

KALSIFIKASI SKELETON AKSIAL PADA REGENERAT EKOR KADAL (*Mabouya multifasciata* Kuhl)

M. J. Luthfi¹, Nyoman Puniawati Soesilo¹ dan Mammed Sagi¹

INTISARI

Luthfi, M. J., N. P. Soesilo¹ dan M. Sagi¹. 2003. Kalsifikasi Skeleton Aksial Pada Regenerat Ekor Kadal (*Mabouya multifasciata* Kuhl). *Biologi 3* (1) : 1 - 8.

Kadal (*Mabouya multifasciata* Kuhl) merupakan salah satu anggota Lacertilia yang terdapat di Indonesia yang dapat mengalami regenerasi setelah hewan tersebut mengalami autotomi ekor. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kalsifikasi yang terjadi pada skeleton aksial regenerat ekor kadal.

Empat puluh delapan ekor kadal jantan dewasa berekor asli diautotomi ekornya, dipelihara, dan dibagi menjadi 4 kelompok yang terdiri dari 12 individu (kelompok I, kelompok II, kelompok III, kelompok IV), masing-masing kelompok berturut-turut mempunyai umur regenerat 4, 5, 6, dan 12 minggu. Setelah itu dibuat preparat utuh regenerat ekor dengan pewarnaan *Alizarin Red S-Alcian Blue* dan preparat irisan melintang regenerat ekor dengan pewarnaan perak nitrat von Kossa.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penulangan secara endokondralis diawali dengan kalsifikasi pada sebagian sisi dalam dan sebagian sisi luar tabung tulang rawan regenerat ekor umur 5 minggu. Pada regenerat ekor berumur 6 dan 12 minggu kalsifikasi sudah meluas ke seluruh sisi dalam dan sisi luar tabung tulang rawan.

Kata kunci : kalsifikasi, skeleton aksial, regenerat ekor, kadal

ABSTRACT

Luthfi, M.J., N.P. Soesilo and M. Sagi. 2003. *Calcification of Axial Skeleton in Regenerated Tail of Lizards (Mabouya multifasciata Kuhl)*. *Biologi 3* (1) : 1 - 8.

Mabouya multifasciata Kuhl is one of the Lacertilians which is able to regenerate its tail after autotomy. Regenerated tail differs from the original one in the absence of vertebral column. Its vertebral column is replaced by an unsegmented cartilaginous tube. The aim of this research was to study the calcification occurred in cartilaginous tube of regenerated tail.

¹ Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada

Fourty eight adult lizards were autotomized, maintained, then divided into 4 groups of twelve individuals (group I, II, III, IV), each group with regenerated tails of 4, 5, 6, 12 week-old, respectively. To study the calcification of the cartilaginous tube, the whole regenerated tails were excised by local anaesthesia. The whole regenerated tails were fixed in 95% ethanol, stained with Alizarin Red S- Alcian Blue. For histological preparation the cross sections of regenerated tails were stained with silver nitrate.

The results of the study revealed that endochondral ossification was started by calcification in some parts of inner and outer peripheral region of cartilaginous tube in the regenerated tail of 5 weeks. The calcification expanded to the entire of two peripheral regions of cartilaginous tube in the regenerated tail after 6 and 12 weeks.

Keywords : calcification, axial skeleton, regenerated tail, lizard

PENDAHULUAN

Setiap organisme mempunyai cara tertentu untuk menghindarkan diri dari musuhnya. Pada beberapa anggota *Lacertilia* cara perlindungan diri tersebut adalah dengan autotomi ekor, yaitu putusnya ekor pada tempat-tempat tertentu di sepanjang ekor yang disebut dataran autotomi. Autotomi ekor terjadi apabila hewan dikejar atau ekornya ditangkap (Young, 1989). Bagian ekor yang terlepas akan bergerak-gerak beberapa saat, sehingga menarik perhatian predator, sementara hewan yang bersangkutan melarikan diri (Bustard, 1968). Setelah peristiwa autotomi ekor, akan terjadi proses regenerasi sehingga tumbuh ekor baru yang bentuk dan ukurannya hampir sama dengan ekor semula (White, 1925). Menurut Balinsky (1976), perbedaan ekor asli dengan ekor hasil regenerasi terletak pada struktur vertebra, jaringan syaraf, dan kulit.

Ekor anggota *Lacertilia* tersusun dari

deretan ruas tulang belakang (vertebrae caudales), *medulla spinalis* yang terletak dalam *canalis vertebralis*, jaringan lemak *perivertebral*, lapisan otot, pembuluh darah, serabut saraf dan kulit beserta sisik (White, 1925 ; Soesilo, 1999).

Penelitian yang dilakukan pada *Anolis carolinensis* (Kamrin dan Singer, 1955 cit. Soesilo, 1999), kadal (Soesilo, 1982), dan pada beberapa *Lacertilia* lainnya menunjukkan bahwa regenerat ekor tidak disokong oleh deretan vertebra yang memiliki dataran retakan seperti halnya ekor asli, melainkan oleh bangunan berbentuk tabung memanjang tidak segmental dan tersusun dari tulang rawan. Penelitian yang dilakukan oleh Woodland (1920) pada *Hemidactylus flaviviridis*, serta Alibardi dan Sala (1982) pada *Lacerta sicula* menunjukkan adanya kalsifikasi pada bagian sisi dalam dan sisi luar tabung tulang rawan penyokong regenerat ekor.

Keadaan seperti ini tidak dijumpai pada *Mabouya dissimilis* (Sibtain, 1938). Pada regenerat yang telah matang, kemungkinan tabung tulang rawan ini akan mengalami perubahan menjadi tulang (Soesilo, 1982; Bellairs dan Bryant, 1985).

Sebagian besar penelitian tentang autotomi dan regenerasi lebih menitik-beratkan pada proses regenerasi dan peranan sistem saraf pada proses regenerasi tersebut. Penelitian yang dilakukan oleh Werner (1967) tentang regenerasi skeleton aksial pada regenerat ekor *Hemidactylus* hanya terbatas pada periode laten saja, yaitu periode sebelum terjadinya pemanjangan ekor secara nyata pada proses regenerasi ekor. Sampai saat ini belum banyak penelitian tentang struktur regenerat ekor yang telah matang regenerasi (Bellairs dan Bryant, 1985).

Kadal (*Mabouya multifasciata* Kuhl) merupakan salah satu anggota *Lacertilia* yang mempunyai kemampuan autotomi dan regenerasi ekor, sehingga sangat menarik untuk diteliti apakah tabung tulang rawan pada regenerat ekor kadal akan mengalami kalsifikasi dan regenerat umur berapa mulai terjadi kalsifikasi tersebut.

BAHAN DAN CARA KERJA

Empat puluh delapan kadal jantan dewasa berekor asli ekornya diautotomi, dipelihara, dan dikelompokkan menjadi 4 kelompok sesuai lama waktu pemeliharaan sebagai berikut : kelompok I terdiri dari 12 kadal dengan regenerat ekor berumur 4 minggu, kelompok II terdiri dari 12 kadal dengan regenerat ekor berumur 5 minggu, kelompok III terdiri dari 12 kadal dengan regenerat ekor berumur 6 minggu, kelompok IV terdiri dari 12 kadal dengan regenerat ekor berumur 12 minggu. Untuk mengetahui penulangan yang terjadi pada skeleton aksial dilakukan pembuatan preparat utuh regenerat ekor dengan pewarnaan *Alizarin Red S-Alcian Blue* (Inouye, 1976) dan preparat irisan melintang regenerat ekor menggunakan metode parafin pewarnaan perak nitrat von Kossa (Sheehan dan Hrapchak, 1980). Untuk setiap metode pewarnaan, masing-masing kelompok diambil 6 ekor.

Ada tidaknya penulangan pada skeleton aksial diamati secara makroskopik pada preparat utuh regenerat ekor yang diwarnai dengan *Alizarin Red S-Alcian Blue* metode Inouye. Dengan pewarnaan ini tulang akan berwarna merah dan tulang rawan berwarna biru. Ada tidaknya kalsium pada skeleton aksial regenerat ekor diamati secara mikroskopik dari gambaran histokimiawinya. Dengan pewarnaan perak nitrat metode von

Kossa kalsium tampak sebagai endapan hitam.

Data hasil pengamatan secara makroskopik dan mikroskopik tersebut dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kalsifikasi skeleton aksial regenerat ekor kadal

Pengamatan secara makroskopik

Pada preparat utuh regenerat ekor berumur 4 minggu terlihat bahwa seluruh skeleton regenerat ekor berwarna biru (Gambar 1.A.). Hal ini menunjukkan bahwa skeleton regenerat ekor tersebut berupa tulang rawan yang belum mengalami penulangan. Tabung tulang rawan ini merupakan skeleton aksial pengganti vertebra pada regenerat ekor. Bagian anterior dari tabung tulang rawan melekat pada vertebra dari ekor asli yang tersisa. Deretan vertebra pada ekor asli tersusun dari tulang, sehingga terpulas merah dengan pewarnaan *Alizarin Red S* – *Alcian Blue* (Gambar 1.A.).

Pada preparat utuh regenerat ekor berumur 5 minggu tampak bahwa skeleton berwarna biru-kemerahan pada bagian anterior (Gambar 1.B). Adanya warna merah tersebut menunjukkan bahwa proses penulangan sudah mulai terjadi pada skeleton aksial regenerat ekor berumur 5 minggu. Bagian lain dari skeleton tersebut terpulas biru, dan keadaan ini menunjukkan bagian tersebut

belum mengalami penulangan. Berbeda dengan hasil pengamatan tersebut, Bellairs dan Bryant (1985) berpendapat bahwa kalsifikasi atau osifikasi kemungkinan akan terjadi pada regenerat yang telah matang regenerasi. Menurut Kiernan (1981) warna merah dari pewarnaan dengan *Alizarin Red S* dihasilkan dari ikatan zat warna tersebut dengan ion kalsium. Oleh karena itu warna merah (Gambar 1.B.) merupakan daerah terjadinya kalsifikasi pada tabung tulang rawan regenerat ekor. Penulangan secara endrokondalis diawali dengan terjadinya kalsifikasi pada jaringan tulang rawan (Bloom dan Fawcett, 1978).

Pada preparat utuh regenerat ekor berumur 6 minggu (Gambar 1.C.) warna merah pada skeleton sudah menyeluruh, berarti seluruh bagian skeleton sudah mengalami penulangan. Hal serupa juga terlihat pada skeleton regenerat ekor umur 12 minggu (Gambar 1.D.). Perbedaannya adalah pada intensitas warnanya. Skeleton pada regenerat ekor berumur 6 minggu berwarna merah muda, sedangkan pada regenerat ekor berumur 12 minggu berwarna merah tua.

Tetri (2001) menyatakan bahwa komponen tulang dianggap telah mengalami penulangan secara sempurna apabila intensitas warna yang dihasilkan *Alizarin Red S* relatif tinggi (berwarna merah), sebaliknya penulangan dianggap kurang sempurna jika warna yang dihasilkan lebih terang (muda).

Pengamatan secara mikroskopik

Pengamatan secara mikroskopik dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya kalsium pada tabung tulang rawan penyokong regenerat ekor kadal. Adanya deposit kalsium ini dapat diketahui secara tidak langsung dengan teknik histokimia yaitu dengan menggunakan pewarnaan perak nitrat von Kossa. Teknik ini sesungguhnya digunakan untuk mendeteksi fosfat dan karbonat. Karena hampir semua fosfat dan karbonat dalam jaringan hewan merupakan anion dari garam-garam kalsium, metode ini secara praktis dipakai untuk mendeteksi adanya kalsium (Sheehan dan Hrapchak, 1980). Pada prinsipnya teknik ini adalah reaksi penggantian ikatan garam kalsium (kalsium fosfat dan kalsium karbonat) pada matriks tulang rawan menjadi ikatan garam-garam perak. Garam-garam perak oleh sinar matahari akan tereduksi menjadi endapan perak yang berwarna hitam.

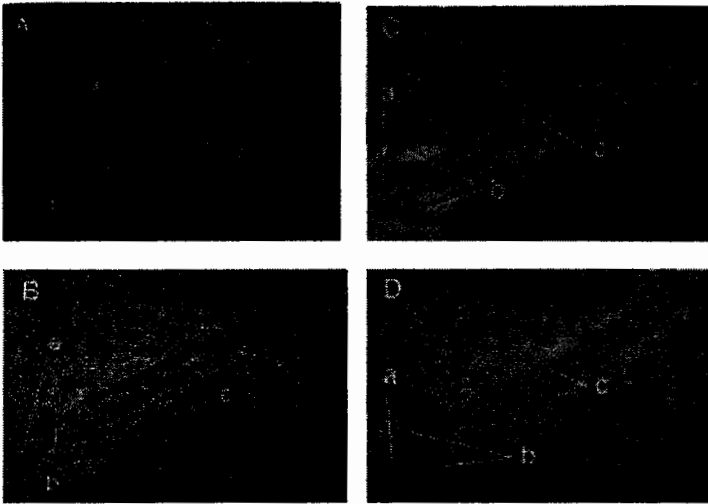
Pengamatan pada irisan melintang regenerat ekor berumur 4 minggu dengan pewarnaan perak nitrat tidak menunjukkan adanya endapan hitam pada tabung tulang rawan (Gambar 2.A.). Hal ini menunjukkan pada tabung tulang rawan regenerat ekor berumur 4 minggu belum terjadi kalsifikasi, dan keadaan ini sesuai dengan hasil pengamatan secara makroskopik pada Gambar 1.A.

Pada pengamatan irisan tabung

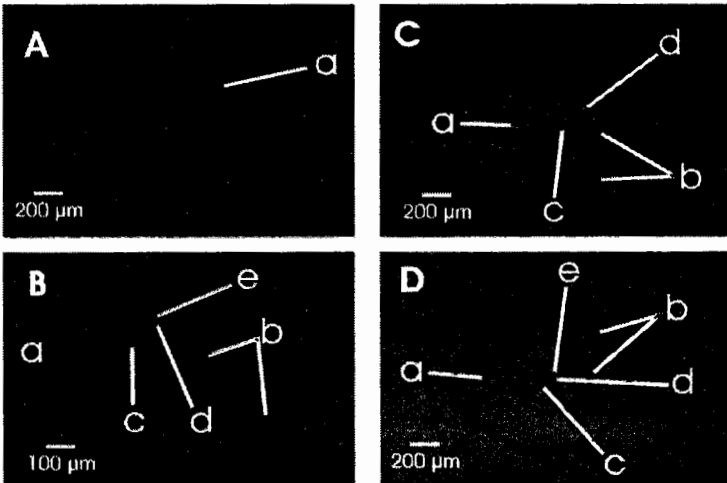
tulang rawan regenerat ekor berumur 5 minggu dengan pewarnaan perak nitrat terdapat endapan hitam pada daerah sisi luar dan sisi dalam. Endapan hitam pada daerah sisi luar lebih luas daripada endapan pada daerah sisi dalam (Gambar 2.B.). Hal ini menunjukkan bahwa proses kalsifikasi diawali dengan penimbunan garam-garam kalsium pada sebagian daerah sisi luar dan sebagian daerah sisi dalam dari tabung tulang rawan regenerat ekor tersebut. Keadaan ini sesuai dengan hasil pengamatan secara makroskopik pada Gambar 1.B.

Pada regenerat ekor berumur 6 minggu garam-garam kalsium sudah meluas ke seluruh sisi luar dan sisi dalam dari tabung tulang rawan, yang tampak sebagai warna hitam (Gambar 2.C.). Pada preparat irisan regenerat ekor berumur 12 minggu, endapan hitam terlihat lebih padat (Gambar 2.D.) dibandingkan dengan endapan hitam pada tabung tulang rawan regenerat ekor umur 6 minggu (Gambar 2.C.). Dengan demikian dapat dikatakan bahwa proses kalsifikasi yang terjadi pada tabung tulang rawan regenerat ekor berumur 12 minggu lebih sempurna dibandingkan kalsifikasi pada umur regenerat sebelum 6 minggu. Keadaan ini sesuai dengan hasil pengamatan secara makroskopik pada Gambar 1.C. dan 1.D.

Dari penelitian ini dapat dikatakan bahwa penulangan pada tabung tulang



Gambar 1. Preparat utuh regenerat ekor kadal.. A. Regenerat ekor berumur 4 minggu B.Regenerat ekor berumur 5 minggu.C. Regenerat ekor berumur 6 minggu D. Regenerat ekor berumur 12 minggu. a.vertebrae caudales ; b. prosesus vertebra ; c.skeleton aksial regenerat ekor (Pewarnaan *Alizarin Red-S-Alcian Blue*, perbesaran lensa 6 X)



Gambar 2. Irisan melintang bagian proksimal regenerat ekor umur : 4 minggu (A), 5 minggu (B), 6 minggu (C), 12 minggu (D). a. sel-sel tulang rawan pada tabung tulang rawan regenerat ekor ; b. kalsium ; c. *meninges* ; d. sel-sel ependima ; e. *canalis centralis*.

rawan regenerat ekor kadal dimulai dengan kalsifikasi skeleton aksial pada regenerat ekor berumur 5 minggu. Kalsifikasi ini terjadi pada tabung tulang rawan bagian anterior, pada sebagian daerah sisi dalam dan sisi luar tabung tersebut. Pada tabung tulang rawan regenerat ekor berumur 6 minggu, kalsifikasi meluas ke seluruh keliling sisi dalam dan sisi luar serta ke arah distal tabung tulang rawan regenerat ekor. Pada regenerat ekor berumur 12 minggu kalsifikasi yang terjadi pada daerah sisi dalam dan sisi luar tabung tulang rawan semakin banyak dan sudah meluas di sepanjang sumbu antero-posterior.

Hasil ini sesuai dengan penelitian Woodland (1920) pada *Hemidactylus flaviviridis* serta Alibardi dan Sala (1981) pada *Lacerta sicula* yang menemukan adanya kalsifikasi pada bagian sisi luar dan sisi dalam tabung tulang rawan regenerat ekor. Namun demikian pada penelitian Woodland tersebut tidak diketahui umur regenerat ekor karena sampel diambil langsung dari alam, sedangkan pada penelitian Alibardi dan Sala (1981) umur regenerat ekor adalah 4 bulan. Sibtain (1938) menyatakan bahwa pada *Mabuya dissimilis* tidak terlihat adanya perbedaan antara daerah sisi luar, sisi dalam maupun daerah diantaranya, serta tidak dijelaskan apakah seluruh bagian terkalsifikasi ataukah seluruh bagian tidak terkalsifikasi.

PUSTAKA ACUAN

- Alibardi, L. and M. Sala, 1981. Indagini Istochimiche sulla Struttura della Cartilagine Rigenerata nella Coda di *Lacerta sicula*. *Arch. Ital. Anat. Embriol.* 86 : 163-178.
- Balinsky, B.I. 1976. *An Introduction to Embryology*. 4th ed. W. B Saunders Company .London.
- Bellairs, A. d'A. and S.V. Bryant, 1985. Autotomy and Regeneration in Reptiles. In Gans, C., and F. Billet (editors). *Biology of the Reptilia. Vol. 15 Development B.*, Academic Press, London.
- Bloom, W. and D. W. Fawcett. 1978. *A Textbook of Histology*. 10th ed. W.B. Saunders Company. Philadelphia.
- Bustard, H.R. 1968. Temperature Dependent Tail Autotomi Mechanism in Geckkonid Lizard. *Herpetologica* 24 : 127-130.
- Inouye, M. 1976. Differential Staining of Cartilago and Bone in Fetal Mouse Skeleton by Alcian Blue and Alizarin Red S. *Congenital Anomalies* 161 (3) : 171-173
- Kiernan, J.A. 1981. *Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice*. Pergamon Press. England.

- Sheehan, D.C. and B.B. Hrapchak. 1980. *Teory & Practice of Histotechnology*. 2th ed. Battelle Press. Ohio.
- Sibtain, S. M. 1938. Studies on the Caudal Autotomy and Regeneration in *Mabouya dissimilis* Hallowell. *Proc. Indian Academic of Sciences*. 8 : 63-78.
- Soesilo, N.P. 1982. *Regenerasi Ekor Kadal (Mabouya multifasciata Kuhl) Setelah Mengalami Autotomi*. Thesis S-2. Universitas Gadjah Mada (Tidak Dipublikasikan).
- Soesilo, N. P. 1999. Peranan Lapisan Ependima dalam Regenerasi Ekor Kadal (*Mabouya multifasciata* Kuhl). *Biologi* 2. (8) : 419- 450.
- Tetri, W. 2001. *Pengaruh Aflatoksin B1 terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Embrio dan Skeloton Fetus Mencit (Mus musculus L.)*. Thesis S-2. Universitas Gadjah Mada (Tidak Dipublikasikan)
- Werner, Y.L. 1967a. Regeneration of the Caudal Axial Skeleton in a Gekkonid Lizard (*Hemidactylus*) with Particular Reference to the "Latent " Periode *Acta . Zool. Stockn.* 48 : 1-23
- White, C. P. 1925. Regeneration of the Lizard's Tail. *Journal of Pathology and Bacteriology*. 28 : 63-68.
- Woodland, W. N. F. 1920. Some Observations on Caudal Autotomy and Regeneration In Gecko (*Hemidactylus flaviviridis* Ruppel), with Notes on the Tails of *Sphenodon* and *Pygopus*. *Quaterly Journal of Microscopical Science*. 65 : 63-100.
- Young, J.Z. 1989. *The Life of Vertebrates*. 3th ed. Oxford University Press. Oxford.