

Full Paper

PENGARUH SALINITAS DAN KONDISI FERTILISASI TERHADAP PERSENTASE LARVA NORMAL PADA KERANG BAKAU *Polymesoda erosa* SOLANDER (1786)

THE EFFECTS OF SALINITY AND FERTILIZATION ON THE PERCENTAGE OF NORMAL LARVAE OF THE MANGROVE CLAM *Polymesoda erosa* SOLANDER (1786)

Ricky Gimin^{*)}

Abstract

The mangrove clam (*Polymesoda erosa*) is edible bivalve and one of potential candidate for aquaculture. Availability of its hatchery technique is important for development of its aquaculture. The objective of this study was to determine the optimum salinity and fertilization factors for the production of normal larvae. Fertilized eggs at density of 10 eggs/ml were incubated under seven salinities, *i.e.*, 0, 5, 10, 15, 20, 25 and 30 ppt at room temperature (26±1°C). The highest percentage of 48 hr normal D-larvae occurred at 20 ppt. The percentage dropped significantly if salinity was below 10 ppt or more than 25 ppt. In other experiments to develop fertilization protocols for this species, the effects of spermatozoa-to-ovocyte ratio, age of gametes, and stocking density of eggs were assessed individually to determine the optimum ratio, age and density for the highest percentage of normal D-larvae. Ten sperms-to-egg ratios, *i.e.*, 5, 10, 50, 10², 5x10², 10³, 5x10³, 10⁴, 5x10⁴ and 10⁵ at density of 10 eggs/ml, were tested. The highest percentage of normal D-larvae occurred within the range of 5x10² to 5x10³ sperms per egg. Significantly low percentages were obtained at treatments below 100 or more than 10⁴ sperms per egg. In the experiment of gamete age, sperms and eggs were mixed for fertilization at different times, *i.e.*, 30 minutes, 45 minutes, 60 minutes, 120 minutes and 180 minutes, after spawning. Freshly spawned sperms and eggs of less than 60 minutes gave the best percentage. When the fertilized eggs were incubated at different densities, *i.e.*, 10, 20, 30, 40, 50, 100 and 200 eggs/ml, the densities up to 50 eggs/ml gave maximum results.

Keywords: *Polymesoda erosa*, salinity, fertilization, D-larvae

Pengantar

Kerang bakau (*Polymesoda (Geloina) erosa*, Bivalvia: Corbiculidae) merupakan bivalvia berukuran relatif besar (panjang cangkang mencapai 11 cm) yang merupakan pangan penting bagi masyarakat pesisir yang menghuni daerah pantai berbakau (Morton, 1988). Di Australia Utara, kerang ini merupakan sumber protein utama bagi masyarakat Aborigin, terutama pada musim kemarau (Meehan, 1982). Di Papua, kerang ini dikenal dengan nama *kawe* atau

omapoko, merupakan makanan yang cukup populer (S.A.P. Dwiono, *pers. Com*). Di bagian Indonesia lainnya, seperti di Segara Anakan-Cilacap, kerang ini dikenal dengan nama kerang totok.

Sebagai akibat dari meluasnya kerusakan hutan bakau, populasi kerang ini juga terancam (Morton, 1988). Di Australia Utara, adanya pemanfaatan berlebihan oleh masyarakat asli setempat membuat populasi kerang bakau menurun drastis bahkan, pada situs tertentu, tidak ditemukan lagi (Ray Hall, *pers. Com*).

^{*)} Jurusan Perikanan dan Kelautan, Universitas Nusa Cendana, Kampus Baru Undana Jln Adisucipto-Penfui, Kotak Pos 1212, Kupang-NTT, 85001

^{*)} Penulis untuk korespondensi: E-mail: rgimin@hotmail.com

Untuk itu, dalam beberapa tahun terakhir ini telah dilakukan studi biologis dan ekologis dalam rangka pengelolaan sumberdaya (Gimin, 2004). Di Papua, studi serupa telah dilakukan oleh tim peneliti dari LIPI (S.A.P. Dwiono *pers. Com*). Selain penelitian bio-ekologis, sedang dilakukan pula upaya pengembangan teknologi *hatchery* yang diharapkan dapat menghasilkan *spat* (anakan) untuk program pemulihan (*reseeding*) di daerah bakau yang populasi kerangnya terancam.

Pengetahuan tentang faktor-faktor lingkungan dan kondisi fertilisasi yang dibutuhkan selama awal daur hidup merupakan prasyarat bagi keberhasilan dalam menghasilkan larva yang normal, mampu bertahan dan tumbuh dengan baik (Gruffydd & Beaumont, 1970). Untuk kerang bakau, belum ada informasi tentang kebutuhan lingkungan selama tahapan awal daur hidupnya. Informasi yang tersedia baru pada tahap memijahkan dan mengkondisikan induk (Gimin, 2002; 2004). Hasil pengamatan di habitatnya memperlihatkan bahwa kerang ini bersifat eurihalin karena dapat ditemukan pada tempat-tempat bersalinitas 0 hingga 30 ppt. Sedangkan di laboratorium kerang ini mampu bertahan hingga 42 ppt (Gimin, 2004). Akan tetapi, belum diketahui apakah selama tahap embryo dan larva, kerang ini juga memiliki toleransi salinitas yang luas. Pengalaman memijahkan kerang ini memperlihatkan bahwa induk-induk yang dirangsang seringkali tidak memijah secara sinkron baik antar individu maupun antar sex (Gimin, 2002) dan hal tersebut sering terjadi pada *hatchery* bivalvia lainnya (Loosanoff & Davis, 1963; Dos Santos & Nascimento, 1985; O'Connor & Heasman, 1995; Heasman *et al.*, 1996). Akibatnya, gamet dari salah satu jenis kelamin harus menunggu lama baru dapat dicampurkan dengan gamet dari jenis kelamin lainnya. Demikian pula, dalam tangki pemijahan yang umumnya berukuran kecil (< 10 l), gamet (spermatozoa dan telur) yang dipijahkan seringkali terlalu pekat. Kondisi-kondisi

seperti ini mempengaruhi proses fertilisasi dalam menghasilkan larva yang normal (Gruffydd & Beaumont, 1970; Helm & Millican, 1977; Hahn, 1989; Clotteau & Dubé, 1993; O'Connor & Heasman, 1995; Heasman *et al.*, 1996; Clavier, 1992; Encena *et al.*, 1998; Narvarte & Pascual, 2003).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui salinitas dan kondisi fertilisasi yang optimal dalam menghasilkan larva *P. erosa*. Untuk proses fertilisasi, faktor-faktor yang diamati meliputi rasio spermatozoa terhadap telur, usia gamet dan kepadatan embrionik yang akan berguna dalam mengembangkan protokol pembenihan bagi kerang ini.

Bahan dan Metode

Kerang bakau dewasa (panjang cangkang 65-85 mm) diperoleh dari hutan mangrove di Maningrida, Australia Utara (12° 05'S; 34° 2'E). Kerang kemudian dibawa ke *experimental hatchery* milik Charles Darwin University di Darwin. Setelah dibersihkan dari lumpur, kerang di tempatkan dalam tangki-tangki *fibreglass* berkapasitas 5 ton berisi air laut dengan sistem resirkulasi. Salinitas dipertahankan 20 ppt, suhu ruang berkisar 24-29°C dan pencahayaan alami. Pakan untuk calon induk kerang adalah mikroalga yang tumbuh alami di dalam tangki pemeliharaan. Lama pemeliharaan dalam tangki tiga hari hingga dilakukan perangsangan pemijahan untuk menghasilkan gamet (telur dan spermatozoa).

Perangsangan pemijahan

Perangsangan pemijahan dilakukan dengan menyuntikkan serotonin (5-hydroxytryptamine) creatinine sulphate complex, Sigma) menurut metode Gibbons & Castagna (1984). Larutan serotonin 1 mM dalam air laut steril disuntikkan sebanyak 0,2 ml menggunakan syringe 26 G.1/2 inch pada otot *adductor anterior* masing-masing individu. Individu-individu yang telah disuntik diletakkan dalam wadah-wadah pemijahan berisi 2 liter air laut bersalinitas

20 ppt yang telah disaring dengan rangkaian *cartridge filter* (hingga 1 μm) dan disterilkan dengan radiasi UV. Setiap wadah pemijahan hanya berisi satu ekor kerang.

Perlakuan gamet

Telur dan spermatozoa yang dipijahkan kemudian disifon ke dalam beaker gelas 5 l terpisah yang berisi air laut steril bersalinitas 20 ppt lalu dihitung kepadatannya. Jika beberapa individu sejenis memijah pada periode waktu bersamaan (kurang dari 10 menit), gamet dari individu-individu tersebut digabungkan. Kepadatan telur ditentukan dengan *Sedgewick-Rafter* slide menggunakan mikroskop stereo pada pembesaran 100X. Spermatozoa dihitung dengan *Improved Neubauer haemocytometer*. Baik untuk telur maupun sperma, kepadatan per ml merupakan hasil rata-rata dari tiga kali sampling. Khusus untuk spermatozoa, sebelum dihitung ditetesi larutan yodium untuk menghentikan pergerakan dan memperbaiki penampakan. Setelah mengetahui kepadatan masing-masing gamet, gamet-gamet tersebut dicampurkan agar fertilisasi berlangsung dalam kondisi yang sesuai dengan perlakuan dalam setiap percobaan.

Rangkaian percobaan yang dilakukan

Penelitian mencakup empat seri percobaan yang terpisah satu dengan yang lain. Seluruh rangkaian percobaan menggunakan unit-unit percobaan (wadah pemeliharaan) berupa wadah berbentuk silindro-konikal yang terbuat dari botol plastik bekas *soft drink* 2 liter yang bagian dasarnya telah dibuka, lalu dipasang terbalik. Setiap wadah pemeliharaan diisi dengan 1 liter media air laut dan dilengkapi sistem aerasi yang cukup untuk mempertahankan telur dan larva tetap melayang. Wadah-wadah percobaan tersebut ditempatkan dalam ruangan bersuhu 25-27°C dengan pencahayaan alami. Dalam seluruh rangkaian percobaan yang dilakukan, fertilisasi menggunakan sperma atau telur berusia kurang dari 15 menit, kecuali

untuk Percobaan 3. Seri percobaan tersebut adalah sebagai berikut:

Percobaan 1: Penentuan salinitas optimum untuk menghasilkan persentase tertinggi larva-D normal

Telur-telur dari dua individu yang memijah bersamaan dicampurkan dengan larutan sperma yang berasal dari dua ekor jantan. Sperma dicampurkan ke telur dengan rasio mendekati 2.000 spermatozoa per telur dan dibiarkan 10 menit untuk fertilisasi. Telur-telur yang telah dibuahi (*zygote*) disaring dengan saringan Nytex 45 μm , lalu dibilas dengan air laut steril. Setelah dihitung kepadatannya, telur-telur tersebut ditebar dalam wadah pemeliharaan dengan kepadatan 10 telur/ml (Loosanoff & Davis, 1963) yang berisi air laut dengan salinitas yang berbeda. Salinitas yang dicobakan adalah: 0, 5, 10, 15, 20, 25, dan 30 ppt, dimana masing-masing perlakuan salinitas diulang lima kali.

Percobaan 2: Penentuan rasio spermatozoa per telur optimum yang menghasilkan persentase tertinggi larva-D normal

Telur-telur dari tiga ekor betina digabungkan dan dimasukkan ke dalam wadah pemeliharaan berisi air laut steril bersalinitas 20 ppt dengan kepadatan 10 telur/ml. Spermatozoa yang dipijahkan oleh tiga ekor jantan dihitung kepadatannya dan ditambahkan ke masing-masing unit percobaan yang berisi telur untuk mencapai rasio spermatozoa per telur yang dikehendaki. Rasio yang dicobakan adalah 5, 10, 50, 10^2 , 5×10^2 , 10^3 , 5×10^3 , 10^4 , 5×10^4 , dan 10^5 spermatozoa per telur. Masing-masing perlakuan rasio diulang lima kali.

Percobaan 3: Penentuan usia gamet yang optimum untuk pembuahan yang menghasilkan persentase tertinggi larva-D normal

Rasio spermatozoa per telur yang terbaik (1000) dari Percobaan 2 dan kepadatan 10 telur/ml digunakan dalam percobaan ini. Prosedur penelitian seperti pada Percobaan 2, tetapi penambahan larutan

sperma ke dalam setiap wadah pemeliharaan dilakukan dalam interval 30 menit, 45 menit, 60 menit, 120 menit, dan 180 menit setelah pemasukan telur. Setiap perlakuan dicobakan lima kali.

Percobaan 4: Penentuan kepadatan telur terbuahi/ml air yang menghasilkan persentase tertinggi larva-D normal

Pembuahan telur dilakukan berdasarkan informasi dari percobaan-percobaan sebelumnya. Telur-telur yang telah dibuahi (*zygote*) ditempatkan dalam wadah-wadah percobaan berisi air laut steril 20 ppt. Kepadatan *zygote* yang dicobakan adalah 10, 20, 30, 40, 50, 100, dan 200 telur/ml. Setiap kepadatan diulang sebanyak lima kali.

Variabel yang diukur

Variabel yang diukur untuk masing-masing percobaan adalah persentase larva-D yang normal. Larva-D yang normal adalah larva yang cangkangnya berbentuk huruf "D" yang mulus. Sedangkan larva yang abnormal ditandai dengan cangkang yang berbentuk tidak beraturan atau belum lengkap. Demikian pula, jika setelah 48 jam masih berupa telur, embryo atau larva *trochophore*, tetap diperhitungkan sebagai larva yang abnormal (Dos Santos & Nascimento, 1985).

Cara menghitung jumlah larva pada masing-masing unit percobaan sebagai berikut. Setelah 48 jam seluruh larva-D yang ada di dalam masing-masing unit percobaan disaring dengan saringan Nytex 45- μ m dan dipindahkan ke dalam botol sampel 70 ml berisi air laut dengan volume tertentu, diawetkan dengan 5%

buffered formalin, lalu disimpan pada suhu 5°C hingga saat akan dihitung dengan mikroskop. Seluruh larva-D yang normal dalam setiap botol sampel dihitung dengan mikroskop stereo dan *Sedgewick-Rafter* slide. Setiap botol sampel diambil tiga kali sampel-1 ml yang kemudian dihitung nilai rata-rata jumlah larva-D/ml. Rataan tersebut lalu dikalikan dengan volume media dalam masing-masing botol sampel untuk mendapatkan jumlah total larva-D pada setiap unit percobaan. Persentase larva-D normal dihitung dengan cara: jumlah larva-D yang normal/jumlah telur awal yang dimasukkan ke dalam setiap unit percobaan x 100.

Analisis statistik

Seluruh nilai persentase ditransformasi $\arcsin\sqrt{\%}$ sebelum dianalisis sidik ragam (ANOVA) satu-arah. Analisis *posthoc* menggunakan uji *Student-Newman-Keuls* (SNK).

Hasil dan Pembahasan

Hasil

Pengaruh salinitas terhadap produksi larva-D normal pada *P. erosa*

Embryo *P. erosa* mampu berkembang hingga mencapai larva-D pada semua tingkatan salinitas yang dicobakan. Akan tetapi, terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan ($P < 0,05$). Uji SNK memperlihatkan bahwa persentase larva-D yang normal pada salinitas kurang dari 10 ppt dan lebih dari 25 ppt, lebih rendah daripada yang dihasilkan pada salinitas 15 dan 20 ppt (Tabel 1). Berdasarkan hasil ini, seluruh rangkaian percobaan berikutnya menggunakan salinitas 20 ppt.

Tabel 1. Persentase larva-D normal umur 48 jam pada salinitas berbeda

Salinitas	Jumlah larva-D	Persentase larva-D
S 0 ppt	1430 \pm 771	14,3 \pm 7,7 ^a
S 5 ppt	1410 \pm 887	14,1 \pm 8,9 ^a
S 10 ppt	3620 \pm 847	36,2 \pm 8,5 ^b
S 15 ppt	5260 \pm 1230	52,6 \pm 12,3 ^c
S 20 ppt	5320 \pm 1155	53,2 \pm 11,5 ^c
S 25 ppt	4760 \pm 1203	47,6 \pm 12,0 ^{bc}
S 30 ppt	2500 \pm 879	25,0 \pm 8,8 ^{ab}

Ket: Huruf superskrip yang tidak sama pada kolom yang sama menunjukkan beda nyata ($P < 0,05$); kepadatan awal telur fertile adalah 10⁴/l pada semua perlakuan dengan kepadatan sperma \pm 2000 sperma/telur; suhu air 26 \pm 1°C; persentase adalah hasil transformasi $\arcsin\sqrt{\%}$

Pengaruh rasio spermatozoa per telur terhadap persentase larva-D normal pada *P. erosa*

Percobaan 2 memperlihatkan bahwa rasio spermatozoa per telur berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap persentase larva-D normal. Rasio pada kisaran 5×10^2 hingga 5×10^3 menghasilkan persentase tertinggi dibandingkan rasio lainnya (Tabel 2). Jumlah sperma per telur yang lebih rendah dari 5×10^2 atau lebih tinggi dari 5×10^3 menghasilkan persentase larva-D normal yang lebih rendah.

Pengaruh usia gamet terhadap persentase larva-D yang normal pada *P. erosa*

Pada Percobaan 3, usia sperma dan telur yang digunakan mempengaruhi persentase larva-D normal ($P < 0,05$). Persentase tertinggi larva-D normal terjadi jika digunakan sperma atau telur yang dipijahkan tidak lebih dari 45 menit (Tabel 3). Setelah 1 jam atau lebih, pembuahan masih dapat berlangsung, tetapi persentase larva-D normal menurun drastis.

Pengaruh kepadatan telur terbuahi/ml terhadap persentase larva-D yang normal pada *P. erosa*

Kepadatan telur yang ada dalam wadah pemeliharaan mempengaruhi persentase larva-D normal ($P < 0,05$), terutama pada kepadatan sangat tinggi. Uji SNK memperlihatkan bahwa pada kisaran

kepadatan 10 hingga 50 telur terbuahi/ml, persentase larva-D normal tidak berbeda nyata (Tabel 4). Akan tetapi, jika kepadatan telur ditingkatkan hingga 100 atau 200 telur/ml, terjadi penurunan yang nyata ($P < 0,05$) dalam persentase larva-D normal.

Pembahasan

Penelitian ini memperlihatkan bahwa pada tahap larva, *P. erosa* relatif peka terhadap perubahan salinitas. Salinitas terbaik adalah pada kondisi payau (15-25 ppt). Meskipun pada salinitas yang lebih rendah dari 15 atau lebih dari 25 ppt, fertilisasi masih berlangsung, tetapi larva-D yang dihasilkan kurang dari 30%. Keadaan ini agak kontras dengan kerang dewasa yang mampu tumbuh dan bertahan hidup mulai dari air tawar hingga salinitas ekstrim di atas 40 ppt (Gimin, 2004). Helm & Millican (1977), His *et al.* (1989) dan Doroudi *et al.* (1999) memperlihatkan bahwa kondisi salinitas dimana induk dipelihara akan menentukan toleransi larva yang dihasilkan. Jika induk sebelumnya terpapar terhadap salinitas yang beragam, larva akan relatif tahan dan mampu berkembang dalam berbagai salinitas. Pada penelitian ini, induk diaklimasi hanya pada satu salinitas, yaitu 20 ppt, sebelum dipijahkan. Kemungkinan hal ini turut mempengaruhi sempitnya toleransi embryo dan larva terhadap salinitas.

Tabel 2. Pengaruh rasio antara jumlah sperma dan telur terhadap persentase larva-D normal umur 48 jam

Rasio sperma dan telur	Jumlah larva-D	Persentase larva-D
5	820 ± 614	8,2 ± 6,1 ^a
10	830 ± 329	8,3 ± 3,3 ^a
50	1340 ± 574	13,4 ± 5,7 ^{ab}
10 ²	2810 ± 894	28,1 ± 8,9 ^{bc}
5x10 ²	5180 ± 1285	51,8 ± 12,8 ^d
10 ³	5720 ± 1686	57,2 ± 16,9 ^d
5x10 ³	5200 ± 1224	52,0 ± 12,2 ^d
10 ⁴	3270 ± 1148	32,7 ± 11,5 ^c
5x10 ⁴	2940 ± 1115	29,4 ± 11,2 ^c
10 ⁵	1480 ± 807	14,8 ± 8,1 ^{ab}

Ket: Huruf superskrip yang tidak sama pada kolom yang sama menunjukkan beda nyata ($P < 0,05$); kepadatan awal telur fertile adalah 10⁴/l pada semua perlakuan; suhu air 26±1°C dan salinitas air 20 ppt; persentase adalah hasil transformasi arcsin√%

Tabel 3. Persentase larva-D normal umur 48 jam yang dihasilkan dari gamet berbeda umur dalam fertilisasi

Umur gamet (menit)	Jumlah larva-D	Persentase larva-D
30	5660 ± 1441	56,6 ± 14,4 ^a
45	5400 ± 829	54,0 ± 8,3 ^a
60	3240 ± 604	32,4 ± 6,0 ^b
120	1560 ± 770	15,6 ± 7,7 ^c
180	930 ± 580	9,3 ± 5,8 ^c

Ket: Huruf superskrip yang tidak sama pada kolom yang sama menunjukkan beda nyata ($P < 0,05$); kepadatan awal embryo adalah $10^4/l$ pada semua perlakuan; suhu air $26 \pm 1^\circ\text{C}$ dan salinitas air 20 ppt; persentase adalah hasil transformasi $\arcsin\sqrt{\%}$

Tabel 4. Pengaruh kepadatan telur fertil terhadap persentase larva-D normal umur 48 jam

Kepadatan (telur/ml)	Jumlah awal telur fertil	Jumlah larva-D	Persentase larva-D
10	10^4	5620 ± 1350	56,2 ± 13,5 ^a
20	2×10^4	10550 ± 1980	52,6 ± 9,9 ^a
30	3×10^4	16250 ± 3133	54,2 ± 10,4 ^a
40	4×10^4	20860 ± 4002	52,2 ± 10,0 ^a
50	5×10^4	26350 ± 5313	52,7 ± 10,6 ^a
100	10^5	28890 ± 11214	28,9 ± 11,2 ^b
200	2×10^5	30170 ± 14469	15,1 ± 7,2 ^c

Ket: Huruf superskrip yang tidak sama pada kolom yang sama menunjukkan beda nyata ($P < 0,05$); suhu air $26 \pm 1^\circ\text{C}$ dan salinitas air 20 ppt; persentase adalah hasil transformasi $\arcsin\sqrt{\%}$

Sebagaimana terjadi pada berbagai bivalvia lainnya (Loosanoff & Davis, 1963; Dos Santos & Nascimento, 1985; Clotteau & Dubé, 1993; O'Connor & Heasman, 1995; Heasman *et al.*, 1996; Narvarte & Pascual, 2003), penelitian ini juga memperlihatkan bahwa rasio spermatozoa per telur menentukan proses fertilisasi dalam menghasilkan larva *P. erosa* yang normal. Rasio sperma per telur yang optimum untuk *P. erosa* berada pada kisaran 5×10^2 s/d 5×10^3 . Rasio yang terlalu rendah atau berlebihan menghambat proses fertilisasi yang tercermin dari rendahnya persentase larva-D yang normal. Menurut Pennington (1985) kepadatan spermatozoa yang terlalu rendah akan mengurangi kesempatan sperma bertemu telur dan membuahnya. Sulitnya pertemuan tersebut terutama terjadi jika konsentrasi telur dalam wadah pemeliharaan juga rendah (Clotteau & Dubé, 1993; O'Connor & Heasman, 1995). Keadaan seperti ini juga ditemukan pada Percobaan 2 dimana setelah 48 jam masih ditemukan telur yang belum terbuahi, terutama pada rasio 5 dan 10 spermatozoa per telur. Selain itu, menurut Pennington (1985) jika kepadatan sperma dalam air terlalu rendah, spermatozoa akan bergerak lebih cepat dibandingkan jika dalam konsentrasi tinggi dan segera mengalami

kelelahan sehingga berkurang viabilitasnya dalam membuahi. Sebaliknya, pada kepadatan yang sangat tinggi peluang terjadinya *polyspermi* yang menghasilkan larva abnormal, juga semakin besar (Stephano & Gould, 1988; Hahn, 1989). Selain terjadinya *polyspermi*, konsentrasi sperma yang berlebihan juga menyebabkan membran telur mengalami *lysis* dan embryogenesis berlangsung secara *atypical* yang menghasilkan larva yang abnormal (Clavier, 1992; Encena *et al.*, 1998). Kondisi ini teramat pada rasio sperma per telur mulai dari 10^4 ke atas.

Penelitian ini juga menegaskan kembali pentingnya memperhatikan usia gamet agar fertilisasi berlangsung normal. Sebagaimana penelitian-penelitian pada bivalvia lainnya (Helm & Millican, 1977; Dos Santos & Nascimento, 1985; O'Connor & Heasman, 1995; Heasman *et al.*, 1996; Narvarte & Pascual, 2003), pembuahan pada *P. erosa* akan berlangsung normal jika digunakan gamet yang baru dipijahkan. Dalam penelitian ini ditemukan bahwa usia telur dan sperma yang digunakan untuk fertilisasi sebaiknya kurang dari 45 menit. Penggunaan gamet yang lebih lama mengurangi persentase larva yang normal. Helm & Millican (1977), Dos Santos & Nascimento (1985),

O'Connor & Heasman (1995), Heasman *et al.* (1996), Encena *et al.* (1998) masing-masing melaporkan bahwa motilitas sperma menurun seiring waktu dan hal tersebut mengurangi daya pembuahannya. Penurunan viabilitas tersebut berlangsung lebih cepat jika sperma atau telur disimpan pada suhu ruang yang tinggi (O'Connor & Heasman, 1995; Heasman *et al.*, 1996; Narvarte & Pascual, 2003) sebagaimana yang terjadi dalam penelitian ini. Dalam penelitian ini, seluruh proses penyimpanan gamet dan fertilisasi berlangsung dalam suasana suhu ruang yang relatif tinggi ($26 \pm 1^\circ\text{C}$) yang menyebabkan spermatozoa cepat mengalami kelelahan (O'Connor & Heasman, 1995). Penelitian pada bivalvia lainnya, seperti tiram, juga memperlihatkan bahwa sebaiknya untuk pembuahan digunakan gamet berusia kurang dari 60 menit (Helm & Millican, 1977; Dos Santos & Nascimento, 1985).

Kepadatan telur terbuahi di dalam wadah penetasan mempengaruhi produksi larva-D yang normal. Pada kepadatan tinggi produksi larva yang normal menurun. Keadaan serupa telah dilaporkan dalam penelitian-penelitian terdahulu (Loosanoff & Davis, 1963; Gruffydd & Beaumont, 1970; Dos Santos & Nascimento, 1985; Clotteau & Dubé, 1993; O'Connor & Heasman, 1995; Heasman *et al.*, 1996; Narvarte & Pascual, 2003). Loosanoff & Davis (1963) dan Hurley & Walker (1996) melaporkan bahwa kepadatan 10 larva/ml merupakan kepadatan yang ideal bagi bivalvia untuk mengurangi *stress* akibat interaksi mekanis antar larva yang berenang. Dalam penelitian ini, batas maksimum jumlah telur terbuahi yang dapat ditebarkan di dalam inkubator mencapai 50 butir/ml media. Hasil ini mirip yang dilaporkan pada *scallop Pecten fumatus* oleh O'Connor & Heasman (1995) yang memperoleh sekitar 50% larva normal pada kisaran kepadatan 10-50 telur/ml. Pada tingkat kepadatan yang lebih tinggi, persentase larva *P. erosa* menurun drastis. Penurunan produksi larva normal pada padat penebaran yang tinggi menurut

O'Connor & Heasman (1995) dan Narvarte & Pascual (2003) disebabkan oleh semakin menguatnya efek kontaminan yang mempengaruhi perkembangan normal larva. Sebagaimana pada penelitian sebelumnya, dalam penelitian ini tidak dilakukan penggantian air media selama 48 jam. Pada keadaan seperti ini, telur dan embryo yang mati merupakan substrat bagi berkembangnya populasi mikroba. O'Connor & Heasman (1995) telah memperlihatkan bagaimana populasi bakteri meningkat seiring dengan meningkatnya kepadatan telur dalam wadah pemeliharaan dan hal tersebut berpengaruh buruk terhadap larva.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada para pemandu dari Djelk Rangers di Maningrida yang telah mendampingi penulis dalam mengunjungi berbagai situs kerang bakau dan mengumpulkan specimen untuk percobaan ini. Juga kepada Mr. Ray Hall, Koordinator Bawinanga Aboriginal Corporation, yang mengatur seluruh *field trip* dan menyediakan akomodasi selama penulis di lapangan. Terima kasih pula kepada Ms Kathy Kellam, *Technical Officer* pada Bagian Aquaculture-CDU, yang membantu dalam merawat kerang di *hatchery*. Penelitian ini memperoleh dukungan dana dari Bawinanga Aboriginal Corporation-Maningrida (NT), The National Heritage Trust dan Key Centre for Tropical Wildlife Management-Charles Darwin University. Selama penelitian ini, penulis sedang mengikuti program doktor dengan beasiswa AusAID.

Daftar Pustaka

- Clavier, J. 1992. Fecundity and optimal sperm density for fertilization of the ormer, *Haliotis tuberculata* L. In Abalones of the world: Biology, fisheries and culture. S. A. Shepherd, M. J. Tegner, S. A. Guzmán del Prío (Eds.), Fishing News Books. Oxford: 86-92.

- Clotteau, G. and F. Dubé. 1993. Optimization of fertilization parameters for rearing surf clams (*Spisula solidissima*). *Aquaculture*. 114: 339-353.
- Doroudi, M.S., P.C. Southgate, and R.J. Mayer. 1999. The combined effects of temperature and salinity on embryos and larvae of the black-lip pearl oyster, *Pinctada margaritifera* (L.). *Aquaculture Research*. 30: 271-277.
- Dos Santos, A.E. and I.A. Nascimento. 1985. Influence of gamete density, salinity and temperature on the normal embryonic development of the mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae* Guilding, 1828. *Aquaculture*. 47: 335-352.
- Encena, V.C., E.C. Capitin Jr, and N.C. Bayona. 1998. Optimal sperm concentration and time for fertilization of the tropical abalone, *Haliotis asinina* Linne 1758. *Aquaculture*. 165: 347-352.
- Gibbons, M.C. and M. Castagna. 1984. Serotonin as an inducer of spawning in six bivalve species. *Aquaculture*. 40: 189-191.
- Gimin, R. 2002. Induction of spawning and larval rearing of the mangrove clam, *Polymesoda (Geloina) erosa* Solander (1786) (Bivalvia: Corbiculidae). Paper presented at Aquafest Conference-Australia 2002. 19-22 September 2002, Hobart-Tasmania.
- Gimin, R. 2004. Reproduction and conditioning of the mangrove clam *Polymesoda (Geloina) erosa* (Bivalvia: Corbiculidae) (Solander, 1786). PhD Thesis Charles Darwin University-Australia. 213 p.
- Gruffydd, L.D. and A.R. Beaumont. 1970. Determination of the optimum concentration of eggs and spermatozoa for the production of normal larvae in *Pecten maximus* (Mollusca, Lamellibranchia). *Helgoländer Wissenschaftliche Meeresuntersuchungen*. 20: 486-497.
- Hahn, K.O. 1989. Handbook of culture of abalone and other marine gastropods. CRC Press, Boca Raton, FL. 348 p.
- Heasman, M.P., W.A. O'Connor, and A.W. Frazer. 1996. Effects of fertilization and incubation factors on the quality and yield of scallop, *Pecten fumatus* Reeve, larvae. *Aquaculture Research*. 27: 505-513.
- Helm, M.M. and P.F. Millican. 1977. Experiments in the hatchery rearing of Pacific oyster larvae (*C. gigas* Thunberg). *Aquaculture*. 11: 1-12.
- His, E., R. Robert, and A. Dinot. 1989. Combined effects of temperature and salinity on fed and starved larvae of the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* and the Japanese oyster *Crassostrea gigas*. *Marine Biology*. 100: 455-463.
- Hurley, D.H. and R.L. Walker. 1996. The effects of larval stocking density on growth, survival, and development of laboratory-reared *Spisula solidissima similis* (Say, 1822). *Journal of Shellfish Research*. 15(3):715-718.
- Loosanoff, V.L. and H.C. Davis. 1963. Rearing of bivalve mollusks. *Advances in Marine Biology*. 1: 1-136.
- Meehan, B. 1982. Shell bed to shell midden. Australian Institute of

- Aboriginal Studies. Canberra. 237 p.
- Morton, B. 1988. The population structure and age of *Polymesoda (Geloina) erosa* (Bivalvia: Corbiculacea) from a Hong Kong mangrove. *Asian Marine Biology*. 5: 107-113.
- Narvarte, M.A. and M.S. Pascual. 2003. Fertilization, larval rearing and post-larval growth of the Tehuelche scallop *Aequipecten tehuelchus* D'Orb., 1846. *Aquaculture*. 217: 259-274.
- O'Connor, W.A. and M.P. Heasman. 1995. Spawning induction and fertilization in the doughboy scallop *Chlamys (Mimachlamys) asperrima*. *Aquaculture*. 136: 117-129.
- Pennington, J.T. 1985. The ecology of fertilization of echinoid eggs: The consequences of sperm dilution, adult aggregation, and synchronous spawning. *Biological Bulletin*. 169: 417-430.
- Stephano, J.L. and M. Gould. 1988. Avoiding polyspermae in the oyster (*Crassostrea gigas*). *Aquaculture*. 73: 295-307.