster.

Untuk mengetahui waktu yang diperlukan dalam penyembuhan luka dan regenerasi pada bagian mantel *Atrina vexillum*, sebanyak 30 individu *Atrina vexillum*, dikoleksi dari pantai Desa Arakan, Kecamatan Tatapaan, Kabupaten Minahasa Selatan. Pelukaan pada bagian distal mantel cangkang kiri setiap individu sebesar 1x1 cm dilakukan setelah semua kerang dibius menggunakan anestesi 1-Phenoxy-2-propanol. Dua individu kerang disampel dari daerah pemulihan pada 1, 3, 6, 12 jam dan 1, 3, 6, 12 dan 24 hari setelah dibius dan bagian bekas luka dipotong kemudian diuji secara histologis di laboratorium. Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa penyembuhan luka dimulai pada tiga hari sampai dua belas hari pengamatan, regenerasi mantel mulai terdeteksi pada dua belas hari pengamatan sampai dua puluh empat hari pengamatan dan tidak ada satupun individu yang mati selama penelitian.

Kata kunci : Penyembuhan luka, regenerasi mantel, *Atrina vexillum*, kerang mutiara.

PENDAHULUAN

Luka pada moluska sering disebabkan oleh predasi ataupun juga akibat benturan fisik baik itu secara sengaja ataupun tidak sengaja. Namun kemampuan menyembuhkan luka adalah sifat alamiah dari setiap makhluk hidup. Setiap proses penyembuhan luka, biasanya diikuti proses regenerasi,

Penelitian tentang penyembuhan luka dan regenerasi mantel pada kerang mutiara, sejauh yang diketahui baru pada jenis-jenis kerang mutiara yang umum ditemui seperti *Pinctada maxima*

tergantung besar kecilnya luka (DesVoigne & Sparks, 1968). Avertebrata laut pada umumnya memiliki kemampuan untuk meregenerasi organ yang baru setelah putus atau hilang. Akan tetapi, kecepatan penyembuhan luka dan regenerasi berbeda pada setiap spesies. Hal itu juga tergantung dari besarnya wilayah yang terkena luka dan organ yang terpotong (Carlson, 2007). (Mamangkey & Southgate, 2009), *Pinctada margaritifera* dan *Pinctada fucata* (Acosta-Salmón & Southgate, 2005). Namun belum ada studi ilmiah ataupun penelitian yang mengkaji tentang

penyembuhan luka dan regenerasi mantel pada *Atrina vexillum*. Penelitian ini bertujuan untuk mengukur waktu yang diperlukan untuk menyembuhkan luka yang dibuat pada bagian mantel, mendeteksi regenerasi mantel pada bagian mantel yang luka dan mengamati jumlah individu yang hidup dan yang mati setelah pelukaan.

METODE PENELITIAN

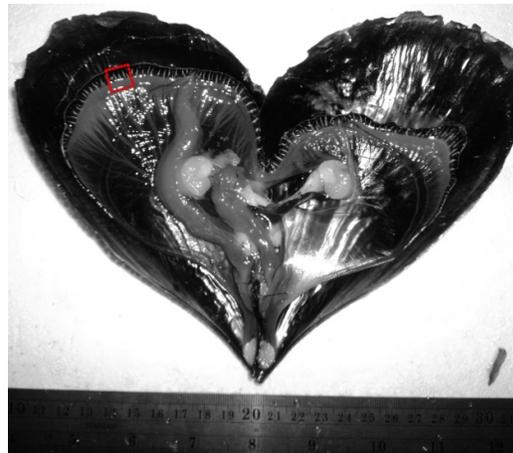
Penelitian ini dilakukan di Desa Arakan, Kecamatan Tatapaan, Kabupaten Minahasa Selatan. Pengambilan sampel kerang dilakukan dengan menyusuri garis pantai pada pagi hingga siang hari saat air surut dengan cara snorkeling. Setiap kerang yang ditemukan, dibersihkan dari biota pengotor, dikeringkan dan diberi label pada cangkang, selanjutnya kerang diukur panjang, lebar dan tebalnya.

Selanjutnya, kerang dipersiapkan untuk dibius/dianestesi dan dioperasi. Bahan anestesi yang dipakai yaitu 1-Phenoxy-2-propanol pada konsentrasi 3mL.L^{-1} . Penyiapan larutan anestesi dilakukan dengan memasukkannya ke dalam botol yang telah diisi sedikit dengan air laut, dikocok lalu dituangkan ke dalam wadah pembiusan sehingga mencapai konsentrasi 3mL.L^{-1} (Mamangkey *dkk.*, 2009). Setelah cairan pembius siap, kerang-kerang dimasukkan ke dalam wadah pembiusan. Setiap 5 menit, bagian mantel disentuh untuk mengetahui reaksi mantel dan cangkang. Bila bagian mantel tidak mengerut dan cangkangnya tidak menutup, berarti sampel tersebut telah terbius (Mamangkey *dkk.*, 2009). Kerang yang terbius kemudian diangkat dari dalam wadah pembiusan.

Kerang yang terbius dilukai, dengan cara membuat potongan pada bagian distal mantel pada cangkang kiri sepanjang kira-kira 1 cm dan lebar 1 cm (Gambar 1). Kerang yang telah dilukai, ditempatkan di tempat pemulihan dengan merendam mereka di laut berdasarkan habitatnya.

Selanjutnya kerang diambil dua individu pada setiap waktu sampling lalu

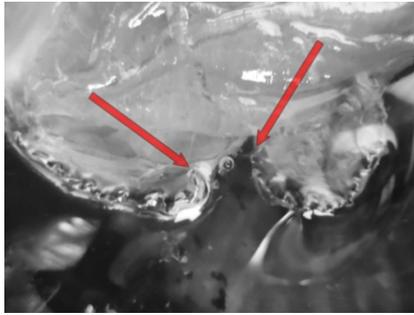
dioperasi kembali dengan memotong bagian bekas luka. Sebelumnya kerang dibius dengan prosedur terdahulu. Waktu sampling dan pengoperasian kembali dilakukan pada 1, 3, 6 dan 12 jam, serta 1, 3, 6, 12 dan 24 hari setelah pelukaan. Potongan mantel tersebut diletakkan di dalam wadah penyimpanan yang diisi dengan alkohol 70%. Setelah itu uji histologis dilakukan untuk melihat penyembuhan luka dan regenerasi pada bagian mantelnya. Uji histologis menggunakan hematoxilin eosin (HE) (An & Martin, 2003; Spector & Goldman, 2006; Underwood, 1999).



Gambar 1. Perkiraan bagian distal mantel cangkang kiri kerang yang diberi luka potongan sebesar 1 cm x 1 cm (bingkai merah).

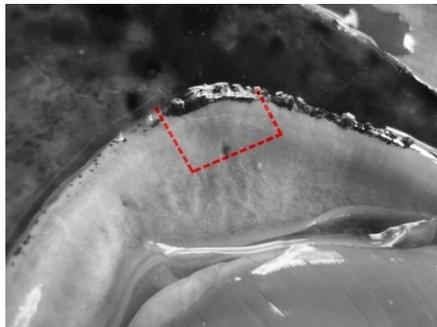
HASIL DAN PEMBAHASAN

Ukuran kerang *Atrina vexillum* pada penelitian ini adalah sebagai berikut, panjang rata-rata ($\pm\text{SD}$): $15,73 \pm 1,98$ cm; lebar rata-rata ($\pm\text{SD}$): $11,33 \pm 1,66$ cm; tebal rata-rata ($\pm\text{SD}$): $3,85 \pm 0,65$ cm. Dari hasil observasi visual, proses penyembuhan luka dan regenerasi mantel ini dimulai dengan tertekuknya kedua tepi luka (tanda panah merah pada gambar 2) ke arah tengah luka pada dua puluh empat jam setelah proses pelukaan.



Gambar 2. Kondisi potongan luka pada distal mantel cangkang kiri setelah 24 jam.

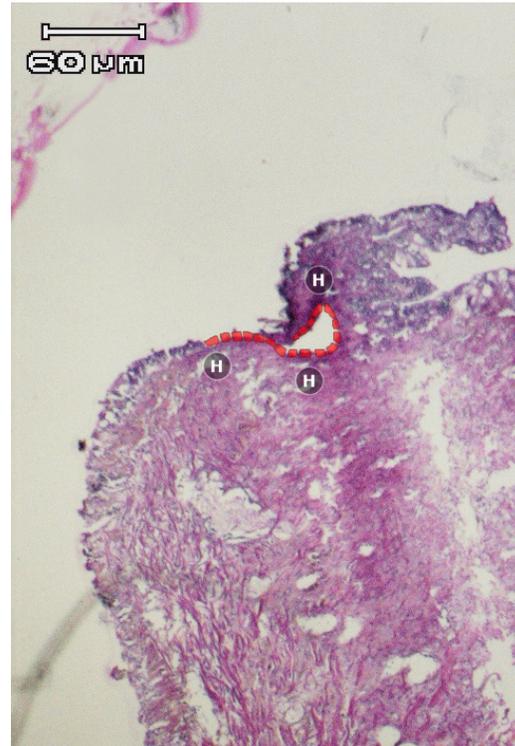
Pada hari kedua puluh empat menunjukkan bahwa area luka (garis putus-putus warna merah pada gambar 3) telah sembuh dari luka potongan (Gambar 3). Dan area luka tersebut telah beregenerasi sehingga bentuknya terlihat sama dengan bagian distal mantel cangkang kiri yang tidak diberi luka potongan. Pengamatan selama dua puluh empat hari juga menunjukkan bahwa semua kerang yang diberi luka dapat bertahan hidup untuk menyembuhkan luka dan meregenerasi bagian mantelnya setelah pelukaan diberikan pada bagian mantelnya. Semua individu kerang yang digunakan pada penelitian ini, tidak ada satupun yang mati.



Gambar 3. Area luka yang sembuh setelah 24 hari.

Untuk melihat proses penyembuhan dalam jaringan, hasil histologi menunjukkan adanya reaksi awal di bagian mantel yang diberi luka potongan pada enam jam setelah diberi luka potongan (Gambar 4), bagian otot pada mantel bergerak menuju bagian

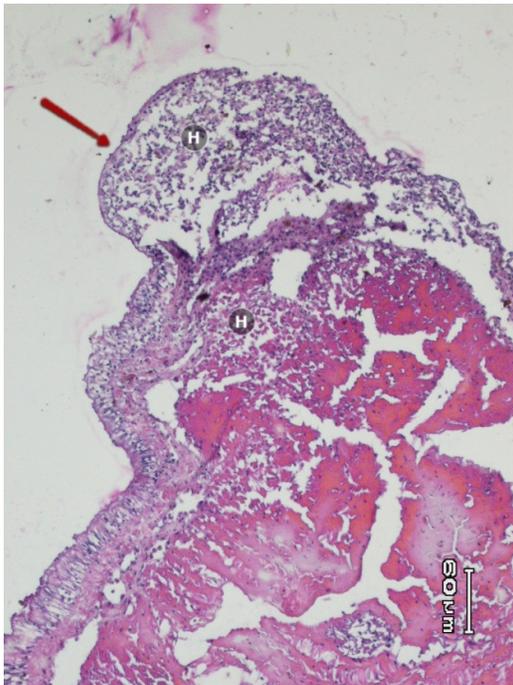
yang luka (garis putus-putus warna merah pada gambar 4). Pergerakan otot ke daerah luka gunanya untuk meminimalisasi area luka (Carlson, 2007). Wilayah luka tersebut mulai menyempit dan berkurang, hemosit juga sudah mulai tampak.



Gambar 4. Tampak histologi luka pada enam jam setelah proses pelukaan. H (Hemosit. Pembesaran 40 μm)

Pada tiga hari setelah diberi luka (Gambar 5), penumpukan hemosit di area luka mulai terlihat. Pengamatan pada hari ketiga juga memperlihatkan pemanjangan sel-sel epitel yang telah menutupi seluruh area luka (tanda panah warna merah pada gambar 5).

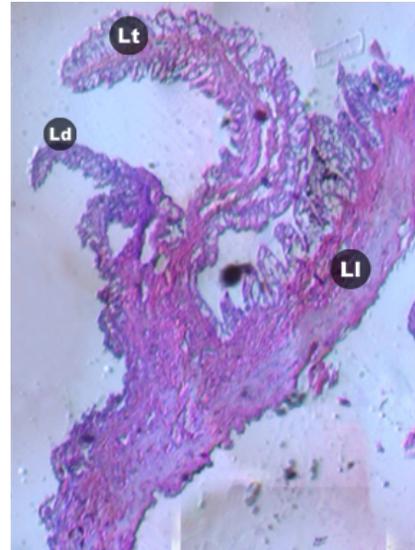
Pada hari kedua belas setelah proses pelukaan, regenerasi pada bagian mantel telah berlangsung (Gambar 6). Hal ini ditandai dengan hadirnya bagian-bagian mantel seperti pada mantel normal (yang tidak dilukai). Pengamatan pada hari kedua belas memperlihatkan bagian lipatan luar, lipatan tengah dan lipatan dalam yang telah muncul.



Gambar 5. Tampak histologi luka pada tiga hari setelah proses pelukaan. H (Hemosit. Pembesaran 100 μm)

Hadirnya bagian-bagian mantel tersebut lebih jelas terlihat lagi pada hari yang kedua puluh empat (Gambar 7). Observasi histologi pada bagian mantel normal (Gambar 8), bagian-bagian yang terlihat yaitu epitelium, jaringan ikat, otot, lipatan luar (Li), lipatan tengah (Lt) dan lipatan dalam (Ld) dari mantel.

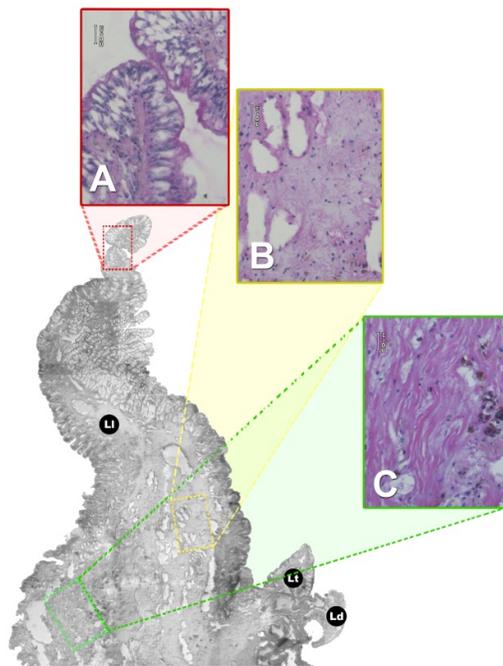
Dalam penelitian ini didapati empat tahap dalam proses penutupan luka secara lengkap oleh epitelium melalui proses epitelisasi. Tahapan tersebut yaitu kontraksi otot untuk mengurangi area luka, infiltrasi hemosit, inflamasi (Flynn & Rovee, 1982) dan regenerasi (Carlson, 2007; Alvarado, 2000). Reaksi cepat yang ditunjukkan oleh *Atrina vexillum* untuk mencegah terjadinya infeksi adalah menutup area luka tersebut dengan secepat mungkin. Kontraksi otot untuk meminimalisasi area luka terjadi pada enam jam pengamatan setelah proses pelukaan diberikan.



Gambar 6. Tampak histologi luka pada dua belas hari setelah pelukaan. Ld (Lipatan dalam), (Lt) (Lipatan tengah) dan Li (Lipatan luar)



Gambar 7. Tampak histologi luka pada dua puluh empat hari setelah pelukaan. Ld (Lipatan dalam), Lt (Lipatan tengah) dan Li (Lipatan luar).



Gambar 8. Bagian mantel kerang *Atrina vexillum* normal. A (Epitelium), B (Jaringan ikat), C (Jaringan otot)

Pada pengamatan enam jam sampai pengamatan hari ketiga setelah proses pelukaan, menunjukkan terjadinya penumpukan hemosit di area luka yang menandakan proses inflamasi atau peradangan sedang terjadi. Tujuan dari proses inflamasi ini adalah untuk menghentikan pendarahan dan juga membersihkan area luka dari bakteri dan benda-benda asing sebelum proses penyembuhan luka berlangsung (Flynn & Rovee, 1982). Epitelisasi pada *Atrina vexillum* dimulai setelah tiga hari pengamatan sampai area luka tersebut sembuh dan terlihatnya regenerasi pada pengamatan hari kedua belas sampai pengamatan pada hari kedua puluh empat. Epitelisasi diperkirakan sebagai langkah awal yang penting dalam proses penyembuhan luka sebelum mantel baru terbentuk kembali (Carlson, 2007). Selanjutnya, Carlson menyatakan bahwa epitelium juga berfungsi untuk mengisolasi dan melindungi luka dari infeksi lebih lanjut. Bagian mantel yang luka pada *Pinctada margaritifera* dan

Pinctada fucata, sembuh pada tiga hari pertama setelah proses pelukaan (Acosta-Salmón & Southgate, 2005). Pada kerang *Pinctada fucata* kontraksi otot terjadi antara satu jam pengamatan setelah proses pelukaan diberikan pada bagian mantel, hemosit mulai terakumulasi pada tiga sampai enam jam pengamatan, penutupan luka dicapai dalam enam jam setelah pelukaan, epitelisasi pada dua puluh lima jam pertama dan selesai dalam seratus lima jam pengamatan setelah proses pelukaan (Acosta-Salmón & Southgate, 2006). Sedangkan pada *Pinctada maxima*, kontraksi otot untuk meminimalisasi area luka, mulai terlihat pada tiga jam pengamatan setelah pelukaan diberikan pada bagian mantel. Pengakumulasian hemosit mulai terjadi pada enam jam sampai tujuh puluh dua jam pengamatan setelah proses pelukaan dan proses epitelisasi diselesaikan pada tujuh puluh dua jam yang ditandai dengan berkurangnya area luka, infiltrasi dan akumulasi hemosit serta dediferensiasi sel (Mamangkey & Southgate, 2009).

Proses untuk menyembuhkan luka selalu diikuti oleh proses regenerasi organ untuk menggantikan bagian yang hilang (Mamangkey & Southgate, 2009; Carlson, 2007; Alvarado, 2000). Menurut Carlson (2007), setelah area luka telah ditutupi semuanya oleh epitel, morfogenesis berlangsung untuk menghadirkan kembali bentuk asli dari mantel tersebut. Pada *Atrina vexillum*, proses regenerasi ini mulai terlihat pada pengamatan hari kedua belas sampai pengamatan pada hari kedua puluh empat. Pada spesies *Pinctada margaritifera* dan *Pinctada fucata*, kedua spesies ini selesai meregenerasi bagian mantelnya menjadi seperti semula pada pengamatan hari kesembilan puluh yang ditandai dengan hadirnya bagian-bagian mantel yang lengkap, sama seperti bagian mantel yang normal (Acosta-Salmón & Southgate, 2005). Sedangkan untuk *Pinctada maxima*, regenerasi organ lengkap yang ditandai dengan morfogenesis, diselesaikan juga dalam

waktu sembilan puluh hari (Mamangkey & Southgate, 2009).

Tingginya jumlah individu yang hidup pada penelitian ini, menunjukkan bahwa spesies *Atrina vexillum* mampu untuk bertahan hidup dari pendarahan yang diakibatkan oleh luka potongan pada bagian mantel. Kondisi ini juga tak lepas dari pengaruh anestesi pada kerang uji. Penggunaan larutan anestesi dimaksudkan untuk mengurangi stres pada kerang dalam pengoperasian bagian mantel (Mamangkey *dkk*, 2009).

KESIMPULAN

Penyembuhan luka bagian mantel pada *Atrina vexillum* dimulai dari tiga hari pengamatan sampai dua belas hari pengamatan setelah proses pelukaan, regenerasi mantel pada *Atrina vexillum* mulai terdeteksi pada dua belas hari pengamatan sampai dua puluh empat hari pengamatan setelah proses pelukaan diberikan dan tidak ada satupun individu yang mati selama dua puluh empat hari penelitian di lakukan.

DAFTAR PUSTAKA

- Acosta-Salmón H. dan Southgate P C. 2005. Mantle regeneration in the pearl oysters *Pinctada fucata* and *Pinctada margaritifera*. *Aquaculture*. 246, 447– 453.
- Acosta-Salmón H. dan Southgate P C. 2006. Wound healing after excision of mantle tissue from the Akoya pearl oyster, *Pinctada fucata*. *Comparative Biochemistry and Physiology*. Bagian A. 143, 264-268.
- Alvarado A.S., 2000. Regeneration in the metazoans: why does it happen? *BioEssays* 22, 578–590.
- An Y.H. dan Martin K.L., 2003. *Handbook of Histology Methods for Bone and Cartilage*. Humana Press Inc. New Jersey. 458 hal.
- Carlson B.M., 2007. *Principles of regenerative biology*. Academic Press. London.
- DesVoigne D.M. dan Sparks A.K., 1968. The Process of Wound Healing in the Pacific Oyster, *Crassostrea gigas*. *Journal Of Invertebrate Pathology*. 12, 53-65.
- Flynn M.E. dan Rovee D.T., 1982. Wound Healing Mechanisms. *The American Journal of Nursing*. 82, No 10. Hal 1544-1549.
- Mamangkey N.G.F., Acosta-Salmón H. dan Southgate P C., 2009. Use of anaesthetics with the silver-lip pearl oyster, *Pinctada maxima* (Jameson). *Aquaculture*. 288, 280-284.
- Mamangkey N.G.F. dan Southgate P.C., 2009. Regeneration of excised mantle tissue by the silver-lip pearl oyster, *Pinctada maxima* (Jameson). *Fish and shellfish immunology*. 27, 164–174.
- Spector D.L. dan Goldman R.D., 2006. *Basic Methods in Microscopy*. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York. 382 hal.
- Underwood J.C.E., 1999. *Patologi umum dan sistematik*. Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 336 hal.