

Dinamika Pertumbuhan Lebar Tulang Femur Kodok Sawah (*Fejervarya cancrivora*) Asal Persawahan Kabupaten Karawang, Jawa Barat (Anura: Dicroglossidae)

(DYNAMICS GROWTH OF FEMUR BONE WIDTH OF PADDY FIELD FROG
(FEJERVARYA CANCRIVORA) FROM RICE FIELD OF KARAWANG DISTRICT,
WEST JAVA (ANURA: DICROGLOSSIDAE))

Hellen Kurniati^{1*}, Ni Luh Putu Rischa Phadmacanty¹

¹Bidang Zoologi, Pusat Penelitian Biologi
Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia,
Jalan Raya Cibinong (Jakarta-Bogor) km 46,
Cibinong, Jawa Barat, Indonesia 16911
*Email: hellenkurniati@gmail.com

ABSTRAK

Tulang femur kodok sawah (*Fejervarya cancrivora*) mengalami proses reabsorpsi dan resorpsi tulang pada bagian rongga sum-sum (*marrow cavity*-MC), karena pada penelitian sebelumnya terlihat *Metamorphosis Line* (ML) pada sebagian besar individu terlihat sudah tidak utuh atau menghilang. Pengukuran pertumbuhan lebar tulang femur (MP) yang diukur tegak mulai dari tepi MC ke bagian tepi tulang bagian luar dilakukan dengan menggunakan metode skeletokronologi. Hasil analisis korelasi antara panjang tubuh (SVL) dengan MP memperlihatkan korelasi kuat pada kelompok jantan dan betina untuk data normal dan data konversi log¹⁰; tetapi hubungan antara MP dengan jumlah *Line of Arested Growth* (LAG) memperlihatkan adanya dinamika penambahan lebar tulang femur pada kelompok jantan dan betina, yang mana kelompok jantan penambahan lebar tulang femur lebih besar dibandingkan penambahan lebar tulang femur kelompok betina.

Kata-kata kunci: *Fejervarya cancrivora*; histologi; tulang femur; skeletokronologi.

ABSTRACT

Femur bone of the paddy field frog (*Fejervarya cancrivora*) undergoes a process of reabsorption and resorption of bone in the marrow cavity (MC), because in previous studies it was seen that *Metamorphosis Line* (ML) in most individuals appeared to be incomplete or disappear. Bone width growth (MP) measurements that were measured upright starting from the edge of the MC to the outer edge of the bone were performed by using skeletochronology method. The results of correlation analysis between body length (SVL) and MP showed a strong correlation in male and female groups in normal data and Log¹⁰ conversion data; however, the relationship between MP and number of *Line of Arested Growth* (LAG) showed a dynamics of increasing femur bone width in the male and female groups, in which male group increase femur bone width was higher than the increase in femur bone width of the female group.

Keywords: *Fejervarya cancrivora*; histology; femur bone; skeletochronology.

PENDAHULUAN

Salah satu penentuan usia kodok sawah dapat dilakukan dengan pendekatan skeletokronologi yaitu menghitung lingkaran tahun yang juga disebut *Line of Arested Growth* (LAG) pada potongan melintang tulang panjang.

Lingkaran tahun (LAG) ini terbentuk akibat adanya akumulasi kalsium pada tulang secara periodik. Tulang femur kodok sawah (*Fejervarya cancrivora*) memperlihatkan pertambahan jumlah LAG) sejalan dengan pertambahan umur dan pertumbuhan tubuhnya (Phadma-chanty dan Kurniati, 2019).

Pertambahan jumlah LAG yang mengindikasikan pertambahan lapisan tulang biasanya juga diikuti dengan penyerapan kembali atau reabsorpsi tulang pada bagian rongga sum-sum tulang, yang mana pada amfibia penyerapan kembali kalsium dari tulang digunakan sebagai pembeku darah dan penunjang integritas pembuluh darah kapiler (Eden *et al.*, 2007). Proses reabsorpsi tulang umum terjadi pada amfibia yang sudah memasuki masa dewasa kelamin (Leclair dan Castanet, 1987; Wake dan Castanet, 1995; Castanet *et al.*, 1996; Sagor *et al.*, 1998; Kumbar dan Pancharatna, 2001) atau yang sudah memasuki usia tua dari periode masa hidup (Hemelaar, 1985; Sinsch, 2015).

Reabsorpsi tulang di bagian rongga sum-sum amfibia akan berbeda kecepatannya untuk setiap jenis tulang; tulang phalanx jari mempunyai kecepatan reabsorpsi dan pembentukan tulang lebih besar dibandingkan tulang lain, oleh sebab itu penggunaan tulang phalanx jari untuk penentuan umur sering kali meleset dikarenakan tergerusnya LAG yang terbentuk terlebih dahulu (Leclair dan Castanet, 1987; Francillon-Vieillot *et al.*, 1990; Sagor *et al.*, 1998; Wagner *et al.*, 2011).

Garis metamorfosis atau ML (*Metamorphosis Line*) selalu terlihat pada individu kelompok kodok yang masih berusia muda atau pada tahap anakan, karena garis ini terbentuk selama kodok menjalani tahap metamorfosis (Sinsch dan Dehling, 2017; Székely *et al.*, 2018). Reabsorpsi tulang pertama kali akan terjadi pada tulang yang berbatasan langsung dengan rongga sum-sum, di mana bagian ML terlihat tidak utuh. Proses penyerapan kembali tulang di bagian rongga sum-sum akan diikuti pula dengan proses penambahan kembali lapisan tulang, selain itu penambahan lapisan tulang akan bertambah terus sejalan dengan pertambahan jumlah LAG (Leclair dan Castanet, 1987; Khonsue *et al.*, 2000; Kurita dan Toda, 2013), sehingga akan terlihat lebar tulang bertambah atau berkurang sejalan dengan pertambahan umur kodok.

Proses reabsorpsi dan resorpsi tulang pada bagian rongga sum-sum juga terjadi pada tulang femur kodok sawah; untuk mengetahui bagaimana dinamika dari proses reabsorpsi dan resorpsi tulang yang sejalan dengan pertambahan umur kodok sawah, maka penelitian ini dilakukan dengan melakukan pengukuran lebar tulang femur (MP) pada kelompok jantan dan betina dewasa serta kelompok anakan.

METODE PENELITIAN

Spesimen

Spesimen dikoleksi dari persawahan Desa Anggadita, Kecamatan Klari Sukaresmi, Kabupaten Karawang, Propinsi Jawa Barat; pada tanggal 16-29 Maret 2018, pada posisi tempat S 06020'38,2"; E 107020'59,1". Jumlah spesimen yang dilakukan proses histologi sebanyak 102 spesimen, yang terdiri dari 23 anakan, 42 jantan dewasa kelamin dan 37 betina dewasa kelamin. Semua spesimen dipreservasi di dalam ethanol 96%. Indikasi jantan dewasa kelamin ditandai dengan bagian rahang bawah di mana terdapat kantung suara berwarna hitam; sedangkan pada betina dilakukan pembedahan bagian abdomen, betina dewasa kelamin ditandai dengan terdapat telur-telur yang berwarna hitam. Pada individu anakan tidak terdapat indikasi-indikasi tersebut. Semua spesimen diukur panjang tubuhnya (SVL), yaitu mulai dari moncong sampai ke kloaka. Satuan panjang SVL adalah milli meter (mm).

Skeletokronologi

Cara kerja skeletokronologi mengikuti Sinsch (2015) dengan menggunakan metode parafin. Spesimen tulang femur terlebih dahulu didekalsifikasi dengan direndam di dalam larutan asam format 10% selama 48-96 jam tergantung besarnya tulang. Setelah itu tulang direndam di dalam air mengalir selama satu malam. Langkah berikutnya tulang diwarnai dengan larutan Erlich's hematoxylin dengan merendamnya selama 90 menit, lalu dicuci dengan air mengalir selama 30 menit. Setelah itu tulang diproses dengan metode parafin (Liao dan Lu, 2010), lalu tulang dipotong dengan mikrotom putar (produk Yamato RV-240) dengan ketebalan 15 μ m. Preparat potongan tulang kemudian dibuang parafinnya dengan menggunakan xylene, lalu diberi enthelan. Pengamatan preparat tulang menggunakan mikroskop (produk Nikon Optiphot 2) pada pembesaran 200-400 kali yang divisualisasikan di layar komputer. Pengukuran tulang dilakukan setelah preparat difoto. Bagian yang diukur adalah lebar tulang (MP), yaitu jarak tegak dari tepi rongga sum-sum (MC) sampai ke tepi luar tulang (lihat Gambar 1). Satuan ukuran yang digunakan untuk MP adalah μ meter (μ m).

Analisis data

Jumlah LAG setiap individu yang berjumlah 102 mengikuti Phadmacanty & Kurniati (2019) yang terdiri dari 23 individu anakan yang belum diketahui jenis kelaminnya, 42 individu jantan dan 37 individu betina. Semua parameter ukuran tubuh (SVL) dan lebar tulang (MP) dikonversi ke Log^{10} sebelum dilakukan analisis. Perangkat lunak PAST versi 3.0 (Hammer *et al.*, 2001) digunakan untuk menganalisa parameter SVL dengan MP di dalam kelompok umur (anakan dan dewasa) dan jenis kelamin (jantan dan betina). Korelasi Pearson digunakan untuk mengestimasi korelasi antara antara SVL dengan MP dan antara MP dengan jumlah LAG. Statistik ANOVA (*Welch F test in the case of unequal variances*) digunakan untuk mengetahui apakah ada perbedaan nyata ($p < 0,05$) pertumbuhan MP pada jantan dengan betina sejalan dengan penambahan LAG. Kurva pertumbuhan MP pada jantan dan betina berdasarkan rata-rata MP dan jumlah LAG dibentuk dengan menggunakan MS excel versi 2016.

individu betina. Hasil pengukuran MP pada kelompok anakan, jantan dan betina serta SVL dan LAG yang diambil dari Phadmachanty dan Kurniati (2019) dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil pengukuran SVL dan MP pada Tabel 1 terlihat berdistribusi tidak normal, indikasi ini ditandai dengan nilai standar deviasi yang bernilai besar dan kisaran dengan jarak yang sangat jauh. Hasil penelitian Phadmachanty dan Kurniati (2019) telah menjelaskan kondisi lingkungan kodok sawah di habitatnya yang sangat dinamis dengan waktu tanam padi tiga kali setahun; kondisi ini menyebabkan persediaan air dan pakan kodok sawah juga sangat dinamis; indikasi ini terlihat dari adanya LAG yang terbentuk tidak melingkar utuh dan terdapat LAG ganda pada beberapa individu. Kondisi lingkungan kodok sawah terlihat berpengaruh kepada proses reabsorpsi dan resorpsi tulang femur, fenomena ini terlihat dari MP yang berdeviasi besar.

Untuk menormalkan distribusi nilai tersebut, maka semua hasil pengukuran (SVL dan MP) dikonversi ke log^{10} ; nilai SVL dikonversi dari satuan mm (milli meter) ke satuan μm (mikro meter). Hasil korelasi antara SVL dan MP untuk total jumlah jantan (37 individu) dan total jumlah betina (42 individu) memperlihatkan korelasi yang positif cukup kuat untuk jantan ($r^2=0,2327$; $f=12,13$; $p=0,001$) dan betina ($r^2=0,3853$; $f=22,57$; $p=0,000$), korelasi kedua

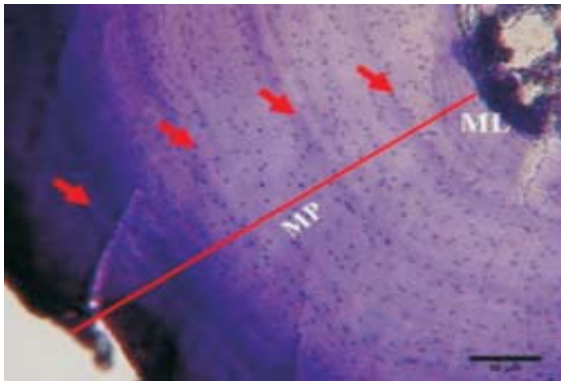
HASIL DAN PEMBAHASAN

Individu kodok sawah (*F. cancrivora*) yang diukur lebar MP tulang femur terdiri dari 23 individu anakan, 42 individu jantan dan 37

Tabel 1. Jumlah LAG, kisaran SVL dan MP; SVL dan MP rata-rata±standar deviasi (SD) dari *Fejervarya cancrivora* berdasarkan kelompok umur dan jenis kelamin.

Jumlah LAG	Anakan			Betina dewasa			Jantan dewasa		
	Jumlah individu	Kisaran: -SVL mm -MP μm	Rataan ±SD: -SVL mm -MP μm	Jumlah individu	Kisaran: -SVL mm -MP μm	Rataan ±SD: -SVL mm MP μm	Jumlah individu	Kisaran: -SVL mm -MP μm	Rataan ±SD: -SVL mm -MP μm
0	18	17,70-29,70 10,69-71,15	24,95±3,63 30,66±17,23	14	31,10-46,60 17,66-106,76	35,76±4,03 42,73±21,58	13	30,60-61,10 27,25-119,95	38,08±8,91 61,85±31,11
1	5	20,50-29,50 27,76-41,12	24,14±3,79 31,08±10,48	14	31,10-69,80 25,08-217,81	45,44±11,18 84,78±64,59	16	33,00-59,30 15,30-200,25	42,91±8,52 69,76±51,50
2	-	-	-	6	38,70-65,70 34,90-140,65	51,65±10,94 92,88±40,86	9	31,70-65,20 27,17-348,70	46,22±11,48 114,98±94,38
3	-	-	-	1	65,10 251,69	65,10 251,69	3	38,10-51,90 57,17-285,49	44,03±7,10 160,16±115,79
4	-	-	-	1	89,1 148,89	89,1 148,89	1	61,50 408,13	61,50 408,13
5	-	-	-	1	75,5 30,75	75,5 30,75	-	-	-
Total	23			37			42		

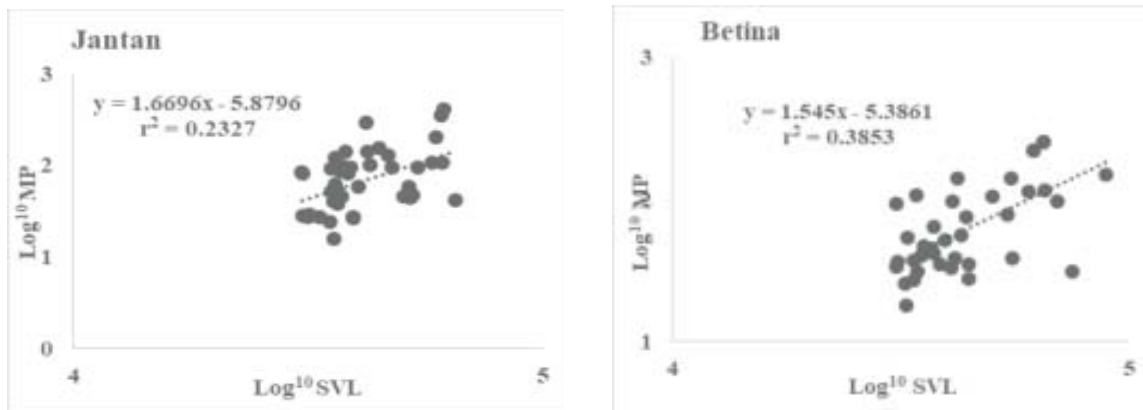
Keterangan : LAG = line of arested growth, SVL = panjang tubuh kodok mulai moncong sampai kloaka, MP = lebar tulang femur



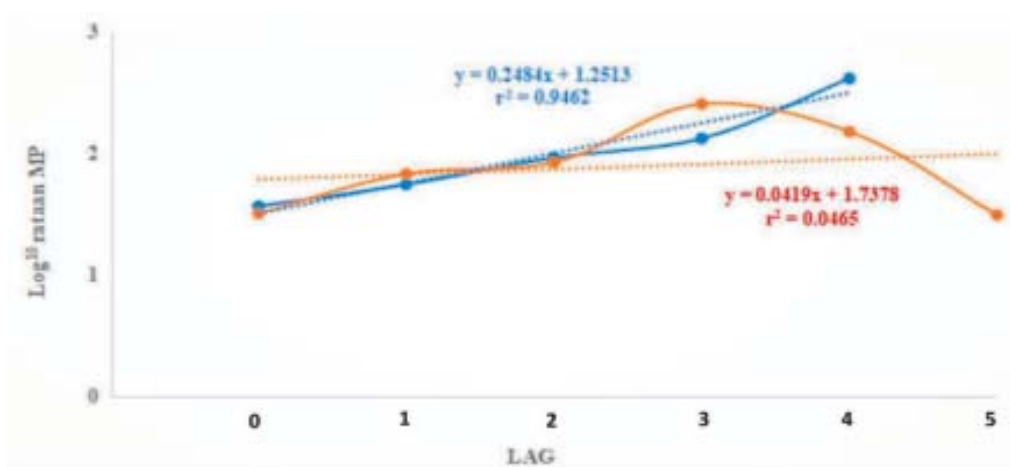
Gambar 1. Jantan dewasa *Fejervarya cancrivora* dengan SVL 61,5 mm dan empat *line of arrested growth*/LAG (panah merah). Lebar tulang femur/MP adalah lebar tulang (garis merah). *Metamorphosis line*/ML terlihat tidak utuh yang mengindikasikan sudah terjadi reabsorpsi tulang.

jenis kelamin positif cukup kuat sejalan dengan bertambahnya umur (Gambar 2). Panjang SVL kodok sawah jantan dan betina umumnya mencapai 100 mm (Iskandar, 1998); sedangkan dari spesimen penelitian ini panjang SVL maksimum didapat 75,5 mm pada betina dengan lima LAG. Ukuran maksimum SVL dari spesimen jantan dan betina pada penelitian ini merupakan spesimen yang masih muda, karena belum diketahui ukuran SVL berapa memasuki pertumbuhan asyptotik (Phadmachanty dan Kurniati, 2019), karena persawahan di mana spesimen diambil merupakan areal tempat perburuan kodok sawah.

Bila melihat positif kuatnya hubungan antara pertambahan panjang SVL dengan pertambahan lebar MP, kodok sawah sangat membutuhkan pakan dengan kalsium tinggi untuk mendukung kehidupannya. Menurut Ates *et al.* (2007), *F. cancrivora* mengkonsumsi



Gambar 2. Persamaan garis lurus antara Log^{10} SVL dan Log^{10} MP pada jantan dan betina *Fejervarya cancrivora* yang dikoleksi dari persawahan Kabupaten Karawang, Jawa Barat. Keterangan : SVL = panjang tubuh kodok mulai moncong sampai kloaka, MP = lebar tulang femur



Gambar 3. Dinamika pertumbuhan lebar tulang femur/MP pada jantan (garis biru) dan betina (garis merah) berdasarkan umur yang dilihat dari jumlah *line of arrested growth*/LAG.

molusca dan ikan selain serangga, dan hanya *F. cancrivora* yang dalam lambungnya terdapat ikan, yang mana moluska dan ikan merupakan sumber kalsium yang tinggi, selain itu kodok sawah adalah pemangsa kepiting air tawar, karena sesuai dengan nama jenis *cancrivora* yang artinya pemakan kepiting (Iskandar, 1998), kepiting adalah juga sumber kalsium yang tinggi. Ukuran SVL yang dapat mencapai 100 mm, kodok sawah termasuk kelompok kodok bertubuh besar (Iskandar, 1998); untuk memenuhi kebutuhan pertumbuhan tubuh dan juga penopang tubuhnya yang besar, kodok sawah harus mengkonsumsi pakan alami dengan sumber kalsium yang tinggi.

Uji statistik ANOVA untuk melihat perbedaan lebar MP (Log^{10} MP) pada setiap tingkatan umur hanya dapat dilakukan pada umur kurang dari satu tahun (0 LAG) sampai umur dua tahun (2 LAG), karena jumlah spesimen umur 3-5 tahun (3 LAG-5 LAG) tidak mencukupi untuk dilakukan analisis (lihat Tabel 1). Data lebar MP pada kelompok jantan dan betina berumur kurang dari satu tahun (0 LAG) disatukan dengan data MP anakan yang berumur kurang dari satu tahun (0 LAG), penyatuan ini bertujuan untuk pembentukan kurva pada titik awal yang sama (Gambar 3). Lebar MP kelompok jantan dan betina berumur kurang dari satu tahun (0 LAG) tidak berbeda nyata (*Welch F test in the case of unequal variances*: $f=3,468$, $df=23,19$, $p=0,07529$); begitu juga untuk umur satu tahun (1 LAG) (*Welch F test in the case of unequal variances*: $f=0,5812$, $df=27,67$, $p=0,4523$) dan umur dua tahun (2 LAG) (*Welch F test in the case of unequal variances*: $f=0,065$, $df=12,67$, $p=0,8029$); tetapi bila dilihat dari kurva MP (konversi dari nilai Log^{10} rataan MP), persamaan garis lurus dari penebalan MP sejalan dengan pertambahan umur (Gambar 3); pertambahan MP pada kelompok jantan berkorelasi positif dan sangat kuat ($r^2=0,9462$); sedangkan pada kelompok betina berkorelasi positif, tetapi sangat lemah ($r^2=0,0465$). Bila dilihat dari pertambahan umur, pertambahan lebar MP pada kelompok jantan sangat tinggi, tetapi pada kelompok betina menurun pada umur di atas tiga tahun (Gambar 3). Walaupun spesimen betina yang berumur tiga tahun ke atas hanya terdiri dari masing-masing satu spesimen dan semuanya terdapat telur di dalam abdomennya, maka kemungkinan besar terjadi reabsorpsi kalsium dari tulang femur betina yang telah memasuki masa produktif. Kondisi ini terjadi pada beberapa jenis amfibia yang diteliti

dengan skeletokronologi tulang phalanx (Leclair *et al.*, 1985; Francillon-Vieillot *et al.*, 1990; Castanet *et al.*, 1996; Eden *et al.*, 2007; Wagner *et al.*, 2011).

SIMPULAN

Bagian rongga sum-sum dari tulang femur kodok sawah mengalami proses reabsorpsi dan resorpsi tulang, pada sebagian besar individu yang telah masuk dewasa kelamin. Terdapat korelasi antara SVL dan MP pada semua kelompok. Korelasi SVL dan MP pada tulang femur jantan dan tulang femur betina adalah positif kuat; tetapi bila dilihat dari pertambahan umur yang diindikasikan dengan pertambahan jumlah LAG, pertambahan lebar tulang femur pada kelompok jantan lebih besar dibandingkan kelompok betina setelah kedua kelompok ini berumur dua tahun yang ditandai dengan terbentuknya dua LAG.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan menambah jumlah sampel kodok sawah dengan panjang tubuh (SVL) lebih besar dan lebih tua yang ditandai dengan jumlah LAG antara 3-5 atau lebih; sehingga dinamika lebar tulang femur akan terungkap lebih lengkap mewakili populasi kodok sawah.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih diberikan kepada Bapak Wahyu Tri Laksono dan Bapak Syaripudin yang telah membantu koleksi kodok sawah di persawahan Kabupaten Karawang, Jawa Barat. Kontribusi autor HK dan NPRP di dalam artikel ini sama besar (ekual).

DAFTAR PUSTAKA

- Ates FB, Palafox DB, Cabelin VLD, Delima EMM. 2007. Diet composition of six Anuran species (Amphibia: Anura) in Terminalia Forest, Mindanao Island, Philippines. *Banwa* 4(2): 7-20.
- Castanet J, Francillon-Vieillot H, Bruce RC. 1996. Age estimation in desmognathine salamanders assessed by skeletochronology. *Herpetologica* 52 160-171.

- Eden JC, Whiteman, HH, Duobinis-Gray L, Wissinger SA. 2007. Accuracy assessment of skeletochronology in the Arizona tiger salamander (*Ambystoma tigrinum nebulosum*). *Copeia* (2): 471-47.
- Francillon-Vieillot H, Arntzen JW, Geraudie J. 1990. Age, growth and longevity of sympatric *Triturus cristatus*, *T. marmoratus* and their hybrids (Amphibia, Urodela): A skeletochronological comparison. *J Herp* 24(1): 13-22.
- Hammer Ø, Harper DAT, Ryan PD. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1): 9.
- Hemelaar ASM. 1985. An improved method to estimate the number of year rings resorbed in phalanges of *Bufo bufo* (L.) and its application to populations from different latitudes and altitudes. *Amphibia-Reptilia* 6: 323-341.
- Iskandar DT. 1998. *Amfibia Jawa dan Bali*. Bogor: Puslitbang Biologi-LIPI. Hlm. 117.
- Khonsue W, Matsui M, Misawa Y. 2000. Age determination by skeletochronology of *Rana nigrovittata*, a frog from tropical forest of Thailand. *Zool Sci* 17: 253-257.
- Kumbar SM, Pancharatna K. 2001. Determination of age, longevity and age at reproduction of the frog *Microhyla ornata* by skeletochronology. *J Biosci* 26(2): 265-270.
- Kurita T, Toda M. 2013. Validation and application of skeletochronology for age determination of the Ryukyu ground gecko, *Goniurosaurus kuroiwa* (Squamata: Eublepharidae). *Asian Herp Res* 4(4): 233-241.
- Leclair R, Castanet J. 1987. A skeletochronological assessment of age and growth in the frog *Rana pipiens* Schreber (Amphibia, Anura) from Southwestern Quebec. *Copeia* (2): 361-369.
- Liao WB, Lu X. 2010. Age and growth of a subtropical high-elevation torrent frog, *Amolops mantzorum*, western China. *J Herp* 44(1): 172-176.
- Phadmacanty NLP, Kurniati H. 2019. Determination of the age of the paddy field frog, *Fejervarya cancrivora* (Anura: Dicroglossidae) by using skeletochronology. *Biodiversitas* 20(9): 1739-1743.
- Sagor ES, Ouellet M, Barten E, Green DM. 1998. Skeletochronology and geographic variation in age structure in the wood frog, *Rana sylvatica*. *J Herp* 32(4): 469-474.
- Sinsch U. 2015. Review: Skeletochronological assessment of demographic life-history traits in amphibians. *Herp J* 25: 5-13.
- Sinsch U, Dehling JM. 2017. Tropical anurans mature early and die young: Evidence from eight Afrotropical *Hyperolius* species and a meta-analysis. *PLoS ONE* 12(2): e0171666.
- Székely D, Székely P, Stănescu F, Cogălniceanu D, Sinsch U. 2018. Breed fast, die young: demography of a poorly known fossorial frog from the xeric Neotropics. *Salamandra* 54(1): 31-44.
- Wagner A, Schabetsberger R, Sztatecsny M, Kaiser R. 2011. Skeletochronology of phalanges underestimates the true age of long-lived Alpine newts (*Ichthyosaura alpestris*). *Herp J* 21: 145-148.
- Wake DB, Castanet J. 1995. A skeletochronological study of growth and age in relation to adult size in *Batrachoseps attenuatus*. *J Herp* 29(1): 60-65.