

Bionatura

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati dan Fisik
Journal of Life and Physical Sciences

Outdoors Batch Cultivation of Marine Microalgae *Nannochloropsis sp.* Using Parallel Glass Tubular Photobioreactor

(Astuti, J.T., Sriwuryandari, L., Priantoro, E.A., and Sembiring T.)

Zonasi Kesesuaian Lahan untuk Pengembangan Tanaman Sorgum Manis (*Sorgum bicolor* (L) Moench) di Kabupaten Sumedang Berdasar Analisis Geologi, Penggunaan Lahan, Iklim, dan Topografi

(Ishak, M., Sudirja, R., dan Ismail, A.)

Pengaruh Kombinasi Abu Vulkanik Merapi, Pupuk Organik dan Tanah Mineral terhadap Sifat Fisiko-Kimia Media Tanam serta Pertumbuhan Tanaman Jagung (*Zea mays* L.)

(Nurlaeny, N., Saribun, D.S., dan Hudaya, R.)

Efektivitas Pemberian Beberapa Jenis dan Dosis Bahan Anestesi pada Prakondisi Kerang *Anodonta woodiana* (Lumenta, C., dan Gybert, M.)

Kestabilan Warna Kurkumin Terenkapsulasi dari Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) dalam Minuman Ringan dan Jelly pada Berbagai Kondisi Penyimpanan

(Tensiska, Nurdin, B., dan Isfron, A.F.)

Aktivitas Insektisida Ekstrak Tumbuhan terhadap *Diaphorina citri* dan *Toxoptera citricidus* serta Pengaruhnya terhadap Tanaman dan Predator

(Syahputra, E., dan Endarto, O.)

Esterifikasi Minyak Kemiri Sunan (*Aleurites trisperma*) dalam Pembuatan Biodiesel

(Djenar, N.S., dan Lintang, N.)

Peranan Vitamin C dan *Acetosyringone* pada Transformasi Genetik Anggrek *Vanda tricolor* Lindl. var. *suavis* melalui *Agrobacterium tumefaciens*

(Dwiyani, R., Purwantoro, A., Indrianto, A., dan Semiarti, E.)

Oncosperma tigillarum merupakan Bagian Palino Karakter Delta Plain di Delta Mahakam, Kalimantan

(Winantris, Syafri, I., dan Rahardjo, A.T.)

Reproduksi Ikan Layur (*Superfamili trichiuroidea*) di Perairan Pelabuhan Ratu, Kabupaten Sukabumi Jawa Barat

(Ernawati, Y., dan Butet, N.A.)

Bionatura	Vol. 14	No. 3	Hal. 164 - 251	November 2012	ISSN 1411 - 0903
------------------	----------------	--------------	---------------------------	--------------------------	-----------------------------

Bionatura

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati dan Fisik
Journal of Life and Physical Sciences

<i>Pembina</i>	: Rektor Universitas Padjadjaran Wakil Rektor I Wakil Rektor II Wakil Rektor III
<i>Penanggung Jawab</i>	: Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Sekretaris Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat
<i>Ketua Dewan Redaksi</i>	: Anas Subarnas
<i>Editor Pelaksana</i>	: Suseno Amien Nenny Nurlaeni Ayi Bahtiar Irna Sufiawati
<i>Anggota</i>	: Camellia Panatarani Diah Chaerani Dicky Muslim Siti Wahyuni Ade M. Kramadibrata Eddy Afrianto Henni Djuhaeni
<i>Pelaksana Tata Usaha</i>	: Suratman Usep Sahrudin
<i>Pembantu Pelaksana Tata Usaha</i>	: U. Santosa Kusumah Deni Rustiandi Rise Eltina Iwa Kartiwa

Alamat Penerbit/Redaksi :

Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Padjadjaran
Gedung Rektorat Lt. IV Jln. Raya Bandung-Sumedang KM. 21 Jatinangor 45363
Tlp. 022-84288812, Fax. 022-84288896 E-mail: jurnalbionatura@yahoo.co.id
Website: www.bionatura.unpad.ac.id

(Terbit tiga kali dalam satu tahun : Maret, Juli, dan November)

Terakreditasi B

Berdasarkan SK Dirjen Dikti Nomor: 110/Dikti/Kep/2009

EFEKTIVITAS PEMBERIAN BEBERAPA JENIS DAN DOSIS BAHAN ANESTESI PADA PRAKONDISI KERANG *Anodonta woodiana*

Lumenta, C., dan Gybert, M.
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Sam Ratulangi
E-mail: cyskaliu@gmail.com

ABSTRAK

Kendala utama produksi mutiara adalah tingginya mortalitas kerang ketika berlangsung proses implantasi. Kerang yang akan diimplantasi untuk budidaya mutiara perlu dikondisikan dalam keadaan yang memudahkan pembukaan cangkangnya. Hingga kini belum tersedia informasi penggunaan anestesi dalam budidaya mutiara air tawar, prinsip-prinsip yang diaplikasikan adalah prinsip yang selama ini berhasil diaplikasikan dalam budidaya mutiara laut. Penelitian untuk menentukan respon kerang terbaik pada beberapa jenis dan dosis minyak bahan anestesi pada prakondisi kerang dilaksanakan di Balai Budidaya Air Tawar (BBAT) Tatelu di Kecamatan Dimembe, Kabupaten Minahasa. Penelitian dirancang menggunakan metode rancangan acak lengkap dengan pola faktorial dengan 2 faktor yaitu jenis dan dosis. Faktor jenis mempunyai 4 taraf yaitu minyak menthol, minyak cengkeh, minyak pala dan minyak sereh dan faktor dosis dengan 3 taraf yaitu 1,5 ml, 2,5 ml dan 3,5 ml, dimana masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Hasil penelitian menunjukkan penggunaan bahan anestesi berupa minyak pala lebih efektif daripada minyak cengkeh, minyak mentol, dan minyak sereh untuk prakondisi (respon waktu relaksasi, waktu pulih dan mortalitas) dan dosis 2,5 ml/L merupakan dosis yang paling efektif.

Kata kunci: bahan dan dosis anestesi, kerang *Anodonta woodiana*, prakondisi

EFFECTIVENESS OF ANESTHETIC MATERIALS AND DOSES ON PRECONDITION OF *Anodonta woodiana* SHELLS

ABSTRACT

The main problem on oysters culture is the high mortality during implantation process. Oysters that will be implanted for cultivation need to be conditioned in a state that facilitates the opening of its shell. Because the information on the use of anesthetics in the cultivation of freshwater oyster is not yet available, the principles used are the principles which have been successfully applied in the cultivation of sea oyster. This study aims to determine the best responses of oysters anesthetic materials and doses at precondition of *Anodonta woodiana* which was done at Freshwater Aquaculture Center (BBAT) Tatelu in District Dimembe, Minahasa Regency. The study was designed by using completely randomized design factorial pattern with two factors: materials and doses. Material factor had 4 degrees: menthol oil, clove oil, nutmeg oil and lemongrass oil. Doses had 3 degrees 1.5 ml, 2.5 ml and 3.5 ml. Each treatment was repeated 3 times. The results showed that the result showed that nutmeg oil was more effective than oil, clove oil, and lemongrass oil for precondition (response, relavation time, recovery, and mortality rate), and the dose of 2.5 ml/L was the most effective.

Key words: materials and dose of anasthetic, *Anodonta woodiana* oyster, precondition

PENDAHULUAN

Kendala utama produksi budidaya mutiara adalah tingginya mortalitas kerang ketika berlangsung proses implantasi. Kegiatan dalam menggerakkan proses ini ditandai mempengaruhi kualitas mutiara yang dihasilkan (Norton *et al.*, 2000). Penggunaan anestesi pada tiram dalam budidaya mutiara

laut ternyata dapat mengurangi kendala tersebut. Sebagaimana halnya tiram, kerang yang akan diimplantasi untuk budidaya mutiara air tawar perlu dikondisikan dalam keadaan yang memudahkan pembukaan cangkangnya.

Hingga kini belum tersedia informasi penggunaan anestesi dalam budidaya mutiara air tawar, karena itu prinsip-prinsip yang dapat

diaplikasikan adalah prinsip yang selama ini berhasil diaplikasikan dalam budidaya mutiara laut. Dalam hal ini, Mamangkey *et al.* (2009) mengaplikasikan pada tiram, bahan-bahan anestesi berupa 2-phenoxyethanol, benzocaine, cairan methol, minyak cengkeh, dan phenoxytol.

Menurut O'Connor & Lawier (2002), penggunaan bahan kimia dapat dilakukan dengan mempertimbangkan resiko pada kerang itu sendiri. Dianjurkan untuk menggunakan bahan anestesi dengan daya larut tinggi dalam air sehingga mempercepat kemampuan rileks kerang. Pada kerang mutiara donor lebih banyak digunakan anestesi dibanding si penerima ketika proses penyisipan inti berupa irisan mantel. Sebagaimana dilaporkan Mamangkey *et al.* (2009), bahan anestesi yang digunakan pada tiram menyebabkan tiram rileks dan meningkatkan waktu di mana tiram dapat digunakan sebagai donor jaringan atau irisan mantel.

Norton *et al.* (2000) mengungkapkan bahwa anestesi dapat menurunkan stres dan mortalitas pada kerang ketika dilakukan implantasi inti mutiara. Perkembangan menunjukkan selain untuk implantasi, anestesi memungkinkan pemindahan lapisan jaringan dari kerang donor ke kerang resipien tanpa membunuh mereka (Acosta-Salmon *et al.*, 2004; Acosta-Salmon dan Southgate, 2005; 2006). Lebih lanjut dinyatakan bahwa secara potensial dengan cara ini mengizinkan pendonor menghasilkan mutiara yang berkualitas tinggi dan donor mutiara yang telah mengalami proses anestesi untuk memindahkan lapisan jaringan (Acosta-Salmon *et al.*, 2004). Pendekatan ini sungguh-sungguh menguntungkan pada industri budidaya mutiara, dan membenarkan penelitian dengan menggunakan anestesi pada kerang mutiara. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan respons kerang terbaik pada beberapa jenis dan dosis minyak bahan anestesi pada prakondisi kerang.

BAHAN DAN METODE

Hewan uji

Kerang yang digunakan sebagai hewan uji, dikumpulkan dari kolam-kolam BBAT Tatelu yang induknya semula berasal dari Danau Tondano. Ukuran kerang untuk penelitian ini berkisar di antara 108-138 mm dan yang belum matang gonad. Seleksi kerang uji dilakukan dari stok yang terkumpul. Dalam hal ini, kerang diangkat dari air untuk melihat apakah masih hidup atau sudah mati, apakah kerang masih segar dan tidak dalam keadaan lemah dan apakah cangkangnya dalam keadaan utuh, tidak dalam keadaan retak atau pecah.

Bahan Anestesi

Bahan uji yang digunakan adalah bahan alami dengan masing-masing empat jenis bahan anestesi dan empat dosis yaitu: minyak mentol, minyak cengkeh, minyak pala, minyak sereh, minyak sereh. Bahan uji efektif digunakan untuk prakondisi. Secara khusus, pembukaan cangkang kerang dapat dimudahkan ketika kerang dianestesi, sehingga memudahkan penanganan kerang dalam proses implantasi.

Wadah Percobaan

Dalam percobaan untuk mengetahui respons dan memilih jenis serta dosis bahan anestesi yang efektif dalam prakondisi, percobaan dilaksanakan dalam loyang plastik berdiameter 50x40x25 cm, volume 30 liter air, sebanyak 12 buah yang dilengkapi dengan blower sebagai aerasi.

Percobaan anestesi pada *Anodonta woodiana* berlangsung pada ruang laboratorium basah di BBAT Tateludan dilaksanakan dalam loyang plastik sebanyak 12 buah. Dalam percobaan yang dirancang secara acak lengkap berpola faktorial ini diuji 2 faktor yaitu jenis bahan anestesi (dengan empat taraf) dan faktor dosis (dengan tiga taraf) sehingga terdapat 12 kombinasi perlakuan jenis dan dosis yang masing-masing diulang tiga kali. Keduabelas kombinasi perlakuan tersebut adalah:

- a. Minyak Sereh dengan dosis anestesi sebanyak 1,5 ml/l
- b. Minyak Sereh dengan dosis anestesi sebanyak 2,5 ml/l
- c. Minyak Sereh dengan dosis anestesi sebanyak 3,5 ml/l
- d. Minyak Cengkeh dengan dosis anestesi sebanyak 1,5 ml/l
- e. Minyak Cengkeh dengan dosis anestesi sebanyak 2,5 ml/l
- f. Minyak Cengkeh dengan dosis anestesi sebanyak 3,5 ml/l
- g. Minyak Menthol dengan dosis anestesi sebanyak 1,5 ml/l
- h. Minyak Menthol dengan dosis anestesi sebanyak 2,5 ml/l
- i. Minyak Menthol dengan dosis anestesi sebanyak 3,5 ml/l
- j. Minyak Pala dengan dosis anestesi sebanyak 1,5 ml/l
- k. Minyak Pala dengan dosis anestesi sebanyak 2,5 ml/L
- l. Minyak Pala dengan dosis anestesi sebanyak 3,5 ml/l

Setiap wadah percobaan diisi air sebanyak 30 liter, diberi bahan anestesi sesuai dengan kombinasi perlakuan yang akan diuji, dan kerang diletakkan sebanyak sembilan individu tiap wadah. Dalam percobaan pertama ini pengamatan dilakukan terutama

terhadap respons kerang (%), waktu relaksasi dan waktu pemulihan atau *recovery* (menit), dan kematian (ekor).

Pengamatan respons dilakukan dengan mencatat lama waktu kerang rileks dan waktu pemulihan. Pengamatan ini berlangsung kurang lebih selama satu jam. Setelah pengamatan selesai kerang dipindahkan pada air normal tanpa perlakuan selama satu jam. Kemudian kerang dimasukkan dengan menggunakan wadah keranjang, sesuai masing-masing perlakuan yang sudah diletakkan di saluran air untuk diamati kelangsungan hidupnya selama satu bulan. Kematian kerang pada masing-masing perlakuan dicatat. Penentuan kombinasi perlakuan yang efektif dalam prakondisi dari *Anodontawoodiana* didasarkan atas besaran respons, panjangnya waktu relaksasi, pendeknya waktu pemulihan, rendahnya kematian, dan berpenampilan normal selama satu bulan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji coba anestesi pada kerang ini menggunakan empat jenis minyak yaitu minyak sereh, minyak cengkeh, minyak menthol, dan minyak pala. Sesuai dengan tiga dosis bahan minyak yang dicobakan, yaitu 1,5 ml/l, 2,5 ml/l, 3,5 ml/l, hasil

Tabel 1. Hasil uji coba penggunaan bahan anestesi pada kerang *A. woodiana* dan pengaruhnya terhadap respons, waktu relaksasi dan waktu pulih, dan mortalitas

Perlakuan	Anestesi Dosis (ml/l)	Rata-rata Respons (%)	Rata-rata Lama Waktu Relaks (Menit)	Rata-rata Lama Waktu Pemulihan (Menit)	Rata-rata Mortalitas (%)
Minyak Sereh	1,5	0	0,00	-	3,70
	2,5	55,56	10,33	10	3,70
	3,5	44,44	14,67	15	14,81
Minyak Cengkeh	1,5	0	0,00	-	7,41
	2,5	3,70	0,00	-	22,22
	3,5	0	0,00	-	11,11
Minyak Menthol	1,5	11,11	10,33	10	3,70
	2,5	22,22	10,00	10	3,70
	3,5	18,52	10,33	10	11,11
Minyak Pala	1,5	44,44	15,33	15	11,11
	2,5	81,48	15,00	5	7,41
	3,5	48,15	15,00	10	14,81

Keterangan: Rata-rata tiga ulangan, sembilan ekor setiap ulangan

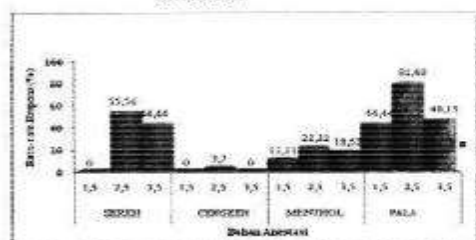
pengamatannya disajikan secara ringkas pada Tabel 1 berikut.

Dari Tabel 1 terlihat respons rata-rata tertinggi kerang *Anodonta woodiana* terdapat pada pemberian anestesi minyak pala dengan dosis 2,5 ml/l, yaitu sebesar 81,5%. Kerang sama sekali tidak memberikan respons pada pemberian minyak serih 1,5 ml/l, minyak cengkeh 1,5 ml/l dan 3,5 ml/l (Gambar 1). Pemberian bahan anestesi berupa minyak serih dengan dosis 1,5 ml/l terhadap kerang, tidak terlihat adanya kerang yang mengalami rileks maupun pemulihan, karena kerang memang tidak memberikan respons. Kejadian yang sama juga diperlihatkan pada pemberian bahan anestesi minyak cengkeh pada dosis 1,5, 2,5 dan 3,5 ml/l. Kecuali pemberian minyak cengkeh dengan dosis 2,5 ml/l.

Pemberian bahan anestesi berupa minyak menthol dan minyak pala pada semua dosis menunjukkan waktu rileks dan waktu pulih yang konsisten. Pemberian minyak menthol dengan dosis yang berbeda mengalami rileks dan waktu pulih yang hampir sama, 10 menit. Pemberian minyak pala pada semua dosis menunjukkan waktu relaks yang relatif sama (15 menit) tetapi beragam dalam waktu pulihnya.

Tingkat mortalitas tertinggi selama satu bulan pemeliharaan terdapat pada pemberian bahan anestesi minyak cengkeh dengan dosis 2,5 ml/l sebanyak 22,22%, sedangkan tingkat mortalitas terendah terdapat pada pemberian bahan anestesi minyak serih dengan dosis 1,5 ml/l dan 2,5 ml/l dan minyak menthol dengan dosis 1,5 ml/l dan 2,5 ml/l dengan tingkat mortalitas rata-rata 11,11%.

Gambar 1. Respons kerang *Anodonta woodiana* terhadap bahan anestesi



Jumlah kerang yang memberikan respons, seperti terlihat dalam Gambar 1, menunjukkan respons individu yang selama satu jam berada dalam wadah percobaan, bereaksi terhadap bahan anestesi sebagaimana diperlihatkan dengan pembukaan cangkangnya. Ternyata minyak pala direspons secara merata oleh kerang yang diuji, dibandingkan bahan anestesi lainnya. Sementara analisis yang dilakukan menunjukkan adanya pengaruh yang nyata dari penggunaan bahan anestesi dan terdapat interaksi antara jenis dan dosis bahan anestesi sebagaimana ditunjukkan oleh responsnya. Meskipun demikian, diantara semua bahan dan dosis anestesi yang dicobakan, ternyata minyak pala dengan dosis 2,5 ml/l memperoleh respons tertinggi (Tabel 1).

Pengamatan lebih jauh mencatat respons kerang terhadap minyak pala dengan dosis 2,5 ml/l, nampaknya terjadi lebih lambat dibandingkan dengan respons dari minyak lainnya yang berbeda baik jenis maupun dosisnya. Dalam hal ini, waktu relaks kerang yang ditandai oleh bukaan cangkangnya, berlangsung rata-rata 15 menit setelah dimasukkan ke wadah percobaan, yang kemudian diikuti dengan waktu terecepat dalam pemulihannya ketika dipindahkan ke wadah yang tanpa bahan anestesi.

Sebagai rangkaian dalam uji coba ini, pengamatan umum dilakukan pula untuk mengetahui keadaan kerang setelah menerima bahan anestesi. Selama sebulan, kerang yang telah pulih dan bertahan hidup dipelihara dalam penampungan stok kerang percobaan. Hasilnya, sebagian besar ditandai hidup (Tabel 2). Dari kelompok kerang yang semula teranestesi dengan minyak pala berdosisi 2,5 ml/l, ditemukan hanya satu individu yang mengalami kematian, suatu jumlah yang relatif terkecil dibandingkan dengan kelompok kerang yang semula teranestesi dan berespons dengan bahan yang dicobakan lainnya.

Dalam budidaya kerang atau tiram mutiara, bahan anestesi digunakan untuk membius agar cangkangnya terbuka guna memudahkan penempatan inti atau iritan. Sejauh penelusuran pustaka yang dilakukan, penggunaan bahan anestesi terhadap

kerang *A. woodiana* ternyata belum pernah dilakukan dan disajikan publikasinya. Dalam hal ini, uji coba yang dilakukan sesungguhnya mengacu pada aplikasi teknis yang dikerjakan pada tiram mutiara air laut, terutama anjuran yang diajukan Norton *et al.* (2000) untuk menggunakan bahan alam (minyak cengkeh dan menthol) dengan dosis rendah.

Tabel 2. Rata-rata jumlah kerang yang memberikan respons pada setiap kombinasi jenis dan dosis bahan anestesi

Jenis Bahan Anestesi	Dosis (ml/l)		
	1,5	2,5	3,5
Minyak Serih	0,028 a A	55,56 c C	44,44 b C
Minyak Cengkeh	0,028 a A	3,70 a A	0,028 a A
Minyak Menthol	11,11 a B	22,22 b B	18,52 b B
Minyak Pala	44,44 a C	81,48 b D	48,15 a C

Keterangan: Nilai dengan huruf kecil yang sama (arah baris) dan huruf besar yang sama (arah kolom) menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5%.

Sebagaimana ditegaskan Martins-Sousa *et al.* (2001) setelah menelaah sejumlah sumber, beragam efek yang dialami moluska atas pengaruh bahan anestesi, ditentukan oleh jenis, konsentrasi, dan waktu eksposisi. Demikian halnya dengan spesies moluska. Jenis moluska dari genus *Biompharia* mengalami pengaruh anestesi dari Cetamine berkonsentrasi 0,25 mg/ml air. Seperti juga Mamangkey *et al.* (2009), minyak cengkeh digunakan Bilbao *et al.* (2010) sebagai bahan anestesi pada abalone, meskipun keduanya menandai ketidakefektifan dari minyak ini.

Keberhasilan dan kegagalan ternyata dialami ketika menggunakan bahan anestesi. Hal ini terungkap dari beberapa informasi terkait dengan upaya meningkatkan efisiensi budidaya mutiara air laut. Kegagalan dilaporkan pada tiram *Pinctada margaritifera*, ketika untuk memudahkan penyisipan inti, digunakan 2 ml/l phenoxetal propilena selama 15 menit yang setelah pemeliharaan

mengalami mortalitas secara signifikan. Selanjutnya Norton *et al.* (1996) dan O'Connor dan Lawier (2002) melaporkan keberhasilan menggunakan propylene phenoxetol dengan konsentrasi 2-3 ml/l pada jenis tiram *Pinctada albina*, *P. ambricata*, *P. margaritifera*, dan *P. maxima*. Demikian pula dengan menggunakan Benzocaine pada konsentrasi 1200mg/L yang diujicobakan pada *P. albina*, *P. margaritifera*, *P. facata*, sama berhasilnya dalam menurunkan relaksasi pada periode pendek (Acosta-Salmon *et al.*, 2005).

Minyak pala dikenal selama ini sebagai salah satu minyak astiri yang dihasilkan dari destilasi uap atas daging dan/atau biji buah pala. Martins-Sousa *et al.* (2001) menyatakan komponen utama minyak pala adalah miristisin yang bersifat racun dan mempunyai efek narkotika. Selengkapnya, aroma minyak pala mengandung *d-camphene*, *d-pinene*, *limonene*, *d-borneol*, *l-terpineol*, *geraniol*, *safrol*, dan *myristicin*. Dengan demikian, relaksasi dapat berlangsung pada kerang yang ditelaah ini sebagai tanggapan atas sifat dan efek minyak pala tersebut.

SIMPULAN

Bahan anestesi minyak pala dapat digunakan untuk memudahkan penempatan iritan pada kerang *Anodonta woodiana*. Minyak pala direspon secara merata oleh kerang yang di uji dibandingkan dengan bahan anestesi yang lain. Minyak pala dengan dosis 2,5 ml/L memperoleh respon tertinggi oleh kerang *Anodonta woodiana*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kepala Balai Budidaya Air Tawar (BBAT) Tatelu, Dr. Ir. Amin Setiawan, M.S., Prof. Dr. Sukaya Sastrawibawa, SU., Amrih Joko W. M.P., Dr. Ir. Gybert Mamuaya, DAA, Ir. Jhonly Solang

DAFTAR PUSTAKA

Acosta-Salmon, H., E. Martinez-Fernandez, & P.C. Southgate. 2004. A new approach to pearl oyster broodstock

- selection: can saibo donors be used as future broodstock. *Aquaculture* 231(1-4), 205-214.
- Acosta-Salmon, H. & P.C. Southgate. 2005. Mantle regeneration in the pearl oysters *Pinctada fucata* and *Pinctada margaritifera*. *Aquaculture* 246(1-4):447-453.
- Acosta-Salmon, H. & P.C. Southgate. 2006. Wound healing after excision of mantle tissue from the Akoya pearl oyster, *Pinctada fucata*. *Comp. Biochem. Physiol.* 143:264-268.
- Bilbao, A., B. Sosa, H.P. Palacios & M.D.C. Hernandez. 2010. Efficiency of clove oil as anesthetic for Abalone (*Haliotis Tuberculata* Coccinea, Revcc). *Journal of Shellfish Research* 29(3):679-682.
- Mamangkey, N.G.F. & P.C. Southgate. 2009. Regeneration of excised mantle tissue by the silver-lip pearl oyster, *Pinctada maxima* (Jameson). *Fish and Shellfish Immunology* 27, 164-174.
- Martins-Sousa, R.L., D. Negrao-Correa, F.S.M. Bezerra & P.M.Z Coelho. 2001. Anesthesia of *Biomphalaria* spp. (Mollusca, Gastropoda): Sodium pentobarbital is the drug of choice. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* 96(3):391-392.
- Norton, J.H., J.S. Lucas, I. Turner, R.J. Mayer, & R. Newnham. 2000. Approaches to improve cultured pearl formation in *Pinctada margaritifera* through use of relaxation, antiseptic application and incision closure during bead insertion. *Aquaculture* 184, 1-17.
- O'Connor, W.A., & N.F. Lawler. 2002. Propylene phenoxetol as a relaxant for the pearl oysters *Pinctada imbricata* and *Pinctada albina*. *Asian Fish. Sci.* 15, 51-57.