

IDENTIFIKASI JENIS ANOMALI PERKEMBANGAN EMBRIONAL MIMI-MINTUNO RAKSASA (*Tachypleus gigas*) SELAMA PERIODE ARTIFICIAL INCUBATION DI DALAM BOTOL VIAL

EMBRYONIC DEVELOPMENTAL ANOMALY IDENTIFICATION OF GIANT MIMI-MINTUNO (*Tachypleus gigas*) DURING ARTIFICIAL INCUBATION PERIOD IN THE VIAL BOTTLES

Ciptono* dan Tri Harjana

Jurusan Pendidikan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Yogyakarta

*email: ciptono@uny.ac.id

Diterima 4 Desember 2014, disetujui 4 Maret 2015

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengungkap fenomena ada/tidaknya anomali pada perkembangan awal *Mimi-mintuno* raksasa (*Tachypleus gigas*) selama inkubasi artifisial (*artificial incubation*) dalam botol vial. Sampel telur-telur *Tachypleus gigas* fertil 5 butir dimasukkan ke dalam botol-botol vial transparan 50 botol dan masing-masing diisi dengan media air laut yang jernih. Tahap embrio (instar) menetas, botol-botol diberi tanda, kemudian media air laut dibuang digantikan dengan larutan formalin 4 % dan gliserin sejumlah 5 % volume, hingga mencapai volume total $\frac{3}{4}$ bagian botol vial. Standard tahap-tahap perkembangan embrional *Mimi-mintuno* menggunakan referensi perkembangan normal *Mimi-mintuno* menurut Itow (1988). Penelitian mendeskripsikan jenis anomali yang terdapat dalam perkembangan pasca menetas embrio. Hasil pengamatan didokumentasikan dalam bentuk stereo-mikrofotograf. Hasil penelitian menunjukkan terdapat bentuk-bentuk anomali embrio: (a). Mengalami keterlambatan perkembangan, struktur tubuh belum sempurna; (b). Pada pengamatan embrio menetas, cangkang terbuka dan selaput *perivitelline* telur sudah membuka namun mengalami keterlambatan perkembangan, struktur tubuh belum sempurna; (c). Embrio setelah menetas sempurna, struktur tubuh ada kelainan morfologik berupa tonjolan tidak normal pada bagian karapaks bagian dorsal.

Kata kunci: *Tachypleus gigas*, artifisial, inkubasi

Abstract

*This study aims to reveal the phenomenon of presence / absence of anomalies in the early development of Mimi-giant mintuno (*Tachypleus gigas*) during artificial incubation in the vial bottles. Samples 5 eggs are fertilized incorporated into transparent 50 bottles and vials each filled with clear sea water medium. Embryonic stages (instars) hatch, bottles marked, then dumped seawater medium was replaced with 4% formalin solution and glycerin amount of 5% by volume, up to $\frac{3}{4}$ of the total volume of the vial bottles. Standard stages of giant Mimi-mintuno embryonic normal development Mimi-mintuno according to Itow (1988). The description type of anomalies contained in the post-hatching embryo development. The observations are documented in the form of stereo-microphotograph. The results showed that there are forms anomalies: (a). Delayed development, the structure of the body is not perfect; (b). In observation of the embryo hatches, open shell and egg perivitelline membrane has been opened but delayed development, the structure of the body is not perfect; (c). Embryos after hatched perfectly, abnormalities of morphologic structure such as abnormal protrusion on the dorsal carapace part found.*

Keywords: *Tachypleus gigas*, artificially, incubation

Pendahuluan

Sampai saat ini telah ditemukan 4 spesies *Horseshoe crabs* (ketam tapal kuda : *Mimi-mintuno*, Jawa.) di dunia, yaitu : *Limulus polyphemus* yang hidup di pantai timur bagian utara benua amerika. Lainnya hidup di benua asia *Tachypleus tridentatus* dapat ditemukan di Jepang, China selatan, Vietnam utara dan kepulauan sekitar Asia tenggara. *Tachypleus gigas* (*Mimi-mintuno* raksasa) ditemukan di benua Asia sejak dari Vietnam sampai India bagian timur dan kepulauan di wilayah Asia tenggara. Sementara itu *Tachypleus (Carcinoscorpius) rutondicauda* dapat ditemukan di beberapa wilayah benua Asia sejak dari China selatan sampai India bagian timur dan Asia tenggara. *Species-species asian* tadi dapat ditemukan di zona Asia timur, kecuali di Jepang [1].

Nenek moyang keempat species tersebut di atas rupa-rupanya sama, yaitu *Mesolimulus walchi* yang fosilnya ditemukan di Eropa dan menunjuk era keberadaannya sekitar 200 juta tahun yang lalu [1]. Meskipun saat ini hanya ditemukan 4 spesies horseshoe crabs di dunia, namun dahulu sebenarnya terdapat lebih banyak lagi spesies. Seperti di Australia dapat ditemukan species *Horseshoe crabs* yang habitatnya air tawar, tidak seperti pada umumnya yang hidup di perairan payau atau air laut sepenuhnya [2,3].

Lebih lanjut disebutkan juga bahwa *Horseshoe crabs* yang ada sekarang ini secara langsung diturunkan dari Trilobita (*Subphylum Trilobitomorpha*) yang berevolusi lanjut ke *Subphylum Chelicerata*, suatu Arthropoda (*Phylum : Arthropoda*) primitif yang hidup pada era Palaeozoic lebih dari 500 juta tahun yang lalu. Baik Trilobita dan *Scorpions* laut, keduanya berkembang bersama sampai pada masa kepunahannya pada era Paleozoic. Hanya *Horseshoe crabs* (*Subphylum : Chelicerata*) saja yang masih dapat bertahan keberadaannya sampai sekarang ini [4,5].

Perkembangan normal embrio *Limulus polyphemus* pascafertilisasi hingga tahap *premoulting* dapat dibagi menjadi stadium 1 sampai stadium 18. Sampai dengan tahap ini untuk habitat asli di daerah subtropik dapat dicapai hingga minggu pertama inkubasi [6]. Sementara itu menurut Sekiguchi [7], perkembangan embrio untuk species yang lain (*Tachypleus tridentatus*), tahapan *premoulting* pada inkubasi normal di habitat alami yang

beriklim subtropik dapat dicapai dalam waktu 23 hari.

Badan Konservasi Sumber Daya Alam (BKSDA) telah menetapkan bahwa hewan ini termasuk yang dilindungi oleh undang-undang konservasi. Hewan ini di Indonesia lebih dikenal dengan nama *Mimi-mintuno*, yang selalu dikaitkan dengan budaya Jawa, dalam hal ini adalah sebagai simbol kesetiaan terhadap pasangan hidup. Perilaku reproduksi hewan ini amat menarik, karena pasangan hewan jantan dan betina selalu terlihat bersama-sama di habitatnya selama masa reproduksi [8]. Lama periode inkubasi secara artifisial di dalam botol vial untuk embrio *Mimi-mintuno* raksasa (*Tachypleus gigas*) diamati secara eksploratif dalam penelitian ini, karena data yang ada selama ini bersumber dari penelitian di daerah subtropik [9].

Upaya untuk mengungkap fenomena tersebut, maka peneliti ingin melihat sisi perkembangan awal *Mimi-mintuno* raksasa (*Tachypleus gigas*) pada periode perkembangan telur selama inkubasi artifisial (*artificial incubation*) dalam botol vial, yang memungkinkan dapat diikuti tahap-tahapnya secara rinci. Penelitian ini dilakukan pada kondisi normal di laboratorium daerah tropik, yaitu diamati ada/tidaknya anomali perkembangan embrio dalam keadaan apa adanya tanpa perlakuan yang mengubah pola perkembangannya. Pengamatan di laboratoriu-m Zoologi, Jurusan Pendidikan Biologi FMIPA UNY.

Berdasarkan latar belakang di atas, permasalahan yang dapat dirumuskan dalam penelitian ini adalah jenis anomali apa saja yang terdapat dalam perkembangan awal embrio *Mimi-mintuno* raksasa (*Tachypleus gigas*) selama periode *artificial incubation* di dalam botol vial.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui lebih rinci jenis anomali apa saja yang terdapat dalam perkembangan awal embrio *Mimi-mintuno* raksasa (*Tachypleus gigas*) selama periode *artificial incubation* di dalam botol vial.

Hasil Penelitian diharapkan dapat memberikan gambaran jelas dan rinci jenis anomali apa saja yang terdapat dalam perkembangan awal embrio *Mimi-mintuno* raksasa (*Tachypleus gigas*) selama periode *artificial incubation* di dalam botol vial. Pendokumentasian anomali dilakukan pada tahap akhir embrionalnya, dalam hal ini ditandai dengan anakan mulai menetas (*hatching*) keluar dari selaput telur.

Metode Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah telur-telur fertil Mimi-mintuno raksasa (*Tachypleus gigas*) yang diambil dari induk dewasa dari habitat aslinya. Sampel dalam penelitian ini 200 butir telur Mimi-mintuno raksasa (*Tachypleus gigas*) yang telah difertilisasi secara *in vitro* diharapkan berkembang lebih lanjut menjadi embrio dalam botol-botol vial. Media pemeliharaan embrio adalah air laut habitat asli. Pemeliharaan dilakukan inkubasi secara artifisial hingga mencapai tahap akhir embrional. Bahan penelitian menggunakan air laut yang jernih dari habitat aslinya, formalin 4 % dan gliserin 5 % volume.

Penelitian ini bersifat eksploratif deskriptif, sehingga tidak ada perlakuan terhadap bahan penelitian. Perkembangan embrio Mimi-mintuno raksasa (*Tachypleus gigas*) diikuti dalam pola perkembangan yang apa adanya dan tahap-tahap perkembangannya didokumentasikan dalam bentuk stereo-mikrofotograf. Status perkembangan dideskripsikan dengan standard deskripsi perkembangan *Horseshoe crabs* menurut Itow [3], sebagai berikut :

- Telur-telur fertil disiapkan mulai jam ke 0 (nol). Telur-telur matang gonad diambil dari induk betina Mimi-mintuno raksasa (*Tachypleus gigas*), kemudian dilakukan fertilisasi secara *in vitro* dengan sperma yang diambil dari pejantan dewasa.
- Penginkubasian di dalam nampan plastik yang berisi media air laut jernih
- Observasi viabilitas telur yang benar-benar fertil. Telur yang fertil dan dapat berlanjut perkembangannya ditandai dengan tidak adanya perubahan pigmentasi telurnya. Telur yang tidak terbuahi akan tampak lebih putih daripada keadaan normal/fertil
- Telur-telur fertil diambil masing-masing 5 butir kemudian dimasukkan ke dalam botol-botol vial transparan. Jumlah botol yang disediakan sejumlah 50 botol dan masing-masing diisi dengan media air laut yang jernih
- Setelah sampai pada tahap perkembangan menetas, botol pertama diberi tanda, kemudian media air laut dibuang digantikan dengan larutan fiksatif berupa formalin 4 % dan gliserin sejumlah 5 % volume, hingga mencapai volume total $\frac{3}{4}$ bagian botol
- Perlakukan pada botol-botol ke dua dan seterusnya dengan prosedur yang sama seperti langkah sebelumnya, sehingga nantinya

didapatkan sampel-sampel perkembangan embrio menetas yang diinkubasi secara artifisial dalam botol vial.

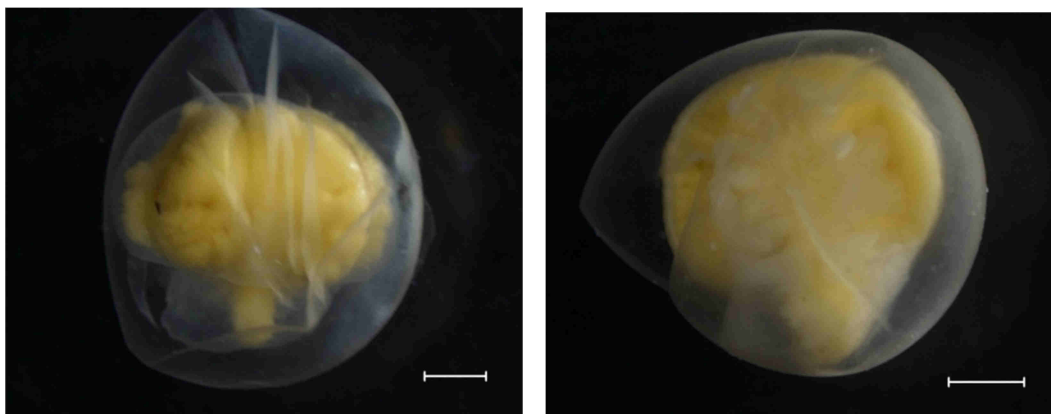
- Standard tahap-tahap perkembangan embrional Mimi-mintuno raksasa (*Tachypleus gigas*) di sini adalah dengan menggunakan referensi dari standard perkembangan normal Mimi-mintuno.
- Orientasi fokus pengamatan dalam penelitian ini adalah mendeskripsikan jenis anomali yang terdapat di antara perkembangan normal embrio.
- Hasil pengamatan didokumentasikan dalam bentuk stereo-mikrofotograf

Data yang diperoleh dari penelitian ini berupa data kualitatif-deskriptif. Deskripsi anomali berdasar pada dokumentasi foto stereo-mikrofotograf embrio Mimi-mintuno raksasa (*Tachypleus gigas*) tahap menetas.

Hasil dan Pembahasan

Identifikasi adanya anomali dilakukan dengan pengamatan morfologik pada perkembangan pasca embrio, yaitu setelah instar menetas (pada hari inkubasi ke 69 – 84). Kondisi perkembangan dengan beberapa anomali dapat dilihat di bawah ini :

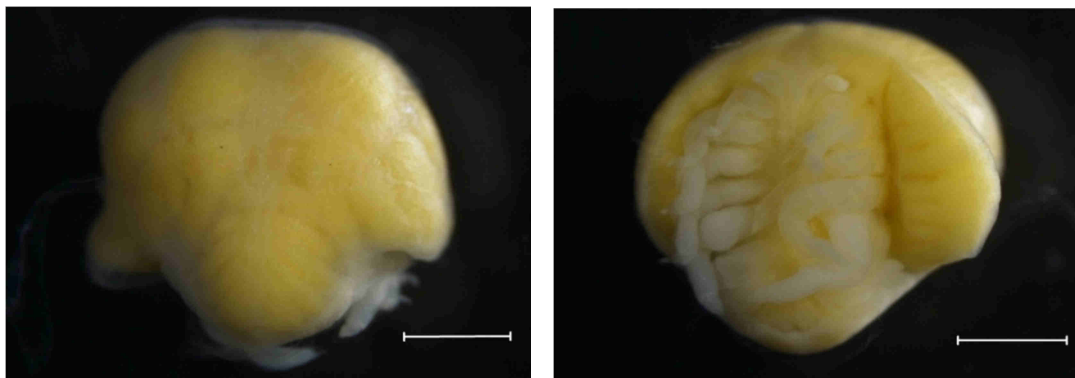
1. Embrio mengalami keterlambatan perkembangan, struktur tubuh belum sempurna (Gambar 1). Status perkembangan embrio pada waktu yang seharusnya telah menetas semestinya sudah memperlihatkan kelengkapan struktur anakan Mimi-Mintuno muda yang sempurna. Pada hasil pengamatan, ditemukan status perkembangan yang masih terlalu dini untuk kesiapan menetas, dan ini terjadi karena keterlambatan perkembangan embrio.
2. Embrio menetas, selaput telur sudah membuka namun mengalami keterlambatan perkembangan, struktur tubuh belum sempurna. Status perkembangan embrio pada waktu yang seharusnya telah menetas semestinya sudah memperlihatkan kelengkapan struktur anakan Mimi-Mintuno muda yang sempurna. Pada hasil pengamatan, ditemukan status perkembangan masih terlalu dini untuk kesiapan menetas, meskipun membran vitellina pembungkus embrio telah terlarut sehingga embrio terbuka, dan ini dimungkinkan oleh adanya keterlambatan perkembangan embrio (Gambar 2).



A

B

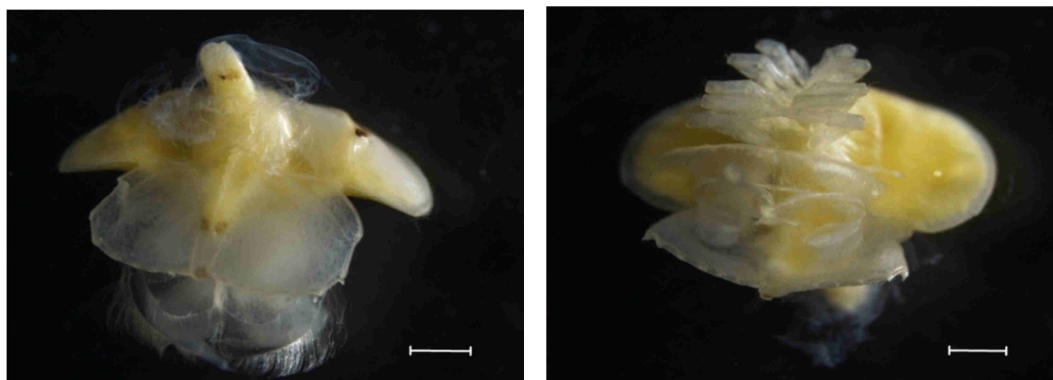
Gambar 1. Morfologi embrio pada hari ke 69, embrio belum menetas. Tampak terjadi keterlambatan perkembangan dengan ditandai masih bertahannya selaput atau membran perivitellina telur. Gambaran struktur tubuh belum sempurna. (A. Tampak Dorsal, B. Tampak Ventral. Skala garis = 1mm)



A

B

Gambar 2. Morfologi embrio pada hari ke 76, embrio belum menetas. Tampak terjadi keterlambatan perkembangan ditandai dengan struktur tubuh yang belum sempurna bentukannya pada usia inkubasi ini. Selaput atau membran perivitellina telur sudah larut atau terlepas ke media air inkubasi. (A. Tampak Dorsal, B. Tampak Ventral. Skala garis = 1mm)



A

B

Gambar 3. Morfologi embrio pada hari ke 84, embrio sudah menetas. Tampak selaput atau membran perivitellina telur sudah terbuka sepenuhnya. Gambaran struktur tubuh sudah sempurna, namun terdapat anomali pada bagian dorsal karapaks yaitu berupa tonjolan abnormal. (A. Tampak Dorsal, B. Tampak Ventral. Skala garis = 1mm)

- Embrio menetas, struktur tubuh ada kelainan morfologik. Terdapat tonjolan abnormal pada bagian dorsal karapaks (Gambar 3).

Adanya anomali morfologik maupun struktur internal embrio (instar) sangat menentukan kelolos-hidupan pada saat nantinya akan menjadi anakan *Mimi-mintuno* muda. Perkembangan dalam keadaan tanpa perlakuan dengan zat-zat yang mempengaruhi perkembangan embrio pun ternyata memungkinkan terjadinya anomali pada kasus-kasus tertentu seperti pada paparan di atas. Anomali dapat terjadi oleh adanya kualitas perairan, salinitas, kandungan logam berat, terutama Cu dan Zn dan sebagainya. Kelolos-hidupan pasca menetas sangat ditentukan oleh kualitas perkembangan tahap embrional sebelumnya, sehingga kemampuan hidup anakan muda *Mimi-mintuno* berikutnya akan sangat dipengaruhi [10].

Pengaruh jangka pendek dan jangka panjang dari tembaga (Cu) dan seng (Zn) pada embrio dan larva instar pertama *Limulus polyphemus* dari dua muara sungai di New Jersey, Delaware Bay dan Sandy Hook Bay yang terkena konsentrasi dari 0,01 sampai 1.000 mg/L selama 24 jam, 48 jam, 72 jam, menunjukkan toleransi yang lebih besar dari Cu dan Zn dari embrio. Embrio dan larva mampu bertahan hingga konsentrasi 100 mg/L Cu atau Zn. Kemampuan embrio dan larva untuk bertahan hidup dengan logam berat menyiratkan potensi kontaminan ini untuk diteruskan kepada organisme tertentu seperti burung pantai dan predator lainnya [11].

Anomali yang diidentifikasi antara lain terdapat individu-individu yang mengalami retardasi perkembangan, ditandai status stadium perkembangan yang sudah seharusnya menetas namun pada instar yang bersangkutan belum kelihatan tanda-tanda akan menetas. Menetas dalam hal ini ditandai dengan mulai pecahnya selaput transparan telur (peri vitellina) dan keluar instar kecil yang telah lengkap morfologinya. Anomali diamati pada tahap akhir inkubasi hingga tanda-tanda menetas muncul.

Seperti yang dikemukakan oleh Itow [12], bahwa kelainan perkembangan pada embrio *Mimi-mintuno* bisa disebabkan oleh paparan logam berat. Embrio pada tahapan yang berbeda terkena baik terus menerus atau selama 24 jam menyebabkan terjadinya kelainan termasuk cacat segmen struktur tubuh embrio, embrio ganda,

embrio dengan perkembangan daerah mata tidak normal, dan tidak ada mata posterior embrio. Dalam hal kemampuan untuk mempengaruhi perkembangan, peringkat pengaruhnya adalah sebagai berikut: Hg > Organotin > Cr > Cd > Cu > Pb > Zn.

Bentuk anomali yang lain tidak ditemukan dalam penelitian, namun menurut Chen [13] disebutkan bahwa anomali dapat berupa telson yang spiral atau pendek, cekung parsial bagian batas tepi prosoma, dan degradasi pada salah satu mata. Anomali yang teramati pada penelitian ini tidak dapat dikaitkan dengan adanya mutasi genetik atau penyakit, karena semua gejala yang diamati hanya dalam masa perkembangan tahap instar.

Salinitas air laut berpengaruh terhadap pertumbuhan *Tachypleus gigas*, pada salinitas 40 permil terjadi pertumbuhan yang lebih tinggi ($P > 0,05$), namun tidak mempengaruhi terjadinya anomali struktur tubuh embrio [14]. Sementara itu menurut Faizul [15] disebutkan bahwa pengairan dengan salinitas 23 - 25% dan pemeliharaan dalam pasir basah tertentu terhadap induk *Tachypleus gigas* berpengaruh terhadap besar telur yang dihasilkan induk-induk betina ($P < 0,05$).

Simpulan

Bentuk-bentuk anomali embrio *Tachypleus gigas* selama inkubasi secara *artificial* dalam botol vial di antaranya mengalami keterlambatan perkembangan, struktur tubuh belum sempurna. Embrio ada yang sudah menetas, cangkang terbuka dan selaput *perivitelline* telur juga sudah membuka namun mengalami keterlambatan perkembangan, struktur tubuh belum sempurna. Ada embrio yang sudah menetas sempurna, struktur tubuh memiliki kelainan morfologik yaitu terdapat tonjolan tidak normal pada bagian karapaks bagian dorsal.

Ucapan Terima Kasih

Peneliti pada kesempatan ini mengucapkan terimakasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada segenap jajaran Dekanat FMIPA UNY dan pihak penyandang dana DIPA UNY Tahun 2014, atas segenap upayanya sehingga penelitian ini dapat terdani. Harapan peneliti semoga penelitian ini hasilnya dapat bermanfaat bagi kita sekalian.

Pustaka

- [1]. Botton ML, Johnson K, Helleby L. (1998). *Effects of copper and zinc on embryos and larvae of the horseshoe crab, Limulus polyphemus*. Arch Environ Contam Toxicol. 1998 Jul;35(1):25-32.
- [2]. Chatterji A., S. Kotnala and R. Mathew. (2004). *Effect of salinity on larval growth of horseshoe crab, Tachypleus gigas* (Müller), Current Science, Vol. 87, No. 2, 25 July 2004.
- [3]. Chen, Yan, C. W. Lau, S. G. Cheung, C. H. Ke, Paul K. S. Shin. (2010). *Enhanced growth of juvenile Tachypleus tridentatus (Chelicerata: Xiphosura) in the laboratory: a step towards population restocking for conservation of the species*. AQUATIC BIOLOGY. Published online November 10. Vol. 11: 37–46, 2010.
- [4]. Ciptono (2006). Identifikasi Tahap-tahap Embrional Premoulting 'Horse-shoe Crab' (*Limulus polyphemus*) Menurut Pola Perkembangan Normal. *Laporan Penelitian*. FMIPA UNY.
- [5]. Faizul M.I.M., M.M. Faizal, A. Christianus and S.M.N. Amin. (2013). Incubation and Hatching of *Tachypleus gigas* (Muller, 1785) Eggs in Sand and Water Media. Asian Journal of Animal and Veterinary Advances, 8:333-340.
<http://scialert.net/abstract/?doi=ajava.2013.33.340>
- [6]. Itow, T. (1986). Inhibitors of DNA synthesis change the differentiation of body segments and increase the segment number of horseshoe crab embryos (Chelicerata, Arthropoda). *Roux's Arch. Dev. Biol.* 195 : 323-333.
- [7]. ----- (1988). *Biology of horseshoe crabs. Treatments with chemical reagents*. Edited by Sekiguchi, K. Science House Co., Ltd. Tokyo.
- [8]. ----- (1997). The pollution of coastal waters and malformations of horseshoe crab embryos. *Natural Sciences Series* No. 48. Shizuoka Univ. Press.
- [9]. Itow, T., Kenmochi, S., and Mochizuki. (1991). Induction of secondary embryos by intra and interspecific grafts of center cells under the blastopore in horseshoe crabs. *Develop. Growth & Differ.*, 33 (3). 251-258.
- [10]. Itow, T., Nozawa, S., Igarashi, T., and Okamura, M. (1996). Embryonic center cells of Arthropoda induce secondary embryos in Vertebrata. *Natural Sciences Series* No. 47. Shizuoka Univ. Press.
- [11]. Itow T , Loveland RE, Botton ML. (1998). *Developmental abnormalities in horseshoe crab embryos caused by exposure to heavy metals*. Arch Environ Contam Toxicol. 1998 Jul;35(1):33-40.
- [12]. Itow, T., Igarashi, T., Botton, M.L., and Loveland, R.E. (1998). Heavy metals inhibit limb regeneration in horseshoe crab larvae. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 35 : 457-463.
- [13]. Itow, T., Kato, H., and Kato, K. (2003). Horseshoe crabs in Australia. *Natural Sciences Series* No. 53. Shizuoka Univ. Press.
- [14]. Laurie, Kevin., (2013). *Understanding Horseshoe Crab Palaeoecology*. Fossil CSI. Thursday, January 3, 2013. City University, Hongkong.
- [15]. Pechenik, JA. (2010). *Biology of the Invertebrates*. Sixth Edition. Mc-Graw Hill Higher Education, New York
- [16]. Sekiguchi, K. (1973). A normal plate of the development of the Japanese horseshoe crab : *Tachypleus tridentatus*. *Sci. Rep. Tokyo Kyoiku Daigaku, B*. Vol 15 (229) : 152-162.