

SKRIPSI

**EFEK PEMAPARAN INSEKTISIDA KARBOFURAN
PADA MASA EMBRIONAL TERHADAP
PERKEMBANGAN TULANG AYAM**



Oleh :

ERLIN DYAH PURWANTININGSIH
TUBAN - JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2004**

**EFEK PEMAPARAN INSEKTISIDA KARBOFURAN
PADA MASA EMBRIONAL TERHADAP
PERKEMBANGAN TULANG AYAM**

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk menempuh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

Pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh

ERLIN DYAH PURWANTINGSIH

NIM. 060132972

Menyetujui,

Komisi Pembimbing,



Tatik Hernawati, M.Si., Drh

Pembimbing Pertama



Sri Pantja Madyawati, M.Si., Drh

Pembimbing Kedua

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar **SARJANA KEDOKTERAN HEWAN.**

Menyetujui

~~Panitia Penguji,~~



Rudy Soekamto S, M.Sc., Drh.

Ketua



Epy Mohamad Luqman, M.Si., Drh.

Sekretaris



Nove Hidajati, M.Kes., Drh.

Anggota



Tatik Hernawati, M.Si., Drh.

Anggota



Sri Pantja Madyawati, M.Si., Drh.

Anggota

Surabaya, 29 Oktober 2004

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



Prof. Dr. Ismudiono, M.S., Drh.

NIP 130687297

EFEK PEMAPARAN INSEKTISIDA KARBOFURAN PADA MASA EMBRIONAL TERHADAP PERKEMBANGAN TULANG AYAM

Erlin Dyah Purwantiningsih

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui efek dari pemaparan insektisida karbofuran pada masa embrional terhadap perkembangan tulang ayam umur satu hari dan dua minggu.

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap yang terbagi menjadi tiga macam perlakuan (P0, P1, P2) dan 10 ulangan. Sejumlah 60 butir telur ayam bertunas (TAB) dari strain ayam pedaging (broiler) yang belum diinkubasi dengan berat telur rata-rata 62,04 gram, masing-masing disuntik dengan karbofuran dengan dosis 0,0106 mg / butir untuk P1 dan 0,0127 mg / butir untuk P2 yang dilarutkan dalam 0,1 ml aquabidestilata steril. Sementara P0 disuntik dengan aquabidestilata steril sebanyak 0,1 ml. Karbofuran disuntikkan pada kuning telur menggunakan *syringe disposable*. Sebelum penyuntikan, kulit dilubangi pada bagian yang tumpul sekitar perbatasan kantung udara dengan bor listrik berukuran 1mm. Selanjutnya telur diinkubasi menggunakan inkubator listrik selama 21 hari. Koleksi sampel dilakukan setelah ayam berumur satu hari dan dua minggu kemudian dilakukan pewarnaan Alizarin untuk melihat kelainan tulang. Data kemudian dianalisis dengan menggunakan Chi Square.

Hasil penelitian pada ayam umur satu hari menunjukkan fusi vertebrae cervikalis, jumlah costae, jumlah tulang phalank yang tidak berbeda nyata ($p > 0,05$), sedangkan jumlah procesus uncinatus menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$). Untuk ayam umur dua minggu menunjukkan fusi vertebrae cervikalis, jumlah costae, jumlah tulang phalank yang tidak berbeda nyata ($p > 0,05$), sedangkan jumlah procesus uncinatus menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$).

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tulisan ini sebagai persyaratan penyelesaian pendidikan Sarjana Kedokteran Hewan di Universitas Airlangga.

Dengan penuh rasa hormat dan penghargaan, penulis menyampaikan rasa terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Dr. Ismudiono, M.S., Drh. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
2. Ibu Tatik Hernawati, M.Si., Drh. selaku dosen pembimbing pertama dan Ibu Sri Pantja Madyawati M.Si., Drh. selaku dosen pembimbing kedua yang telah banyak memberikan bimbingan dan nasihat selama penelitian sampai penyelesaian skripsi.
3. Bapak Rudy Soekamto S, M.Sc., Drh dan Ibu Nove Hidajati, M.Kes., Drh. selaku dosen penguji, terimakasih atas bimbingannya dalam perbaikan skripsi ini.
4. Kepala dan staf laboratorium Embriologi yang telah menyediakan tempat dan peralatan selama penelitian.
5. Bapak Epy Mohamad Luqman M.Si., Drh beserta keluarga yang telah memberikan bimbingan serta bantuan yang tidak terbatas kepada penulis
6. Bapak, Ibu, adik serta keluarga besar di Tuban yang telah memberikan dukungan, doa, cinta dan kasih sayangnya kepada penulis selama ini.
7. Teman-teman serta sahabat Mbak Reny, Mbak Utin, Mbak Susi, Rike, Bona, Ira karo-karo, Asnah, Dian, Ely, Bangun, Badrul, Rosyidah, Mas

Slamet dan yang tercinta Mas Mamat atas dukungan, doa dan cintanya selama ini.

8. Teman-teman transfer 97, teman-teman angkatan 99, Pak Karjono serta semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu per satu yang telah membantu hingga selesainya tulisan ini.

Penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna, ibaratnya tak ada gading yang tak retak. Oleh karena itu segala saran dan kritik sangat penulis harapkan. Akhir kata semoga tulisan ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak.

Surabaya, Oktober 2004

Penulis

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|---------------------------------------|---------|
| DAFTAR TABEL..... | ix |
| DAFTAR GAMBAR..... | x |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | xi |
| BAB I. PENDAHULUAN..... | 1 |
| 1.1. Latar Belakang..... | 1 |
| 1.2. Rumusan Masalah..... | 2 |
| 1.3. Landasan Teori..... | 3 |
| 1.4. Tujuan Penelitian..... | 4 |
| 1.5. Hipotesis..... | 4 |
| 1.6. Manfaat Penelitian..... | 4 |
| BAB II. TINJAUAN PUSTAKA..... | 5 |
| 2.1. Insektisida Karbofuran..... | 5 |
| 2.2. Embriogenesis pada Ayam..... | 7 |
| 2.3. Osifikasi Tulang..... | 12 |
| 2.4. Mekanisme Kerja Teratogen..... | 14 |
| BAB III. MATERI DAN METODE..... | 18 |
| 3.1. Tempat dan Waktu Penelitian..... | 18 |
| 3.1.1. Tempat Penelitian..... | 18 |
| 3.1.2. Waktu Penelitian..... | 18 |
| 3.2. Materi Penelitian..... | 18 |

| | |
|---|-----------|
| 3.2.1. Bahan Penelitian..... | 18 |
| 3.2.2. Alat Penelitian..... | 18 |
| 3.3. Metode Penelitian..... | 19 |
| 3.3.1. Penentuan Dosis..... | 19 |
| 3.3.2. Perlakuan..... | 20 |
| 3.3.3. Rancangan Penelitian..... | 21 |
| 3.4. Peubah yang Diamati | 21 |
| 3.5. Analisis Hasil | 22 |
| BAB IV. HASIL PENELITIAN | 23 |
| 4.1. Hambatan Perkembangan Tulang Ayam Umur Satu Hari..... | 23 |
| 4.1.1. Tulang Vertebrae Cervikalis..... | 23 |
| 4.1.2. Tulang Costae..... | 24 |
| 4.1.3. Prosesus Uncinatus..... | 25 |
| 4.1.4. Tulang Phalank..... | 26 |
| 4.2. Hambatan Perkembangan Tulang Ayam Umur Dua Minggu..... | 27 |
| 4.2.1. Tulang Vertebrae Cervikalis..... | 27 |
| 4.2.2. Tulang Costae..... | 28 |
| 4.2.3. Prosesus Uncinatus..... | 29 |
| 4.2.4. Tulang Phalank..... | 30 |
| BAB V. PEMBAHASAN..... | 31 |
| 5.1. Hambatan Perkembangan Tulang Ayam Umur Satu Hari..... | 31 |
| 5.2. Hambatan Perkembangan Tulang Ayam Umur Dua Minggu..... | 34 |

| | |
|---|-----------|
| BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN | 38 |
| 6.1. Kesimpulan | 38 |
| 6.2. Saran..... | 38 |
| RINGKASAN | 39 |
| DAFTAR PUSTAKA | 41 |
| LAMPIRAN..... | 46 |

DAFTAR TABEL

| | Halaman |
|---|---------|
| Tabel 1. Dosis Furadan 3G dan Survival Rate setelah 10 Hari Inkubasi | 20 |
| Tabel 2. Abnormalitas Vertebrae Cervikalis pada Ayam Umur Satu Hari..... | 23 |
| Tabel 3. Abnormalitas Tulang Costae pada Ayam Umur Satu Hari..... | 24 |
| Tabel 4. Abnormalitas Prosesus Uncinatus pada Ayam Umur Satu Hari..... | 25 |
| Tabel 5. Abnormalitas Tulang Phalank pada Ayam Umur Satu Hari..... | 26 |
| Tabel 6. Abnormalitas Vertebrae Cervikalis pada Ayam Umur Dua Minggu | 27 |
| Tabel 7. Abnormalitas Tulang Costae pada Ayam Umur Dua Minggu..... | 28 |
| Tabel 8. Abnormalitas Prosesus Uncinatus pada Ayam Umur Dua Minggu | 29 |
| Tabel 9. Abnormalitas Tulang Phalank pada Ayam Umur Dua Minggu..... | 30 |

DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|---|---------|
| Gambar 1. Struktur Kimia Karbofuran | 6 |
| Gambar 2. Perkembangan Embrio Ayam setelah Inkubasi 24 jam | 11 |
| Gambar 3. Fusi Vertebrae Cervikalis Ayam Umur Satu Hari (P0)..... | 23 |
| Gambar 4. Fusi Vertebrae Cervikalis Ayam Umur Satu Hari (P1)..... | 23 |
| Gambar 6. Fusi Vertebrae Cervikalis Ayam Umur Satu Hari (P2)..... | 23 |
| Gambar 7. Jumlah Tulang Costae Ayam Umur Satu Hari (P0)..... | 24 |
| Gambar 8. Jumlah Tulang Costae Ayam Umur Satu Hari (P1)..... | 24 |
| Gambar 9. Jumlah Tulang Costae Ayam Umur Satu Hari (P2)..... | 24 |
| Gambar 10. Jumlah Prosesus Uncinatus Ayam Umur Satu Hari (P0)..... | 25 |
| Gambar 11. Jumlah Prosesus Uncinatus Ayam Umur Satu Hari (P1)..... | 25 |
| Gambar 12. Jumlah Prosesus Uncinatus Ayam Umur Satu Hari (P2)..... | 25 |
| Gambar 13. Jumlah Tulang Phalank Ayam Umur Satu Hari (P0)..... | 26 |
| Gambar 14. Jumlah Tulang Phalank Ayam Umur Satu Hari (P1)..... | 26 |
| Gambar 15. Jumlah Tulang Phalank Ayam Umur Satu Hari (P2)..... | 26 |
| Gambar 16. Jumlah Tulang Costae Ayam Umur Dua Minggu (P0)..... | 28 |
| Gambar 17. Jumlah Tulang Costae Ayam Umur Dua Minggu (P1)..... | 28 |
| Gambar 18. Jumlah Tulang Costae Ayam Umur Dua Minggu (P2)..... | 28 |
| Gambar 19. Jumlah Prosesus Uncinatus Ayam Umur Dua Minggu (P0)..... | 29 |
| Gambar 20. Jumlah Prosesus Uncinatus Ayam Umur Dua Minggu (P1)..... | 29 |
| Gambar 21. Jumlah Prosesus Uncinatus Ayam Umur Dua Minggu (P2)..... | 29 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | Halaman |
|---|---------|
| Lampiran 1. Penghitungan Dosis Karbofuran | 46 |
| Lampiran 2. Pewarnaan Allizarin Red S | 49 |
| Lampiran 3. Data dan Penghitungan Statistik Kejadian Fusi Vertebrae Cervikalis pada Ayam Umur Satu Hari..... | 50 |
| Lampiran 4. Data dan Penghitungan Statistik Jumlah Tulang Costae pada Ayam Umur Satu Hari | 52 |
| Lampiran 5. Data dan Penghitungan Statistik Jumlah Prosesus Uncinatus pada Ayam Umur Satu Hari..... | 54 |
| Lampiran 6. Data dan Penghitungan Statistik Jumlah Tulang Phalank pada Ayam Umur Satu Hari | 56 |
| Lampiran 7. Data Kejadian Fusi Tulang Vertebrae Cervikalis pada Ayam Umur Dua Minggu | 58 |
| Lampiran 8. Data dan Penghitungan Statistik Jumlah Tulang Costae pada Ayam Umur Dua Minggu..... | 59 |
| Lampiran 9. Data dan Penghitungan Statistik Jumlah Prosesus Uncinatus pada Ayam Umur Dua Minggu..... | 62 |
| Lampiran 10. Data Jumlah Tulang Phalank pada Ayam Umur Dua Minggu..... | 63 |

BAB I
PENDAHULUAN

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Penggunaan insektisida dewasa ini sudah semakin luas, terutama pada sektor pertanian. Insektisida yang masuk ke dalam ekosistem pertanian selain mempunyai dampak positif juga menimbulkan dampak negatif. Keracunan dan pencemaran lingkungan pertanian adalah dampak yang paling mudah diamati dan sering terjadi, disamping itu juga dapat berakibat fatal bagi kesehatan manusia (Soepeno, 1989). Residu yang terjadi akibat penggunaan jangka panjang akan mengakibatkan perubahan keseimbangan ekosistem dikarenakan terbunuhnya organisme bukan sasaran insektisida (Lu, 1995).

Berdasarkan senyawa bahan aktifnya insektisida dibagi menjadi tiga golongan, yaitu: organoklorin, organofosfat, dan karbamat (Saleh, 1991). Golongan karbamat seperti karbaril dan karbofuran banyak digunakan dalam bidang pertanian karena efek toksiknya lebih rendah di bandingkan dengan golongan lainnya (Natawigena, 1989). Burung sebagai salah satu komponen ekosistem memiliki kepekaan yang lebih tinggi, manifestasinya berupa tingkat kematian yang tinggi akibat keracunan dan dalam jangka yang panjang berpotensi menimbulkan kelainan perkembangan seperti mikromelia, paruh bengkok, pertumbuhan bulu yang abnormal, serta kelainan rangka (Hoffman and Eastin, 1981).

Karbofuran mempunyai mekanisme kerja menghambat aktifitas kolinesterase (ChE) pada sistem saraf manusia, vertebrata dan serangga

(Anonimus, 2003¹). ChE merupakan enzim yang berperan dalam hidrolisis neurotransmitter achethylcholine menjadi choline dan asam asetat serta terlibat dalam mekanisme regulasi, proliferasi, dan diferensiasi sel (Anonimus, 2003²). Menurut Saleh (1991), golongan karbamat berfungsi sebagai penghambat enzim ChE dapat berpengaruh terhadap kerusakan embrio pada fase prenatal, sistem reproduksi, sistem pencernaan, perubahan mutagenik, perubahan teratogenik dan lain-lain. Menurut Hill (1992), banyak penelitian menunjukkan bahwa substansi yang mengandung anti ChE menghasilkan kelainan sistem skeletal, seperti skoliosis servikal atau yang disebut teratogenik tipe II dan fusi dari beberapa vertebrae.

1.2. Rumusan Masalah

Dari latar belakang yang telah disampaikan di atas dapat dikemukakan beberapa rumusan masalah, yaitu:

1. Apakah terdapat kelainan perkembangan tulang ayam umur satu hari akibat pemaparan karbofuran pada masa embrional.
2. Apakah terdapat kelainan perkembangan tulang ayam umur dua minggu akibat pemaparan karbofuran pada masa embrional.

1.3. Landasan Teori

Karbofuran memiliki mekanisme kerja menghambat aktifitas cholinesterase (ChE). ChE merupakan enzim yang berperan dalam hidrolisis neurotransmitter acetylcholine menjadi choline dan asam asetat serta terlibat dalam mekanisme regulasi, proliferasi dan diferensiasi sel (Weiss *et al.*, 1996 ; Brimjoin and Koenigsberger, 1999). Perkembangan berbagai organ selama embriogenesis merupakan suatu rangkaian tingkatan yang dikontrol dengan tepat dalam waktu dan ruang. Sel asal akan menyebar sedikit demi sedikit dan pada waktu penyebaran itu diikuti oleh berbagai kejadian hingga terbentuk suatu susunan jaringan yang teratur dengan ukuran dan fungsi yang spesifik. Selain dikendalikan oleh faktor genetik, penyebaran sel embrionik tergantung dari interaksi antar sel termasuk di antaranya fungsi dari berbagai enzim sebagai induktor yang salah satunya adalah cholinesterase.

Salah satu dari kejadian teratogenik yang paling sering dan mudah untuk diamati adalah hambatan perkembangan tulang (Karnofsky, 1964). Kejadian ini meliputi mikromelia, paruh bengkok, fusi pada bagian vertebrae. Hal ini telah banyak dibuktikan dari banyak penelitian eksperimental yang menyatakan bahwa substansi yang mengandung anti ChE menghasilkan kelainan skeletal seperti skoliosis servikal atau yang biasa disebut dengan teratogenik tipe II dan fusi dari beberapa vertebrae (Karnofsky 1964; Misawa *et al.*, 1981; Hill. 1992).

1.4. Hipotesis

1. Terdapat kelainan perkembangan tulang ayam umur satu hari akibat pemaparan karbofuran pada masa embrional.
2. Terdapat kelainan perkembangan tulang ayam umur dua minggu akibat pemaparan karbofuran pada masa embrional.

1.5. Tujuan Penelitian

Bertolak dari permasalahan di atas, maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui:

1. Kelainan perkembangan tulang ayam umur satu hari akibat pemaparan karbofuran pada masa embrional.
2. Kelainan perkembangan tulang ayam umur dua minggu akibat pemaparan karbofuran pada masa embrional.

1.6. Manfaat Penelitian

Dari penelitian ini didapatkan kelainan-kelainan perkembangan tulang ayam baik umur satu hari maupun dua minggu, jika hal ini terjadi di alam maka burung-burung akan kesulitan dalam beraktifitas, misalnya terbang, mencari makan maupun bereproduksi sehingga populasi burung akan punah. Hal ini mengakibatkan ketidakseimbangan ekosistem di alam. Dari uraian-uraian di atas diharapkan masyarakat tahu akan dampak negatif yang ditimbulkan akibat penggunaan karbofuran, sehingga masyarakat akan lebih berhati-hati dalam menggunakan insektisida jenis karbofuran.

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Insektisida Karbofuran

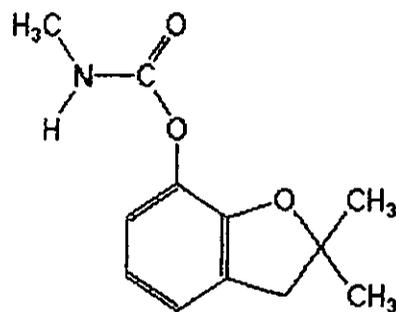
Karbofuran digunakan secara luas di Amerika Serikat (AS) sebagai insektisida pada tanaman jagung, alfalfa, padi, gandum, kentang, anggur dan tembakau. Insektisida karbofuran merupakan insektisida yang efektif menghambat ChE pada sistem saraf serangga. Karbofuran sangat toksik bila terpapar secara oral dan inhalasi, tetapi tidak terlalu toksik bila terabsorpsi melalui kulit. Kematian burung-burung pemakan serangga biasanya secara inhalasi dan kematian burung tersebut akibat keracunan karbofuran lebih besar dibandingkan insektisida jenis lain (Anonimus, 2003²).

Karbofuran merupakan insektisida dan nematosida yang telah digunakan sejak 1965. Terdapat dua bentuk karbofuran yaitu granul dan cair, bentuk granul yang banyak mengakibatkan kematian burung. Waktu paruh karbofuran di dalam tanah berkisar antara 30 – 120 hari dan dalam tanah akan di degradasi secara hidrolisis dan biodegradasi. Karbofuran larut dalam air dan lebih mudah mencemari tanah serta sangat potensial mencemari air tanah yang dapat dideteksi melalui air permukaan. Karbofuran yang tidak stabil dalam lingkungan air namun dapat terakumulasi dalam tubuh ikan dan berbeda toksisitasnya pada masing-masing invertebrata (Anonimus, 2000³).

Di dalam tanah biodegradasi karbofuran dipengaruhi oleh penguapan, tipe dan kelembaban tanah, absorpsi, temperatur, pH, fotodekomposisi dan degradasi

mikrobal. Mikroorganisme tanah dapat memetabolisme karbofuran dan dapat dengan mudah menyesuaikan diri dengan metabolitnya, namun metabolit pada dosis yang tinggi dapat mempengaruhi mikroflora tanah dan toksik pada cacing (Anonimus, 2000³).

Metabolisme karbofuran pada dasarnya sama pada mamalia, serangga dan tumbuh-tumbuhan. Karbofuran dapat melakukan penetrasi melalui saluran pernapasan, selaput mukosa, kulit dan melalui saluran pencernaan. Metabolisme karbofuran sangat cepat dan sebagian besar dikeluarkan melalui urin (Anonimus, 2003).



Gambar 1. Struktur kimia karbofuran dengan nama kimia : 2,3-Dihydro-2,2-dimethyl-7-benzofuranol methylcarbamate (Sumber : Anonimus, 2003⁵).

Toksisitas akut karbofuran dilaporkan pada beberapa spesies dengan masing-masing LD₅₀ : 6,4 – 14,1 mg/kg pada tikus; 18,5 mg/kg pada anjing dan 25 – 38,5 mg/kg pada ayam (Anonimus, 2003³). Mencit kurang sensitif terhadap toksisitas karbofuran dengan LD₅₀ antara 250 – 500 mg/kg. Efek letal karbofuran terutama disebabkan hambatan secara langsung terhadap ChE yang menyebabkan kegagalan respirasi. Tanda-tanda dan gejala dari keracunan karbofuran terjadi dalam beberapa menit setelah terpapar langsung karbofuran tanpa melalui aktifitas

metabolisme, sehingga terjadi inkoordinasi saraf yang pada akhirnya mengakibatkan kegagalan respirasi (Anonimus, 2003³).

Karbofuran memberikan efek toksik pada fetus tikus dengan dosis 5 mg/kg yang dipaparkan pada hari kebuntingan ke 7 – 19 mengakibatkan penurunan jumlah fetus hidup per litter dan menurunkan bobot fetus. Pada kelinci karbofuran dipaparkan dengan dosis 0,12 – 2 mg/kg pada hari kebuntingan ke 6 – 18 tidak didapatkan perbedaan terhadap jumlah fetus, bobot fetus dan abnormalitas secara genetis (Anonimus, 2003³).

Pemaparan karbofuran pada kelinci dengan dosis 1/100 – 1/10 dari LD₅₀ dapat menurunkan bobot badan dan jumlah spermatozoa (Yousef *et al.*, 1995), sedang pada tikus dengan dosis 0,2 – 0,8 mg/kg dapat menurunkan bobot epididimis, vesikula seminalis dan prostata. Penurunan ini juga diikuti dengan penurunan motilitas spermatozoa, jumlah spermatozoa dalam epididimis, enzim sorbitol dehydrogenase (SDH), glukosa 6-p-dehydrogenase, laktat dehydrogenase (LDH), gamma glutamyl transpeptidase dan abnormalitas morfologi spermatozoa (Pant *et al.*, 1995).

2.2 Embriogenesis pada Ayam

Pertumbuhan dan perkembangan embrio ayam hampir seluruhnya terjadi di luar tubuh induk. Sumber makanan yang digunakan oleh embrio untuk pertumbuhan dan perkembangannya selama proses inkubasi berasal dari zat makanan yang terkandung dalam bagian telur. Perkembangan embrio terus berlangsung selama dalam organ reproduksi ayam betina. Bila telur keluar dari

kloaka dan berada pada kondisi lingkungan suhu rendah maka perkembangan embrio akan terhenti. Masa ini disebut dengan masa dormansi (istirahat). Bila masa dormansi terlalu lama embrio tidak mampu berkembang lagi dan mengalami autolisis. Embrio akan berkembang sempurna bila kondisi lingkungan pada suhu yang sesuai sekitar 39°C (Poernomo dkk., 2003).

Pembelahan berlangsung setelah terbentuknya zigot yang diawali dengan proses fertilisasi. Pembelahan sel terjadi di daerah berbentuk cakram yang disebut dengan *blastodisc*. Daerah ini terletak di *animal pole* tepat di atas *nucleus of Pander* dengan diameter terbesar perkembangannya 2 mm. Pada bagian tengah *blastodisc* berwarna terang (hipoblast) sedang bagian tepi yang disebut area marginal (periblast) berwarna gelap. Periblast merupakan gabungan dari bagian perifer (tepi) *blastodisc* dengan *yolk* (Poernomo dkk., 2003; Anonimus, 2003⁵).

Pembelahan pertama diawali dengan pembentukan sebuah lekukan kecil pada bagian tengah dan membelah secara meridional. Biasanya berlangsung 5 jam setelah fertilisasi dan disebut fase 2 sel. Pembelahan ke dua biasanya berlangsung 20 menit setelah pembelahan pertama dan tegak lurus dengan bidang pembelahan pertama dan fase ini disebut fase 4 sel. Pembelahan ke tiga berjalan simultan sejajar dengan pembelahan pertama tegak lurus dengan bidang pembelahan ke dua. Pembelahan ke empat berjalan simultan sejajar dengan bidang pembelahan ke dua tegak lurus dengan bidang pembelahan ke tiga. Pembelahan ke lima arahnya melingkar (Poernomo dkk., 2003).

Terjadinya pembelahan terus-menerus di daerah *animal pole* menyebabkan sel blastomer terdesak dan terjadi gaya epiboli yaitu peluncuran sel blastomer ke

arah kanan dan kiri menuju *vegetal pole*. Desakan sel berjalan terus mengakibatkan bagian tengah terangkat karena gaya angkat dari bawah dan membentuk atap yang terdiri dari lapisan tipis blastomer sedang bagian dasar merupakan *yolk*. Lapisan tipis yang terdiri dari sel blastomer ini disebut blastoderm. Area sel blastoderm yang masih melekat dengan *yolk* disebut *zone of junction*. Akhir pembelahan ditandai dengan pembentukan rongga blastosul. Periode ini disebut dengan periode blastulasi (Poernomo dkk., 2003; Anonimus, 2003⁵).

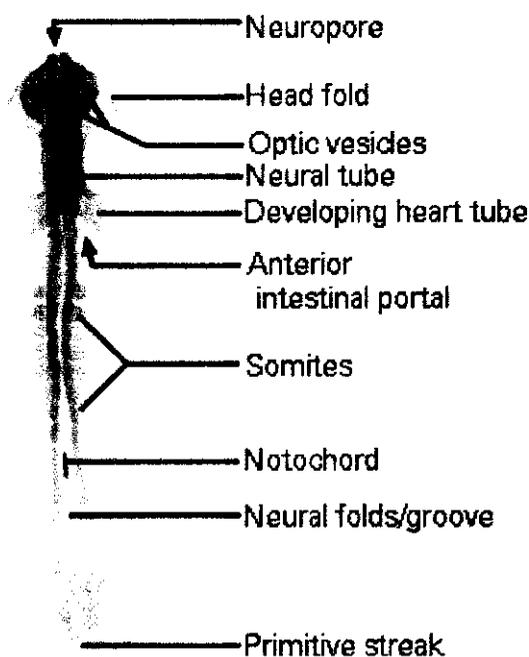
Pada periode gastrulasi pembelahan sel masih terjadi pada daerah *zone of junction*. Karena perkembangan jumlah sel blastomer maka terjadi pertumbuhan pada bagian ini yang disebut *margin of overgrowth*. Jika pada *margin of overgrowth* masih tetap terjadi proses pembelahan maka terjadi proses invaginasi. Proses invaginasi merupakan proses penting pada periode gastrulasi. Pada awal proses invaginasi, lapisan blastoderm yang berada di bawah *yolk* membentuk celah pada blastosul. Kemudian celah ini meluas dan berlanjut yang mengawali proses invaginasi. *Axial gradien* yang terdapat pada saat mitosis menyebabkan potensial organizer yang menekan *margin of overgrowth* dan terus ke *zone of junction* sehingga terjadi perpindahan titik tekan. Karena tekanan yang maksimal dari *margin of overgrowth* dan *zone of junction* akibatnya terjadi delaminasi entoderm. Bila ditilik dari titik tekan maka terjadi perpindahan dari organizer primer pada animal pole menuju organizer sekunder pada *margin of overgrowth* dan *zone of junction*. Blastoderm bagian bawah *yolk* mengalami delaminasi pada *zone of junction* sehingga bagian tengah terpisah membentuk blastosul dan

gastrosul. Bagian periphere disebut area opaca yang merupakan bagian ekstra embrional dan kaya akan pulau-pulau darah, sedang bagian tengah disebut area pellusida yang merupakan bagian intra embrional. Pada akhir proses ini terbentuk lapisan endoderm, mesoderm dan ektoderm serta rongga gastrosul (Archenteron) (Poernomo dkk., 2003).

Telur yang diinkubasi 16 jam akan membentuk *primitive streak*. Struktur pada awal blastula terdapat celah menuju posterior disebut dengan *primitive groove* yang diapit oleh dua buah sisi yang disebut *primitive ridges*. Bagian posterior disebut *primitive plate*, sedang bagian anterior terdapat bentukan seperti pita disebut *primitive pit*. Bagian anterior *primitive streak* tumbuh sebuah bentukan disebut *Hensen's node* (simpul Hensen) yang dijadikan indikasi dimulainya perkembangan saraf di daerah kepala. Di dekat simpul Hensen terjadi peluncuran mesoderm dari lateral ke medial kemudian ke lateral lagi yang disebut *somite mesoderm*. *Somite mesoderm* mulai dibentuk setelah inkubasi 21 jam. Menghitung umur inkubasi ayam dapat dilakukan dengan menghitung jumlah *somite mesoderm* yang penambahannya tiap pasang *somite* adalah satu jam dan akan bertambah terus sampai masa inkubasi 48 jam. Meski perhitungan umur inkubasi ini tidak akurat, namun dapat digunakan sebagai indikator dalam melakukan pengamatan di laboratorium (Poernomo dkk., 2003 ; Anonimus, 2003⁵).

Somite disebut juga *mesoderm dorsal* atau *epimer* atau *mesoderm segmentalis*. Mula-mula ditemukan jaringan *mesoderm* yang terletak di sepanjang dan dekat dengan sumbu badan. Sel-sel *mesoderm* selanjutnya mengalami

proliferasi kemudian mengelompok secara berpasangan di sisi kanan tabung neuralis. Somite akan bertambah banyak sesuai dengan pertambahan umur embrio. Dalam perkembangan somite sel-sel somite yang berada di sebelah dorso lateral menebal dan agak terpisah dari kelompok sel somite lainnya. Kelompok sel-sel dorso lateral ini disebut bagian dermatom yang kelak akan berkembang menjadi dermis kulit. Selanjutnya sel-sel somite yang berada di bagian ventro medial menyebar berupa sel-sel mesenkhim atau skleretom. Sel-sel skleretom ini kelak akan menjadi tulang rangka aksial. Sisi dari somite yang berada di bagian dorso medial (miotom) akan menjadi otot rangka (Syahrums, 1994).



Gambar 2. Perkembangan embrio ayam setelah inkubasi 24 jam.
(Sumber : Anonimus, 2003⁵)

2.3 Osifikasi tulang

Rangka embrional primitif terdiri dari tulang rawan dan jaringan, yang merupakan asal tulang tersebut berkembang. Proses ini disebut osifikasi osteogenesis dan dipengaruhi oleh sel-sel pembentuk tulang (osteoblast). Osteogenesis terjadi melalui dua jalur yaitu osifikasi intra membran dan osifikasi endokondral (Sisson and Grossman, 1975).

Proses osifikasi intra membran dimulai dipusat osifikasi tertentu (*Punctum Ossificationis*), dengan cara osteoblast mengelilingi dirinya sendiri dengan tumpukan tulang. Proses ini berkembang dari pusat osifikasi sekeliling tulang berikutnya, sehingga menghasilkan jaringan tulang yang kompak (Sisson and Grossman, 1975).

Osifikasi intra membran ditandai dengan terbentuknya tulang rata tengkorak. Sel-sel mesenkhim bebas berproliferasi dan menjadi nodus kompak. Beberapa dari sel ini menjadi pipa atau pembuluh dan lainnya membentuk osteoblas, sel-sel yang dapat mensekresikan matriks tulang. Kerjasama sekresi matriks kolagen mukopolisakarida dapat mengikat garam kalsium yang dibawa oleh kapiler. Dengan cara ini matriks mengalami kalsifikasi. Dalam banyak kasus, osteoblas terpisah dari daerah kalsifikasi oleh lapisan matriks prebone (osteoid). Osteoblas terperangkap dalam matriks terkalsifikasi dan menjadi osteosit, sel-sel tulang. Selama proses kalsifikasi, spikula tulang menyebar keluar dari pusat terjadinya osifikasi. Selanjutnya seluruh daerah tempat spikula terkalsifikasi dikelilingi oleh sel-sel mesenkhim kompak yang membentuk periosteum. Sel-sel dalam permukaan periosteum juga menjadi osteoblas dan menyimpan matriks tulang

paralel dengan spikula yang ada. Dalam hal ini akan terbentuk banyak lapisan tulang.

Osifikasi endokondral, pada dasarnya sama tetapi tidak sesederhana proses osifikasi intramembran. Osifikasi endokondral terjadi transformasi jaringan kartilago menjadi tulang. Jaringan kartilago adalah model tulang sebagai berikut: tulang dari vertebrae column, pelvis dan ekstremitas yang pertama kali dibentuk oleh kartilago dikelilingi oleh lembaran mesenkhim padat. Lembaran ini akan menjadi periosteum. Sebuah kapiler dari periosteum kemudian memasuki lembaran kartilago avaskular. Kartilago bereaksi dengan membentuk zona proliferasi sel, daerah pembesaran sel dan daerah kematian sel. Di daerah kematian sel, osteoblas masuk dari periosteum, menyatu di kartilago dan mulai mensekresikan matriks osteoid. Kemudian terjadi kalsifikasi dan terbentuk tulang (Gilbert, 1985). Selama hidup, tulang secara terus menerus diresorpsi dan tulang baru dibentuk. Kalsium dalam tulang mengalami pertukaran dengan kecepatan yang lebih tinggi pada organisme muda dibanding organisme yang lebih tua. Remodeling tulang sebagian besar adalah proses lokal yang berlangsung pada daerah-daerah kecil oleh populasi yang disebut unit-unit modeling tulang. Mula-mula osteoklas menyerap tulang lalu osteoblas meletakkan tulang baru di daerah yang sama. Namun juga terjadi *modeling drifts*, yang mengakibatkan bentuk tulang berubah sewaktu tulang mengalami penyerapan disatu lokasi dan penambahan dilokasi lain (Ganong, 1999). Hormon kalsitonin bekerja cepat dengan menurunkan kerja absorpsi osteoklas dan menggeser keseimbangan pengendapan kalsium dalam tulang sesuai dengan cepatnya pertukaran garam-

garam kalsium. Efek kalsitonin ini dibutuhkan pada saat pembentukan tulang. Dengan adanya proses pengendapan dan absorpsi maka bentuk tulang dapat diatur, sedangkan hormon tiroksin berperan dalam pertumbuhan dan pematangan tulang (Ganong, 1995).

2.4 Mekanisme Kerja Teratogen

Kerentanan terhadap teratogen berbeda-beda menurut stadium perkembangan saat paparan. Masing-masing sistem organ mempunyai satu atau beberapa stadium kerentanan. Manifestasi perkembangan abnormal tergantung pada dosis dan lamanya paparan terhadap suatu teratogen. Teratogen bekerja dengan cara spesifik pada sel-sel dan jaringan ringan yang sedang berkembang untuk memulai patogenesis yang abnormal. Manifestasi perkembangan abnormal adalah kematian, malformasi, keterlambatan perkembangan, dan gangguan fungsi (Anonimus, 2003⁶).

Aksi suatu zat yang berakibat pada kecacatan selama kebuntingan berhubungan erat dengan perkembangan fetus. Perkembangan fetus dibagi menjadi blastogenesis, organogenesis, histogenesis dan pematangan fungsional (Rang *et al.*, 1999). Pada fase blastogenesis merupakan proses utama dalam pembelahan sel sehingga zat teratogen dapat mengakibatkan kematian embrio dengan menghambat proses pembelahan sel. Embrio hidup akan berkembang normal bila embrio mempunyai kemampuan untuk mengimbangi yang hilang atau mempunyai kemampuan totipoten (Poernomo, 1999).

Tahap organogenesis adalah tingkat diferensiasi sel yang sangat sensitif sehingga zat teratogen dapat bekerja pada organ yang paling peka. Kepekaan

terhadap zat teratogen menurun dengan cepat pada tahap histogenesis tetapi sejumlah kecil tubuh seperti serebelum, korteks serebri dan sebagian susunan kemih serta kelamin masih terus mengalami diferensiasi sehingga sebagian dari susunan tubuh tetap peka terhadap pengaruh teratogen (Sadler, 2000).

Kepekaan terhadap zat teratogen dapat dipengaruhi oleh gen induk maupun gen embrio dan terdapat interaksi tetap antara gen-gen dan bahan-bahan eksogen. Perbedaan reaksi terhadap bahan berbahaya antara individu, strain, dan spesies hewan disebabkan kekhususan biokimia yang berhubungan dengan gen-gen. Kepekaan terhadap zat teratogen juga dipengaruhi oleh status fisiologis induk antara lain makanan, iklim, dan variasi musim. Faktor patologis seperti penyakit metabolik atau penyakit kronis tertentu dapat meningkatkan efek toksik obat dan frekuensi kerusakan fetus (Herman dkk., 1990).

Menurut Poernomo (1999) ada enam prinsip tentang teratogenesis, yaitu: Pertama, kepekaan terhadap zat teratogen tergantung genotip dan pola teratogenesis ini berinteraksi dengan faktor-faktor lingkungan. Saat perkembangan awal organisme faktor gen dan lingkungan berpengaruh pada terjadinya teratogenesis. Perbedaan dalam hal reaksi terhadap zat teratogenik tergantung susunan morfologis atau biokimia yang ditentukan oleh gen.

Kedua, kepekaan terhadap zat teratogenik tergantung fase kebuntingan saat terjadi pemaparan. Tingkat kepekaan akan meningkat seiring dengan bertambahnya usia kebuntingan. Sebaliknya, semakin muda kebuntingan maka semakin peka terhadap perubahan. Organ-organ tertentu dapat dibuat abnormal dengan cara memberikan zat teratogen selama tahap pembentukan organ yang

umumnya periode ini disebut dengan periode kritis. Periode organogenesis merupakan saat yang peka terhadap zat teratogenik karena pada saat ini terjadi pemisahan kelompok sel dan jaringan untuk membentuk organ. Histogenesis dimulai sebelum organogenesis selesai dan dilanjutkan dengan fase pertumbuhan yang dialami oleh sebagian besar organ. Pengaruh yang berbahaya selama histogenesis tidak akan menyebabkan terjadinya malformasi tetapi berakibat pada kerusakan struktural pada tingkat mikroskopis.

Ketiga, setiap zat teratogenik mempunyai mekanisme tersendiri dalam mempengaruhi pertumbuhan sel dan jaringan untuk mengawali terjadinya embriogenesis yang abnormal. Setiap zat teratogenik mempunyai pengaruh jenis malformasi yang spesifik, dan sekarang telah diketahui bahwa zat-zat yang berbeda dapat menghasilkan beberapa kerusakan yang sama atau berbeda. Hal ini tergantung pada saat pemaparan diberikan. Embriogenesis dapat dikatakan abnormal bila pada sel dan jaringan terdapat kerusakan.

Keempat, manifestasi akhir dari perkembangan abnormal adalah kematian, malformasi, lambatnya pertumbuhan dan gangguan fungsional. Kelambatan pertumbuhan dapat terjadi jika pemaparan dilakukan pada periode fetus. Efek-efek tertentu dari gangguan fungsional dapat terlihat selama masa pertumbuhan atau masa kecil. Kematian organisme bisa terjadi pada tahap embrio. Hal ini mungkin disebabkan karena malformasi yang parah, penghentian pertumbuhan secara keseluruhan atau kerusakan umum pada fungsi yang penting. Kelambatan pertumbuhan awalnya diperkirakan berhubungan dengan proliferasi yang lambat karena metabolisme yang kompleks dan transportasi yang penting untuk

mendukung pertumbuhan yang normal kurang berjalan dengan baik. Fungsional yang normal bergantung pada keutuhan struktural sehingga kegagalan yang dialami oleh suatu bagian akan mengakibatkan kerusakan bagian yang lain.

Kelima, pengaruh dari lingkungan yang merugikan atau mempengaruhi pertumbuhan jaringan tergantung dari sifat dasar pengaruh zat teratogen tersebut. Bahan-bahan dari lingkungan dapat masuk dan mempengaruhi perkembangan jaringan di dalam uterus melalui dua cara, yaitu secara langsung ditransfer dari tubuh maternal ke tubuh plasenta atau tidak langsung. Produk kimia atau produk degradasi biasanya mencapai embrio atau fetus dalam beberapa fraksi dari konsentrasinya dalam darah maternal. Plasenta sering berperan sebagai hambatan yang disebut barier plasenta. Dengan adanya barier plasenta maka embrio atau fetus dilindungi dari bahan kimia asing. Dosis total untuk bahan kimia yang mencapai embrio adalah hasil interaksi dari berbagai macam variabel. Variabel tersebut berhubungan dengan kapasitas dan fungsional maternal. Selain itu juga tergantung pada sifat bahan kimia itu sendiri dan karakteristik plasenta. Bahan teratogenik dapat masuk ke dalam janin melewati plasenta, namun pola ketika melewati plasenta belum banyak diketahui..

Keenam, peningkatan kejadian pertumbuhan yang abnormal akan bertambah jika dosis makin tinggi. Pada prinsip ini ditekankan efek dosis secara umum. Pertumbuhan yang abnormal mulai ditunjukkan ketika dosis yang digunakan melebihi ambang batas. Ketika dosis dalam rentangan yang rendah, tidak ada efek-efek embriotoksik atau ada efek embriotoksik dalam tipe yang berbeda walaupun disebabkan oleh bahan yang sama.

BAB III
MATERI DAN METODE

BAB III

MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

3.1.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fisiologi Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

3.1.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama 6 bulan mulai bulan September 2003 sampai Februari 2004.

3.2 Materi Penelitian

3.2.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : Telur Ayam Bertunas (TAB) produksi Multibreeder Adirama Indonesia Farm Unit 4 Desa Songsong Singosari Malang, karbofuran (Furadan 3G) produksi Bina Guna Kimia, aquabidestilata, Alkohol 96%, Alkohol 70 %, KOH 2 %, KOH 1%, gliserin, pewarna Alizarin 0,005 Red S

3.2.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: Mesin tetas, timbangan, *syringe disposable* 10 ml, *syringe disposable* 1ml, gunting, pinset, skalpel, toples.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Penentuan Dosis

Paparan karbofuran embrio tergantung dari paparan karbofuran yang diterima oleh induk yang berpotensi menimbulkan residu pada telur. Terdapat dua cara pendekatan untuk menentukan dosis suatu zat yang berpotensi menimbulkan teratogen. Teratogen yang mempunyai LD_{50} dapat dilakukan secara langsung melalui fraksi-fraksi kelipatannya misalkan $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$ LD_{50} dan seterusnya. Dari degradasi dosis tersebut, diamati perkembangan embrio yang telah terpapar dan dosis yang digunakan sebagai dosis teratogenik adalah dosis yang mempunyai survival rate lebih dari 50 % minimal sepuluh hari setelah pemaparan (Karnofsky, 1964 ; Plapp, 1981). Sementara pada teratogen yang tidak mempunyai LD_{50} dapat dilakukan pendekatan dengan pemaparan pada dosis 0,1; 1,0; dan 10 mg/butir dalam suatu kelompok sample. Teratogen yang masih toleran pada dosis 0,1 mg/butir tetapi bersifat letal pada dosis 1,0 mg/butir, dapat dilakukan degradasi pemaparan melalui fraksi-fraksi kelipatan seperti 0,1; 0,2; 0,4 dan 0,8 mg/butir hingga diperoleh dosis yang mempunyai *survival rate* lebih dari 50% yang dievaluasi pada hari inkubasi ke 16-18 (Karnofsky, 1964; Plapp, 1981).

Penelitian ini menggunakan pendekatan pertama teratogenik, yang ditentukan dari LD_{50} karbofuran pada ayam yang memiliki kisaran 25-38,5 mg/kg. Digunakan dosis terendah yaitu 25 mg/kg dengan potensi residu dalam kuning telur sebesar 8,2% dan bobot telur rata-rata 62,04 gram. Dari pendekatan ini didapatkan dosis 1/10 dan 1/12 dari LD_{50} karbofuran (Furadan 3G sebesar 0,4241 dan 0,3534 mg/butir yang ekuivalen dengan karbofuran 0,0127 dan 0,0106

mg/butir) yang memiliki survival rate setelah sepuluh hari pemaparan lebih dari 50%. Sementara pada dosis 1/8 dari LD₅₀ (Furadan 3G sebesar 0,5299 mg/butir) yang ekuivalen dengan karbofuran sebesar 0,0159 mg/butir memiliki *survival rate* sebesar 30 % yang berarti kurang dari 50% sehingga tidak digunakan sebagai dosis teratogenik. Hasil penurunan secara bertahap dari berbagai dosis dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Dosis Furadan 3G dan *survival rate* setelah 10 hari inkubasi

| Fraksi LD ₅₀ | Karbofuran yang disuntikkan dalam kuning telur (mg/butir) | Furadan 3G yang disuntikkan dalam kuning telur (mg/butir) | Survival rate setelah 10 hari inkubasi (%) |
|-------------------------|---|---|--|
| ½ | 0,0636 | 2,1197 | 0 |
| ¼ | 0,0318 | 1,0599 | 0 |
| 1/6 | 0,0212 | 0,7066 | 0 |
| 1/8 | 0,0159 | 0,5299 | 30 |
| 1/10 | 0,0127 | 0,4241 | 100 |
| 1/12 | 0,0106 | 0,3534 | 100 |

Dari hasil tersebut, maka didapat *survival rate* terhadap dosis penyuntikan Furadan 3G lebih dari 50% adalah pada dosis 1/10 dan 1/12 dari LD₅₀. Dosis tersebut selanjutnya digunakan sebagai dosis yang berpotensi teratogenik pada embrio ayam melalui penyuntikan pada kuning telur.

3.3.2 Perlakuan

TAB yang akan diberi perlakuan didesinfeksi terlebih dahulu dengan menggunakan alkohol 70% dengan cara *spray*, demikian juga dengan inkubator yang akan digunakan. Pelabelan TAB menurut kelompok perlakuan menggunakan pensil. TAB dilubangi pada bagian tumpul dari telur sekitar perbatasan kantung udara dengan menggunakan bor listrik yang berdiameter 1 mm, kemudian

dilakukan penyuntikan pada lubang tersebut dengan menggunakan *syringe disposable* ukuran 1 ml sesuai dengan kelompok perlakuan. Penyuntikan dilakukan pada kuning telur dengan volume 0,1 ml setiap butirnya. Sedangkan untuk kontrol hanya disuntik dengan aquabidestilata tanpa menggunakan karbofuran. TAB tersebut kemudian dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 38°C dan kelembaban 60-80%. Selama proses inkubasi sampai dengan menetas diamati kestabilan suhu inkubator serta dilakukan pemutaran telur mulai hari ketiga periode inkubasi sampai hari ke delapan belas sebanyak tiga kali sehari (Wiharto, 1994).

Kelainan pembentukan tulang diamati setelah ayam umur satu hari setelah menetas dan ayam umur 2 minggu dengan pewarnaan Alizarin Red S 0,005%. Cara pewarnaan dapat dilihat pada lampiran 2.

3.3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga perlakuan, 10 kali ulangan. Perlakuan-perlakuan meliputi kontrol yang disuntik dengan Aquabidestilata 0,1 ml /butir, perlakuan 1 dengan dosis pemaparan 1/12 dari LD₅₀ yaitu sebesar 0,0106 mg /0,1 ml/ butir, perlakuan 2 dengan dosis 1/10 LD₅₀ yaitu sebesar 0,0127 mg/0,1 ml/butir.

3.4 Peubah yang diamati

Kelainan perkembangan tulang ayam meliputi jumlah tulang costae, processus uncinatus, tulang phalank, dan fusi vertebrae.

3.5 Analisis Hasil

Analisis data menggunakan statistik non parametrik Chi Square (Sudradjat, 1985; Samiyono, 1991).

BAB IV
HASIL PENELITIAN

BAB IV

HASIL PENELITIAN

4.1 Hambatan Pertumbuhan Tulang Ayam Umur Satu Hari

4.1.1 Tulang Vertebrae Cervikalis

Setelah dilakukan pewarnaan Alizarin pada ayam umur satu hari didapatkan abnormalitas berupa fusi vertebrae cervikalis seperti yang tertera pada tabel 2.

Tabel 2. Abnormalitas vertebrae cervikalis pada ayam umur satu hari setelah pemaparan karbofuran

| Kelompok | P0 | P1 | P2 |
|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Kelainan(Fusi) | 0 ^a | 2 ^a | 1 ^a |

Keterangan: Normal (Tidak terdapat fusi pada vertebrae cervikalis)

Abnormal (Terdapat fusi pada vertebrae cervikalis)

Subskrip huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($p > 0,05$)

P0 : Penyuntikan aquabidest steril sebanyak 0,1 ml

P1 : Penyuntikan Karbofuran dengan dosis 0,0106 mg/0,1ml/butir

P2 : Penyuntikan Karbofuran dengan dosis 0,0127 mg/0,1ml/butir



Gambar 4. Kontrol (P0)
Tidak Terdapat Fusi
Vertebrae Cervikalis



Gambar 5. Perlakuan 1 (P1)
Terdapat Fusi
Vertebrae Cervikalis



Gambar 6. Perlakuan 2 (P2)
Terdapat Fusi
Vertebrae Cervikalis

Hasil analisis Chi-square diperoleh harga $\alpha = 0,339$ yang lebih besar dari harga kemaknaan (signifikasi) $\alpha = 0,05$ maka hipotesis nol (H_0) diterima yang berarti tidak ada perbedaan diantara kelompok perlakuan.

4.1.2. Tulang Costae

Setelah dilakukan pengamatan terhadap perkembangan tulang costae dengan menghitung jumlahnya diperoleh hasil seperti yang tertera pada tabel 3.

Tabel 3. Abnormalitas tulang costae pada ayam umur satu hari setelah pemaparan karbofuran

| Kelompok | P0 | P1 | P2 |
|------------------|----------------|----------------|----------------|
| Kelainan(Jumlah) | 1 ^a | 5 ^a | 5 ^a |

Keterangan : Normal (Jumlah tulang costae 7)

Abnormal (Jumlah tulang costae lebih atau kurang dari 7)

Subskrip huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($p > 0,05$)

P0 : Penyuntikan aquabidest steril sebanyak 0,1 ml

P1 : Penyuntikan Karbofuran dengan dosis 0,0106 mg/0,1ml/butir

P2 : Penyuntikan Karbofuran dengan dosis 0,0127 mg/0,1ml/butir



Gambar 7. Kontrol (P0)
Tidak Terdapat Kelainan Jumlah Costae



Gambar 8. Perlakuan 1 (P1)
Terdapat Kelainan Jumlah Costae (8 buah)



Gambar 9. Perlakuan 2 (P2)
Terdapat Kelainan Jumlah Costae 8 Buah dan Terdapat Cabang pada Costae ke 5

Hasil analisis Chi-square diperoleh harga $\alpha = 0,07$ yang lebih besar dari harga kemaknaan (signifikansi) $\alpha = 0,05$ maka hipotesis nol (H_0) diterima yang berarti tidak ada perbedaan diantara kelompok perlakuan.

4.1.3. Prosesus Uncinatus

Setelah dilakukan pengamatan dengan menghitung jumlahnya diperoleh hasil seperti yang tertera pada tabel 4.

Tabel 4. Abnormalitas prosesus uncinatus pada ayam umur satu hari setelah pemaparan karbofuran

| Kelompok | P0 | P1 | P2 |
|------------------|----------------|----------------|----------------|
| Kelainan(Jumlah) | 0 ^b | 7 ^a | 7 ^a |

Keterangan : Normal (Jumlah prosesus uncinatus 4)

Abnormal (Jumlah prosesus uncinatus lebih atau kurang dari 4)

Subskrip huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($p > 0,05$)

P0 : Penyuntikan aquabidest steril sebanyak 0,1 ml

P1 : Penyuntikan Karbofuran dengan dosis 0,0106 mg/0,1ml/butir

P2 : Penyuntikan Karbofuran dengan dosis 0,0127 mg/0,1ml/butir



Gambar 10. Kontrol (P0)
Tidak Terdapat Kelainan
Jumlah Processus Uncinatus



Gambar 11. Perlakuan 1 (P1)
Tidak Ada Processus
Uncinatus



Gambar 12. Perlakuan 2 (P2)
Terdapat Kelainan
Jumlah Processus Uncinatus

Hasil analisis Chi-square diperoleh harga $\alpha = 0,01$ yang lebih kecil dari harga kemaknaan (signifikansi) $\alpha = 0,05$ maka hipotesis nol (H_0) ditolak yang berarti terdapat perbedaan di antara kelompok perlakuan.

4.1.4 Tulang Phalank

Setelah dilakukan pengamatan terhadap perkembangan tulang phalank dengan menghitung jumlahnya diperoleh hasil seperti yang tertera pada tabel 5.

Tabel 5. Abnormalitas tulang phalank pada ayam umur satu hari setelah pemaparan karbofuran

| Kelompok | P0 | P1 | P2 |
|------------------|----------------|----------------|----------------|
| Kelainan(Jumlah) | 0 ^a | 2 ^a | 1 ^a |

Keterangan : Normal (Jumlah tulang phalank digit II = 5)

Abnormal (Jumlah tulang phalank digit II lebih atau kurang dari 5)

Subskrip huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($p > 0,05$)

P0 : Penyuntikan aquabidest steril sebanyak 0,1 ml

P1 : Penyuntikan Karbofuran dengan dosis 0,0106 mg/0,1ml/butir

P2 : Penyuntikan Karbofuran dengan dosis 0,0127 mg/0,0ml/butir



Gambar 13. Kontrol (P0)
Tidak Terdapat
Kelainan Jumlah Phalank



Gambar 14. Perlakuan 1 (P1)
Terdapat Kelainan
Jumlah Phalank



Gambar 15. Perlakuan 2 (P2)
Terdapat Kelainan
Jumlah Phalank

Hasil analisis Chi-square diperoleh harga $\alpha = 0,33$ yang lebih besar dari harga kemaknaan (signifikansi) $\alpha = 0,05$ maka hipotesis nol (H_0) diterima yang berarti tidak terdapat perbedaan di antara kelompok perlakuan.

4.2 Hambatan Perkembangan Tulang Ayam Umur Dua Minggu

4.2.1. Tulang Vertebrae Cervikalis

Setelah dilakukan pengamatan terhadap perkembangan tulang vertebrae cervikalis, tidak didapatkan kelainan fusi.

Tabel 6. Abnormalitas vertebrae cervikalis pada ayam umur dua minggu setelah pemaparan karbofuran

| Kelompok | P0 | P1 | P2 |
|------------------|----------------|----------------|----------------|
| Kelainan(Jumlah) | 0 ^a | 0 ^a | 0 ^a |

Keterangan : Normal (Tidak Terdapat Fusi Vertebrae Cervikalis)

Abnormal (Terdapat Fusi Vertebrae Cervikalis)

Subskrip huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($p > 0,05$)

P0 : Penyuntikan aquabidest steril sebanyak 0,1 ml

P1 : Penyuntikan Karbofuran dengan dosis 0,0106 mg/0,1ml/butir

P2 : Penyuntikan Karbofuran dengan dosis 0,0127 mg/0,0ml/butir

4.2.2. Tulang Costae

Setelah dilakukan pengamatan terhadap perkembangan tulang costae dengan menghitung jumlahnya diperoleh hasil seperti tertera pada tabel 7.

Tabel 7. Abnormalitas tulang costae pada ayam umur dua minggu setelah pemaparan karbofuran

| Kelompok | P0 | P1 | P2 |
|------------------|----------------|----------------|----------------|
| Kelainan(Jumlah) | 0 ^a | 1 ^a | 0 ^a |

Keterangan : Normal (Jumlah tulang costae 7)

Abnormal (Jumlah tulang costae lebih atau kurang dari 7)

Subskrip huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($p > 0,05$)

P0 : Penyuntikan aquabidest steril sebanyak 0,1 ml

P1 : Penyuntikan Karbofuran dengan dosis 0,0106 mg/0,1ml/butir

P2 : Penyuntikan Karbofuran dengan dosis 0,0127 mg/0,0ml/butir



Gambar 16. Kontrol (P0)
Tidak Terdapat
Kelainan Jumlah Costae



Gambar 17. Perlakuan 1 (P0)
Terdapat Kelainan
Jumlah Costae
Kiri 5, Kanan 8



Gambar 18. Perlakuan 2 (P2)
Tidak Terdapat
Kelainan Jumlah Costae

Hasil analisis Chi-square diperoleh harga $\alpha = 0,27$ yang lebih besar dari harga kemaknaan (signifikansi) $\alpha = 0,05$ maka hipotesis nol (H_0) diterima yang berarti tidak terdapat perbedaan di antara kelompok perlakuan.

4.2.3. Prosesus Uncinatus

Setelah dilakukan pengamatan terhadap perkembangan prosesus uncinatus dengan menghitung jumlahnya diperoleh hasil seperti yang tertera pada tabel 8.

Tabel 8. Jumlah prosesus uncinatus pada ayam umur dua minggu setelah pemaparan karbofuran

| Kelompok | P0 | P1 | P2 |
|------------------|----------------|----------------|----------------|
| Kelainan(Jumlah) | 0 ^b | 5 ^a | 0 ^b |

Keterangan : Normal (Jumlah prosesus uncinatus =4)

Abnormal (Jumlah prosesus uncinatus lebih atau kurang dari 4)

Subskrip huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($p > 0,05$)

P0 : Penyuntikan aquabidest steril sebanyak 0,1 ml

P1 : Penyuntikan Karbofuran dengan dosis 0,0106 mg/0,1ml/butir

P2 : Penyuntikan Karbofuran dengan dosis 0,0127 mg/0,1ml/butir



Gambar 19. Kontrol (P0)
Tidak Terdapat
Kelainan Jumlah Prosesus Uncinatus



Gambar 20. Perlakuan 1 (P1)
Tidak Terdapat
Prosesus Uncinatus



Gambar 21. Perlakuan 2 (P2)
Tidak Terdapat
Kelainan Jumlah Prosesus Uncinatus

Hasil analisis Chi-square diperoleh harga $\alpha = 0,00$ yang berarti lebih kecil dari harga kemaknaan (signifikasi) $\alpha = 0,05$ maka hipotesis nol (H_0) ditolak yang berarti terdapat perbedaan di antara kelompok perlakuan.

4.2.4. Tulang Phalank

Setelah dilakukan pengamatan terhadap perkembangan tulang phalank dengan menghitung jumlahnya tidak didapatkan adanya kelainan. Hasil dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Jumlah tulang phalank pada ayam umur dua minggu setelah pemaparan karbofuran

| Kelompok | P0 | P1 | P2 |
|------------------|----------------|----------------|----------------|
| Kelainan(Jumlah) | 0 ^a | 0 ^a | 0 ^a |

Keterangan : Normal (Jumlah tulang phalank digit II= 5)

Abnormal (Jumlah tulang phalank digit II lebih atau kurang dari 5)

Subskrip huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($p > 0,05$)

P0 : Penyuntikan aquabidest steril sebanyak 0,1 ml

P1 : Penyuntikan Karbofuran dengan dosis 0,0106 mg/0,1ml/butir

P2 : Penyuntikan Karbofuran dengan dosis 0,0127 mg/0,1ml/butir

BAB V
PEMBAHASAN

BAB V

PEMBAHASAN

5.1. Hambatan Perkembangan Tulang Ayam Umur 1 Hari

Ayam yang terpapar karbofuran sangat potensial membentuk residu pada kuning telur (Yolk Sac), sedangkan kuning telur sangat dibutuhkan embrio sebagai sumber nutrisi dalam proses perkembangan (Mc Caskey *et al.*, 1968; Tyl, 1992). Pemaparan carbaril pada ayam broiler menunjukkan adanya residu pada yolk yang kadarnya lebih tinggi dibandingkan pada organ hati (FAO dan WHO, 2000). Residu karbofuran dalam kuning telur akan mengganggu perkembangan embrio ayam yang dapat berakibat pada abnormalitas perkembangan saat menetas dan dewasa. Ayam ras yang digunakan dalam penelitian ini mewakili golongan avian yang sangat peka terhadap karbofuran. Dengan demikian hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran bahaya pencemaran karbofuran terhadap kehidupan organisme bukan sasaran karbofuran seperti bangsa burung.

Tahap embriogenesis adalah tingkat diferensiasi sel yang sangat intensif sehingga zat teratogen dapat bekerja pada organ yang paling peka. Kepekaan terhadap zat teratogen menurun dengan cepat pada tahap fetogenesis, tetapi sejumlah kecil alat tubuh seperti cerebellum, korteks cerebri, dan sebagian susunan kemih serta kelamin masih terus mengalami diferensiasi sehingga sebagian dari susunan tubuh peka terhadap pengaruh teratogen (Sadler, 2000).

Organ-organ tertentu dapat dibuat abnormal dengan cara memberikan zat teratogen selama tahap pembentukan organ yang pada umumnya periode ini

disebut dengan periode kritis. Periode organogenesis atau morfogenesis merupakan periode perkembangan embrio primitif menjadi bentuk definitif yang spesifik. Pada periode sensitif (kritis) ini sel sangat peka terhadap rangsangan yang masuk dari luar, karena pada saat ini terjadi metabolisme yang cepat. Terjadinya hambatan pada metabolisme akan menyebabkan adanya gangguan pertumbuhan dan perkembangan, dan jika parah dapat menyebabkan adanya kematian. Histogenesis dimulai sebelum organogenesis selesai dan dilanjutkan dengan fase pertumbuhan yang dialami oleh sebagian besar organ (Poernomo, 1999).

Dari hasil analisis statistik yang dilakukan terhadap vertebrae cervikalis, costae, processus uncinatus dan phalank ditemukan adanya kelainan perkembangan dibandingkan kelompok kontrol. Kelainan skeletal yang terjadi pada ayam umur satu hari ini disebabkan oleh mekanisme karbofuran yang menekan aktifitas ChE dengan cara mengikat ChE membentuk ikatan kompleks dan menutup reseptor Ach yaitu reseptor nicotinic (N cholinoreceptor) dan reseptor muscarinic (M cholinoreceptor) (Fairman, *et al.*, 1991). N cholinoreceptor menerima rangsangan Ach dari ujung saraf otot lurik, ganglion saraf otonom, dan sedikit dari SSP, sedangkan M cholinoreceptor menerima rangsangan Ach dari ujung saraf otot polos, kelenjar eksokrin dan endokrin (Ballantyne and Marrs, 1992). Bahan neurotoksik termasuk karbofuran dapat menekan aktifitas kelenjar eksokrin maupun endokrin, akibatnya akan terjadi gangguan sekresi hormon diantaranya hormon tiroid (Cone, 1999 dan Rosso dkk., 2000).

Banyak penelitian membuktikan bahwa organofosfat, organoklorin dan karbamat dapat menyebabkan perubahan sirkulasi hormon tiroid (Rankin and Jensen, 1993). Pembentukan tulang atau osteogenesis dipengaruhi oleh beberapa hormon diantaranya adalah hormon tiroksin dan kalsitonin (Ganong, 1995). Kedua hormon ini merupakan bagian dari hormon tiroid.

Hormon tiroksin berperan dalam pertumbuhan dan pematangan tulang (Ganong, 1995). Gangguan sekresi disebabkan karena terjadi inhibisi kolin esterase oleh bahan aktif insektisida (karbofuran) sehingga enzim tersebut gagal berikatan dengan M-cholinereceptor Ach (Ballantyne and Marrs, 1992). Hambatan sekresi hormon ini menyebabkan hipotiroid, sedangkan hipotiroid dapat menyebabkan menurunnya laju metabolisme basal individu (Donald, 1975). Turunnya laju metabolisme secara otomatis akan menurunkan energi yang dihasilkan, sedangkan energi digunakan untuk pertumbuhan sel dan jaringan termasuk tulang. Jika hal ini terjadi maka pertumbuhan tulang (proliferasi dan pembesaran sel) melambat dan penutupan epifisis tertunda (Ganong, 1995)

Sementara itu hormon kalsitonin bekerja cepat dengan menurunkan kerja absorpsi osteoklas dan menggeser keseimbangan pengendapan kalsium dalam tulang sesuai dengan cepatnya pertukaran garam-garam kalsium. Efek kalsitonin ini dibutuhkan pada saat pembentukan tulang. Dengan adanya pengendapan dan absorpsi maka bentuk tulang dapat diatur. Jika proses pengendapan dan absorpsi ini terganggu misalnya oleh insektisida termasuk karbofuran, maka sekresi kalsitonin sangat menurun dan akibatnya pembentukan tulang dapat terganggu dan menyebabkan abnormalitas (Timbrell, 1994).

Banyak penelitian eksperimental menunjukkan bahwa substansi yang mengandung anti ChE menghasilkan kelainan pada skeletal seperti skoliosis cervical yang biasa disebut dengan teratogenik tipe II dan fusi dari beberapa vertebrae (Karnofsky, 1964). Penelitian dari Extoxnet (1996) juga membuktikan bahwa injeksi diazinon pada telur ayam menyebabkan kecacatan skeletal dan spinal setelah menetas, begitu pula pada telur puyuh Bobwhite. Penelitian ini juga dibuktikan oleh (Cahyorini, 2004) bahwa pemaparan zat anti ChE yaitu diazinon terbukti menimbulkan kelainan skeletal pada ikan.

Dari penjelasan di atas dapat disimpulkan bahwa pemaparan karbofuran pada masa embrional mengakibatkan terhambatnya sekresi hormon tiroid (tiroksin dan kalsitonin). Hambatan tersebut mempengaruhi kelangsungan osteogenesis secara normal, akibatnya terjadilah kelainan-kelainan pada sistem skeletal.

5.2. Hambatan Perkembangan Tulang Ayam Umur 2 Minggu

Hasil analisis statistik pada penelitian ini tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antara ayam umur satu hari dengan dua minggu meskipun pada ayam umur satu hari didapatkan kelainan perkembangan yang lebih banyak. Hal ini disebabkan karena adanya korelasi antara peningkatan umur dengan peningkatan resistensi individu terhadap paparan. Semakin meningkatnya umur maka individu akan semakin resisten (Namba, *et al.*, 1971).

Pada anak ayam yang baru menetas masih terdapat deposit kantung kuning telur (yolk sac) di dalam rongga abdomen. Secara alami keberadaan kantung kuning telur ini sekitar tujuh sampai sepuluh hari dan masih digunakan sebagai

sumber energi di awal pertumbuhan ayam. Deposit kuning telur yang tercemar residu karbofuran secara terus menerus akan menimbulkan paparan karbofuran selama kuning telur belum terserap secara sempurna. Embrio yang sanggup menetas selama terpapar karbofuran pada masa embrional memiliki daya tahan yang lebih baik. Hal ini disebabkan karena paparan karbofuran tidak bersifat letal atau berpengaruh terhadap daya tetas dari embrio tersebut. Tetapi pada paparan yang bersifat terus menerus selama dua sampai tiga minggu oleh golongan organofosfat maupun karbamat dapat mengakibatkan terjadinya hambatan perkembangan sensor motoris, kelainan pada alat gerak bagian distal, serta mengakibatkan degeneratif yang bersifat selektif pada serabut saraf pusat (CNS) maupun degenerasi susunan saraf tepi (Peripheral Nervous System) (Cavanagh, 1963).

Pada perlakuan dosis yang lebih kecil sebesar 0,0106 mg/0,1ml/butir tidak menunjukkan pengaruh yang nyata dibandingkan dengan kontrol. Hal ini disebabkan oleh faktor dosis pemaparan karbofuran pada kuning telur terlalu rendah sehingga tidak berpengaruh terhadap perkembangan tulang. Hood (1997) menyatakan bahwa terdapat korelasi antara perkembangan abnormal dengan peningkatan dosis dan frekuensi pemaparan bahan toksik. Manifestasi perkembangan abnormal meningkat dari tidak ada efek sampai kematian individu.

Penelitian ini dilakukan melalui pendekatan potensi residu pada yolk melalui induk sehingga dilakukan penyuntikan karbofuran hari ke 0 inkubasi dan tidak mempertimbangkan sensitifitas organ terhadap karbofuran. Kerentanan terhadap teratogen berbeda-beda menurut stadium perkembangan saat paparan.

Teratogen bekerja dengan cara spesifik pada sel-sel dan jaringan ringan yang sedang berkembang untuk memulai patogenesis yang abnormal (Anonimus, 2003⁶). Meskipun pemaparan karbofuran pada penelitian ini tidak mempertimbangkan sensitifitas organ sehingga pemaparan dilakukan bukan waktu yang tepat pada diferensiasi sel atau organ, tetapi hasil penelitian menunjukkan kecenderungan perkembangan tulang prosesus uncinatus yang abnormal. Hal ini menunjukkan bahwa tulang prosesus uncinatus lebih peka dibanding dengan tulang yang lain.

Selain faktor-faktor yang disebutkan di atas, faktor penggunaan pelarut yang digunakan juga dapat mempengaruhi metabolisme dari karbofuran. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah larutan *water injection* steril, sedang massa yang dipaparkan adalah yolk yang dominan dengan lemak. Akibatnya akan terdapat hambatan dalam distribusi dan eliminasi karbofuran oleh embrio sehingga tidak memberikan perbedaan yang nyata. Meskipun toksisitas karbaril dalam pelarut minyak dan air injeksi paling rendah dibandingkan golongan organofosfat tetapi terbukti bahwa organofosfat yang dipaparkan dalam pelarut minyak mempunyai daya toksik 18 kali lebih besar dibandingkan dengan menggunakan pelarut air injeksi (Hill, 1992).

Pemaparan karbamat pada telur fertile itik mallard yang diberikan dalam pelarut minyak yang dipaparkan pada yolk inkubasi hari ke tiga memberikan efek toksik selama masa organogenesis. Pemaparan dengan pelarut minyak menunjukkan abnormalitas embrio ayam 65 % lebih besar dibandingkan dengan

pelarut air injeksi yang ditandai dengan peningkatan kelainan axial skeleton (Hill,1992).

Meskipun pemaparan karbofuran tidak menggunakan pelarut minyak yang memungkinkan dapat meningkatkan toksisitas, tetapi hasil penelitian menunjukkan kecenderungan perkembangan tulang prosesus uncinatus yang abnormal. Hal ini menunjukkan toksisitas karbofuran yang sangat tinggi meski dalam pelarut air yang dipaparkan pada yolk.

BAB VI
KESIMPULAN DAN SARAN

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Dari hasil penelitian pemaparan karbofuran pada masa embrional terhadap perkembangan tulang ayam dapat disimpulkan bahwa :

1. Pada ayam umur satu hari tidak terdapat fusi vertebrae cervikalis, kelainan jumlah tulang costae, tulang phalank, sedangkan jumlah prosesus uncinatus terdapat kelainan.
2. Pada ayam umur dua minggu tidak terdapat fusi vertebrae cervikalis, kelainan jumlah tulang costae, tulang phalank, sedangkan jumlah prosesus uncinatus terdapat kelainan.

6.2. Saran

Setelah mengetahui hasil dari penelitian ini tampak bahwa pemaparan insektisida karbofuran pada masa embrional dapat berpotensi menimbulkan kelainan pada perkembangan tulang ayam, maka dari itu penggunaan insektisida khususnya karbofuran hendaknya dapat dikurangi sedapat mungkin dan dalam penggunaannya agar lebih berhati-hati.

RINGKASAN

Karbofuran merupakan insektisida yang paling banyak digunakan dalam bidang pertanian. Penggunaan insektisida ini disamping mempunyai efek positif juga menimbulkan dampak negatif, seperti keracunan, pencemaran lingkungan yang mencakup kontaminasi terhadap air permukaan, air tanah dan udara. Hal yang lebih mengkhawatirkan adalah terbunuhnya predator serangga dan organisme bukan sasaran insektisida serta membentuk residu pada lingkungan yang berakibat fatal bagi kelangsungan hidup makhluk yang tinggal di area pencemaran.

Mekanisme karbofuran adalah menghambat aktifitas enzim choline esterase (ChE) pada system saraf manusia, vertebrata, dan serangga, sedangkan ChE ini pada masa perkembangan bersifat sebagai pengendali proliferasi sel, motilitas, diferensiasi sel, dan ekspresi gen.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek pemaparan karbofuran pada masa embrional terhadap perkembangan tulang. Penelitian ini menggunakan telur ayam bertunas (TAB) dari strain ayam pedaging sebanyak 60 butir. Pengamatan dibagi dua yaitu umur satu hari dan umur dua minggu. Masing-masing umur pengamatan dibagi menjadi kontrol(P0) dan perlakuan (P1 dan P2). Telur ayam bertunas (TAB) disuntik karbofuran pada umur 0 hari inkubasi (belum diinkubasi) dengan dosis karbofuran 0,0106 mg /0,1 ml/ butir untuk P1 dan 0,0127 mg / 0,1ml/butir untuk P2 sementara P0 disuntik dengan aquabidest sebanyak 0,1 ml/butir. Telur yang telah diberi perlakuan maupun kontrol diinkubasi selama 21 hari dengan menggunakan inkubator listrik. Ayam yang

sudah menetas dibunuh kemudian dikoleksi untuk pewarnaan Allizarin sedangkan untuk umur 2 minggu dipisahkan dan dipelihara kemudian dilakukan perlakuan yang sama. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 3 macam perlakuan (P0,P1,P2), terdiri dari 10 ulangan kemudian data dianalisis dengan menggunakan Chi Square.

Hasil penelitian pada ayam umur satu hari menunjukkan jumlah tulang costae, tulang phalank dan kejadian fusi pada vertebrae cervikalis yang tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) sedangkan jumlah prosesus uncinatus menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$), sementara pada ayam umur dua minggu menunjukkan jumlah tulang costae, jumlah tulang phalank dan kejadian fusi vertebrae cervikalis yang tidak berbeda nyata ($p > 0,05$), sedangkan prosesus uncinatus menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$).

Pemaparan karbofuran terbukti menyebabkan kelainan perkembangan tulang. Hendaknya perlu berhati-hati dalam penggunaan insektisida, khususnya karbofuran disamping itu perlu dilakukan teknik penggunaan insektisida yang aman dan ramah bagi lingkungan.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus,2003¹, *Peruraian Pestisida Organofosfor dalam Tanah Sawah*. <http://www.bsp.deptan.go.id/pukpest/index.htm>
- Anonimus, 2003², *Evaluation of Some Pesticide Residues in Food*. <http://www.fetal-exposure.org/INSECT.html>
- Anonimus, 2003³, *A Pesticide Information*. Project of Cooperative Extension Offices of Cornell University, Michigan State University, Oregon State University, and University of California at Davis. Major support and funding was provided by the USDA/ Extension Service / National : <http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/extoxnet/carbaryl/dicrotophos/carbofuran-ext.html#30>
- Anonimus,2003⁴, *Quick Facts*. <http://www.abcbirds.org/pesticides/Profiles/carbofuran.htm>
- Anonimus,2003⁵, *Stages in Chick Embryo Development*. <http://www.csun.edu/~vcbio001/chick.html>
- Anonimus,2003⁶, *Teratology*. <http://www.teratology.org/jfs/teratologyindex.html>
- Akbari, S. dan Soedjono. A., 1988, *Perkenbangan Awal Nervosum Centrale Embrio Gallus setelah Pemberian Insektisida Furadan 3G*. Berkala Penelitian Pascasarjana UGM. BPPS-UGM,1(1) 1988
- Ballantyne, B and Marrs ,T. C, 1992. *Overview of the Biological and Clinical Aspects of Organophosphates and Carbamates*. dalam : Ballantyne, B and Marrs, T.C (eds). *Clinical and Experimental Toxicology of Organophosphates and Carbamates* Butterworth – Heinemann Ltd. Oxford.
- Brealey, C. J Walker, C.H and Baldwin, B.C, 1980; *A esterase activities in relation to the diferential toxicity of phirimiphos – methyl to birds and mamals*. Pestic sci II, 546-554.

- Berry, W.K and Davies, D.R, 1970. The Use of Karbamates and Atropine in the Protection of Animal Against Poisoning by 1, 2, 2 trymethylpropyl methylphosphonofluoridata *Biochem Pharmacol* 19 :927-934.
- Cahyorini V. D. C, 2004. Pengaruh Pemaparan Diazinon terhadap Perkembangan Larva Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L) Tesis Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.
- Cavanagh, J.B ,1963. Organophosphonis neuroyoxicity a model "dying back" process comparable to certain human neurological disorders, *Guys hospital Report*, 17. 163-172
- Cone, W.,1999. Pesticides May Harm Brain. Study Says Health Fetuses and Young Children in Farm Areas at Highest Rist . Research Suggest With Intelligent, Motor Skills and Personalities Affected. *Environmental Health Perspectives*. 15: 1-11.
- Dhisasmito, P. dan Iswari, D. 1984. Pengetahuan Singkat Tentang Pestisida. PT Pertani(Persero). Jakarta. Hal 1-5.
- Extoxnet, 1996. *Pesticide Information Profiles: Diazinon (ace-ace*. Orst .edu/info/extoxnet/pips/diazinon.htm).
- Faiman. M.D., Chu. F., Hart. B.W and Kitos. P.A,1991. Cavalent Binding of Chick Embryo Proteins by The Alkylthiocarbamate Molinate. *Toxicologist*: 11(1).
- FAO and WHO, 2000. Thiodicarb Pesticide Residues in Food Toxicology Evaluations. FAO and WHO working groups.
- Ganong, William F, 1999. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi Bahasa Indonesia. Penerbit Buku Kedokteran E C G. Jakarta.
- Hallenbech, W.H and Cunningham.1985. Pesticide and Human Health. Sringer-Verlag, New York.
- Herman, M.J. dan Mutiatikum.D,1990. Efek Teratogenik Dismorfogenik Masalah akibat Penggunaan Obat dalam Kehamilan. *Cermin Dunia Kedokteran*. 65:34-35

- Hill, E.F. 1992. Avian toxicology of anticholinesterases. In: *Clinical and Experimental Toxicology of Organophosphat and Carbamates*.
- Hoffman, D.J and Eastin, W,C.Jr. 1981. Effects of malathion, diazinon, and parathion on mallard development and cholinesterase activity. *Environ. Res.* 26:472-485.
- Hood, R. D. 1997. *Handbook of Developmental Toxicology*. CRC Press.
- Junqueira L. C and Carneiro J, 1975. *Histologi Dasar Edisi 3 Bahasa Indonesia*. Penerbit Buku Kedokteran E C G.
- Kalant, H., and Roschlau, W.H.E., 1989. *Principles of Medical Pharmacology* .ed. V, B.C. Dekker Inc, Toronto, Philadelphia, 645-691.
- Karnofsky, D.A.1964. The chick embryo drug screeningsurvey of teratology effects observed in the 4-day chick embryo. In: *Teratology Principles and Techniques*. J.G. Wilson and J.Warkany. The University of Chicago Press.
- Lu, FC. 1995. *Toksikologi Dasar : Asas, Organ Sasaran dan Penilaian Resiko*. ed. 2, Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta. 154-168.
- Lubis, D. 1988. *Efek Toksik Merkuri Pada Susunan Saraf Pusat Embrio Ayam*. FKH Universitas Syiah Kuala Darussalam. Banda Aceh.
- McCaskey. T.A; Stemp. A.R; Liska. B.J and Stadelman. W.J, 1968. Residu in Egg Yolk and Raw and Cooked Tissues From Laying Hens Administered Selected Chlorinated Hydro- Carbon Insecticides *Poultry Sci* Vol 2. 47.
- Namba, T.1971. Cholinesterase inhibition by organophosphorous compound and its clinical effect. *Bull.WHO.* 44:289-307.
- Natawigena, H. 1989. *Pestisida dan kegunaannya*. Cetakan keempat CV. Armico. Bandung. 15,16,48.

- Pant, N., Prasad A. K., Srivastava S. C., Shankar R., Srivastava S. P. 1995. *Effect of oral administration of carbofuran on male reproductive system of rat*. Human Exp Toxicol 14 : 889-894.
- Plapp, F.W. Jr.1981. The Nature, Modes of Action and Toxicity of Insecticides. Handbook of Pest Management in Agriculture Press.
- Poernomo, B. P., M. Mafruchati, Widjiati, E. M. Luqman dan E. D. Masithah. 2003. *Diktat Ilmu Mudigah*. FKH Unair.
- Poernomo, B .S , 1999.Teratology Highlight Postgraduate Program Airlangga University Surabaya.
- Rang, H.P., Dale, M.M., Ritter, J.M., 1999, *Pharmacology* .ed. IV, Churchill Livingstone, 168.
- Rosso, S.R., Caceres, A.D., and Duffard, A.M.2000-2,4. Disrupts The Cytoskeleton and Disorganizes The Golgy Apparatus of Cultured Neurons. J. Toxicol-Sci.56(1):133-140.
- Sadler. T.W., 2000. *Embriologi Kedokteran Langman*. edisi ke-7, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 101-143.
- Saleh. T.A,1991. Tesis. Pengaruh Pemberian Karbamat terhadap Fungsi Reproduksi dan Jumlah Embrio yang dilahirkan Tikus Putih (*Rattus-rattus Var Wistar*). Pasca sarjana Universitas Airlangga.
- Samiyono. S.K, 1991. Pengantar Analisis Statistik Edisi ke 4. Penerbit Universitas Gajah Mada, 355 – 391.
- Syahrum. M.H., Kamaludin, Tjokronegoro. A., 1994, Reproduksi dan Embriologi Dari Satu Sel Menjadi Organisme. Sesi Biologi Kedokteran. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 81-142.
- Soepeno, 1989. Dampak Pesisida . Harian ABRI, Nopember 1989. hal 6.
- Sudradjat, S.W. 1985 Statistika Non Parametrik. Penerbit CV Armico Bandung, 35 – 38.

- Sisson and Grossmans, 1975. *The Anatomy of The Domestic Animals*. Fifth Edition. Philadelphia and London. W.B Saunders Company.
- Tyl, R.W. 1992. Development and Reproductive Toxicity of Anthicolinesterases. In: *Clinical and Experimental Toxicology of Organophosphat and Carbamates*. Ballantyne, B. and T.C. Marrs(ed). Butterworth-Heinemann Ltd.
- Wiharto, 1994. *Petunjuk Membuat Mesin Penetas*. Lembaga Penerbitan Universitas Brawijaya Malang. 40-49.
- Yatim, W., 1982. *Reproduksi dan Embriologi*. Tarsito. Bandung
- Yousef. M. I., Salem M. H., Ibrahim H. Z., Helmi S., Seehy M. A. and Bertheuseen K. 1995. *Toxic effects of carbofuran and glyphosphate on semen characteristics ini rebbits*. J. Environ Sci Health. B20(4)513-534.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Penghitungan Dosis Karbofuran

PENGHITUNGAN DOSIS KARBOFURAN

Adsorpsi 50% karbofuran terjadi setelah 15 menit secara *per oral* dan dimetabolisme dalam tubuh. Konsentrasi karbofuran dapat ditemukan dalam produk-produk ekskresi sebesar 72%, 12% pada karkas, 3% pada lambung, 3% pada usus halus serta 1,8% pada hati dan peredaran darah (California Environmental Protection Agency, 2000).

Terdapat dua cara pendekatan untuk menentukan dosis suatu zat yang berpotensi menimbulkan abnormalitas perkembangan organ (teratogen) dengan menggunakan TAB. Pertama yaitu teratogen yang mempunyai Teratogen yang mempunyai LD_{50} dapat dilakukan secara langsung melalui fraksi-fraksi kelipatannya misalkan $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$ LD_{50} dan seterusnya. Dari degradasi dosis tersebut, diamati perkembangan embrio yang telah terpapar dan dosis yang digunakan sebagai dosis teratogenik adalah dosis yang mempunyai survival rate lebih dari 50% minimal sepuluh hari setelah pemaparan (Karnofsky, 1964 ; Plapp, 1981). Sementara pada teratogen yang tidak mempunyai LD_{50} dapat dilakukan pendekatan dengan pemaparan pada dosis 0,1; 1,0; dan 10 mg/butir dalam suatu kelompok sampel. Teratogen yang masih toleran pada dosis 0,1 mg/butir tetapi bersifat letal pada dosis 1,0 mg/butir, dapat dilakukan degradasi pemaparan melalui fraksi-fraksi kelipatan seperti 0,1; 0,2; 0,4 dan 0,8 mg/butir hingga diperoleh dosis yang mempunyai *survival rate* lebih dari 50% yang dievaluasi pada hari inkubasi ke 16-18 (Karnofsky, 1964; Plapp, 1981).

Pada penelitian ini menggunakan pendekatan pertama dengan dosis 1/10 dan 1/12 LD₅₀ yang masih mempunyai *survival rate* lebih dari 50% minimal 10 hari setelah pemaparan.

Penghitungannya adalah sebagai berikut :

$$\square \text{ LD}_{50} \text{ karbofuran pada ayam} = 25 \text{ mg/Kg}$$

$$\square \text{ Dosis fraksi LD}_{50} : 1). 1/10$$

$$2). 1/12.$$

$$\square \text{ Potensi residu pada yolk} = 8,2\%$$

Sehingga diperoleh hasil :

$$1). 1/10 \times 25 \text{ mg/Kg} = 0,2050 \text{ mg/Kg.}$$

$$2). 1/12 \times 25 \text{ mg/Kg} = 0,1708 \text{ mg/Kg.}$$

$$\square \text{ Furadan 3G yang mengandung karbofuran 3\% =}$$

$$\frac{\text{Karbofuran 3\%}}{\text{Furadan 3G}}$$

$$= \frac{30 \text{ gram}}{1000 \text{ gram}}$$

$$\square \text{ Furadan 3G yang mengandung karbofuran 3\% pada :}$$

$$1). \text{ Dosis fraksi } 1/10 \text{ LD}_{50} = 3\% \times a = 0,2050 \text{ mg/Kg.}$$

$$a = 6,8333 \text{ mg/Kg.}$$

$$2). \text{ Dosis fraksi } 1/12 \text{ LD}_{50} = 3\% \times b = 0,1708 \text{ mg/Kg.}$$

$$b = 5,6933 \text{ mg/Kg.}$$

$$\square \text{ Berat rata-rata Telur Ayam Bertunas (TAB)} = 62,04 \text{ gram}$$

$$\square \text{ Furadan 3G yang disuntikkan pada TAB dengan berat rata-rata } 62,04 \text{ gram pada :}$$

$$1). \text{ Dosis fraksi } 1/10 \text{ LD}_{50} = \frac{6,8333 \text{ mg/Kg} \times 62,04 \text{ gram}}{1000 \text{ gram}}$$

$$= 0,4241 \text{ mg equivalen dengan } 0,0127 \text{ mg karbofuran}$$

$$2). \text{ Dosis fraksi } 1/12 \text{ LD}_{50} = \frac{5,6933 \text{ mg/Kg} \times 62,04 \text{ gram}}{1000 \text{ gram}}$$

$$= 0,3534 \text{ mg equivalen dengan } 0,0106 \text{ karbofuran}$$

Jadi dosis yang digunakan adalah :

1. Dewasa kontrol = 0 mg/butir
2. Dewasa perlakuan 1 = 0,3534 mg/butir atau 0,0106 mg /butir
3. Dewasa perlakuan 2 = 0,4241 mg/butir atau 0,0127 mg/butir
4. Tetas kontrol = 0 mg/butir
5. Tetas perlakuan 1 = 0,3534 mg/butir atau 0,0106 mg/butir
6. Tetas perlakuan 2 = 0,4241 mg/butir atau 0,0127 mg/butir

Lampiran 2. Prosedur pewarnaan tulang dengan menggunakan metode dari (Conn *et al*, 1960) yang dimodifikasi

1. Ayam atau DOC dibunuh, semua organ dikeluarkan, kulit dan bulu dibuang
2. Ayam atau DOC difiksasi dalam alkohol 96% minimal selama satu minggu
3. Ayam atau DOC direndam ke dalam larutan KOH 2% selama 24 jam, perendaman ini dimaksudkan agar otot-ototnya kelihatan transparan.
4. Ayam atau DOC dipindahkan kedalam larutan KOH 2% yang sebelumnya sudah dicampur dengan 0,005% Alizarin Red S sebanyak 35 mg dalam 1 liter KOH 2% untuk DOC, dan 50 mg dalam 1 liter KOH 2% untuk ayam umur 2 minggu, selama 24 jam
5. Ayam atau DOC direndam dalam KOH 1%, kemudian dijernihkan dalam larutan campuran KOH 2% dan gliserin

KOH : Gliserin, 3:1 selama 24 jam
KOH : Gliserin, 1:1 selama 24 jam
KOH : Gliserin, 1:3 selama 24 jam
6. Ayam atau DOC disimpan dalam gliserin 100% ditambah timol untuk mencegah tumbuhnya jamur

Lampiran 3. Data dan Penghitungan Statistik Kejadian Fusi Vertebrae Cervikalis Ayam Umur Satu Hari

| No ulangan | K | P1 | P2 |
|------------|----|----|----|
| 1 | 1 | 1 | 1 |
| 2 | 1 | 2 | 1 |
| 3 | 1 | 1 | 1 |
| 4 | 1 | 1 | 1 |
| 5 | 1 | 1 | 1 |
| 6 | 1 | 1 | 1 |
| 7 | 1 | 2 | 1 |
| 8 | 1 | 1 | 1 |
| 9 | 1 | 1 | 2 |
| 10 | 1 | 1 | |
| Normal | 10 | 8 | 8 |
| Abnormal | 0 | 2 | 1 |

Keterangan:

1 =Terdapat fusi

2 =Tidak terdapat fusi

(K) penyuntikan dengan aquabidestilata

(P1) penyuntikan Furadan 3G dengan dosis 0,0106 mg/0,1 ml/butir

(P2) penyuntikan Furadan 3G dengan dosis 0,0127 mg/0,1 ml/butir

Case Processing Summary

| | Cases | | | | | |
|---------------------------------------|-------|---------|---------|---------|-------|---------|
| | Valid | | Missing | | Total | |
| | N | Percent | N | Percent | N | Percent |
| Perlakuan * Fusi vert. cervikalis DOC | 29 | 96,7% | 1 | 3,3% | 30 | 100,0% |

Perlakuan * Fusi vert. cervikalis DOC

| | | | Fusi vert. cervikalis | | Total |
|-----------|-------|--------------------------------|-----------------------|--------|--------|
| | | | Tidak | Fusi | |
| Perlakuan | K | Count | 10 | 0 | 10 |
| | | Expected | 9,0 | 1,0 | 10,0 |
| | | % within | 100,0% | ,0% | 100,0% |
| | | % within Fusi vert. cervikalis | 38,5% | ,0% | 34,5% |
| | | % of Total | 34,5% | ,0% | 34,5% |
| P1 | P1 | Count | 8 | 2 | 10 |
| | | Expected | 9,0 | 1,0 | 10,0 |
| | | % within | 80,0% | 20,0% | 100,0% |
| | | % within Fusi vert. cervikalis | 30,8% | 66,7% | 34,5% |
| | | % of Total | 27,6% | 6,9% | 34,5% |
| P2 | P2 | Count | 8 | 1 | 9 |
| | | Expected | 8,1 | ,9 | 9,0 |
| | | % within | 88,9% | 11,1% | 100,0% |
| | | % within Fusi vert. cervikalis | 30,8% | 33,3% | 31,0% |
| | | % of Total | 27,6% | 3,4% | 31,0% |
| Total | Total | Count | 26 | 3 | 29 |
| | | Expected | 26,0 | 3,0 | 29,0 |
| | | % within | 89,7% | 10,3% | 100,0% |
| | | % within Fusi vert. cervikalis | 100,0% | 100,0% | 100,0% |
| | | % of Total | 89,7% | 10,3% | 100,0% |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymp. Sig. (2-sided) |
|------------------------------|--------------------|----|-----------------------|
| Pearson Chi-Square | 2,165 ^a | 2 | ,339 |
| Continuity Correction | | | |
| Likelihood Ratio | 3,003 | 2 | ,223 |
| Linear-by-Linear Association | ,668 | 1 | ,414 |
| N of Valid Cases | 29 | | |

a. 3 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,93.

**Lampiran. 4 Data dan Penghitungan Statistik Jumlah Tulang Costae Ayam
Umur Satu Hari**

| No ulangan | K | P1 | P2 |
|------------|---|----|----|
| 1 | 1 | 1 | 1 |
| 2 | 1 | 2 | 1 |
| 3 | 1 | 2 | 1 |
| 4 | 1 | 1 | 2 |
| 5 | 1 | 2 | 1 |
| 6 | 2 | 2 | 2 |
| 7 | 1 | 1 | 2 |
| 8 | 1 | 1 | 2 |
| 9 | 1 | 2 | 2 |
| 10 | 1 | 1 | |
| Normal | 9 | 5 | 4 |
| Abnormal | 1 | 5 | 5 |

Keterangan:

1 =Jumlah costae 7

2 =Jumlah costae lebih atau kurang dari 7

(K) penyuntikan dengan aquabidestilata

(P1) penyuntikan Furadan 3G dengan dosis 0,0106 mg/0,1 ml/butir

(P2) penyuntikan Furadan 3G dengan dosis 0,0127 mg/0,1 ml/butir

Case Processing Summary

| | Cases | | | | | |
|----------------------------|-------|---------|---------|---------|-------|---------|
| | Valid | | Missing | | Total | |
| | N | Percent | N | Percent | N | Percent |
| Perlakuan * Jml costae DOC | 29 | 96,7% | 1 | 3,3% | 30 | 100,0% |

Perlakuan * Jml costae DOC Crosstabulation

| | | | Jml costae | | Total |
|-----------|-------|---------------------|------------|--------|--------|
| | | | 7 | <> 7 | |
| Perlakuan | K | Count | 9 | 1 | 10 |
| | | Expected | 6,2 | 3,8 | 10,0 |
| | | % within | 90,0% | 10,0% | 100,0% |
| | | % within Jml costae | 50,0% | 9,1% | 34,5% |
| | | % of Total | 31,0% | 3,4% | 34,5% |
| P1 | P1 | Count | 5 | 5 | 10 |
| | | Expected | 6,2 | 3,8 | 10,0 |
| | | % within | 50,0% | 50,0% | 100,0% |
| | | % within Jml costae | 27,8% | 45,5% | 34,5% |
| | | % of Total | 17,2% | 17,2% | 34,5% |
| P2 | P2 | Count | 4 | 5 | 9 |
| | | Expected | 5,6 | 3,4 | 9,0 |
| | | % within | 44,4% | 55,6% | 100,0% |
| | | % within Jml costae | 22,2% | 45,5% | 31,0% |
| | | % of Total | 13,8% | 17,2% | 31,0% |
| Total | Total | Count | 18 | 11 | 29 |
| | | Expected | 18,0 | 11,0 | 29,0 |
| | | % within | 62,1% | 37,9% | 100,0% |
| | | % within Jml costae | 100,0% | 100,0% | 100,0% |
| | | % of Total | 62,1% | 37,9% | 100,0% |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymp. Sig. (2-sided) |
|------------------------------|--------------------|----|-----------------------|
| Pearson Chi-Square | 5,120 ^a | 2 | ,077 |
| Continuity Correction | | | |
| Likelihood Ratio | 5,766 | 2 | ,056 |
| Linear-by-Linear Association | 4,147 | 1 | ,042 |
| N of Valid Cases | 29 | | |

a. 3 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3,41.

**Lampiran 5. Data dan Penghitungan Statistik Jumlah Prosesus Uncinatus
Ayam Umur Satu Hari**

| No ulangan | K | P1 | P2 |
|---------------|----|----|----|
| 1 | 1 | 1 | 1 |
| 2 | 1 | 2 | 1 |
| 3 | 1 | 2 | 2 |
| 4 | 1 | 1 | 2 |
| 5 | 1 | 2 | 2 |
| 6 | 1 | 1 | 2 |
| 7 | 1 | 2 | 2 |
| 8 | 1 | 2 | 2 |
| 9 | 1 | 2 | 2 |
| 10 | 1 | 2 | |
| Normal | 10 | 3 | 2 |
| Abnormal | 0 | 7 | 7 |

Keterangan:

1 =Jumlah prosesus uncinatus 4

2 =Jumlah prosesus uncinatus lebih atau kurang dari 4

(K) penyuntikan dengan aquabidestilata

(P1) penyuntikan Furadan 3G dengan dosis 0,0106 mg/0,1 ml/butir

(P2) penyuntikan Furadan 3G dengan dosis 0,0127 mg/0,1 ml/butir

Case Processing Summary

| | Cases | | | | | |
|-------------------------------------|-------|---------|---------|---------|-------|---------|
| | Valid | | Missing | | Total | |
| | N | Percent | N | Percent | N | Percent |
| Perlakuan * Jml proc. uncinatus DOC | 29 | 96,7% | 1 | 3,3% | 30 | 100,0% |

Perlakuan * Jml proc. uncinatus DOC

| | | | Jml proc. uncinatus | | Total |
|-----------|-------|------------------------------|---------------------|--------|--------|
| | | | 4 | <> 4 | |
| Perlakuan | K | Count | 10 | 0 | 10 |
| | | Expected | 5,2 | 4,8 | 10,0 |
| | | % within | 100,0% | ,0% | 100,0% |
| | | % within Jml proc. uncinatus | 66,7% | ,0% | 34,5% |
| | | % of Total | 34,5% | ,0% | 34,5% |
| P1 | P1 | Count | 3 | 7 | 10 |
| | | Expected | 5,2 | 4,8 | 10,0 |
| | | % within | 30,0% | 70,0% | 100,0% |
| | | % within Jml proc. uncinatus | 20,0% | 50,0% | 34,5% |
| | | % of Total | 10,3% | 24,1% | 34,5% |
| P2 | P2 | Count | 2 | 7 | 9 |
| | | Expected | 4,7 | 4,3 | 9,0 |
| | | % within | 22,2% | 77,8% | 100,0% |
| | | % within Jml proc. uncinatus | 13,3% | 50,0% | 31,0% |
| | | % of Total | 6,9% | 24,1% | 31,0% |
| Total | Total | Count | 15 | 14 | 29 |
| | | Expected | 15,0 | 14,0 | 29,0 |
| | | % within | 51,7% | 48,3% | 100,0% |
| | | % within Jml proc. uncinatus | 100,0% | 100,0% | 100,0% |
| | | % of Total | 51,7% | 48,3% | 100,0% |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymp. Sig. (2-sided) |
|------------------------------|---------------------|----|-----------------------|
| Pearson Chi-Square | 14,360 ^a | 2 | ,001 |
| Continuity Correction | | | |
| Likelihood Ratio | 18,416 | 2 | ,000 |
| Linear-by-Linear Association | 11,416 | 1 | ,001 |
| N of Valid Cases | 29 | | |

a. 4 cells (66,7%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4,34.

Lampiran 6. Data dan Penghitungan Statistik Jumlah Tulang Phalank Ayam Umur Satu Hari

| No ulangan | K | P1 | P2 |
|------------|----|----|----|
| 1 | 1 | 1 | 1 |
| 2 | 1 | 2 | 1 |
| 3 | 1 | 1 | 1 |
| 4 | 1 | 1 | 1 |
| 5 | 1 | 2 | 2 |
| 6 | 1 | 1 | 1 |
| 7 | 1 | 1 | 1 |
| 8 | 1 | 1 | 1 |
| 9 | 1 | 1 | 1 |
| 10 | 1 | 1 | |
| Normal | 10 | 8 | 8 |
| Abnormal | 0 | 2 | 1 |

Keterangan:

1 =Jumlah phalank digit keII= 5

2 =Jumlah phalank digit keII lebih atau kurang dari 5

(K) penyuntikan dengan aquabidestilata

(P1) penyuntikan Furadan 3G dengan dosis 0,0106 mg/0,1 ml/butir

(P2) penyuntikan Furadan 3G dengan dosis 0,0127 mg/0,1 ml/butir

Case Processing Summary

| | Cases | | | | | |
|--------------------------------------|-------|---------|---------|---------|-------|---------|
| | Valid | | Missing | | Total | |
| | N | Percent | N | Percent | N | Percent |
| Perlakuan * Jml phalanx digit II DOC | 29 | 96,7% | 1 | 3,3% | 30 | 100,0% |

Perlakuan * Jml phalanx digit II DOC

| | | | Jml phalanx digit II | | Total |
|-----------|-------|-------------------------------|----------------------|--------|--------|
| | | | 5 | </> 5 | |
| Perlakuan | K | Count | 10 | 0 | 10 |
| | | Expected | 9,0 | 1,0 | 10,0 |
| | | % within | 100,0% | ,0% | 100,0% |
| | | % within Jml phalanx digit II | 38,5% | ,0% | 34,5% |
| | | % of Total | 34,5% | ,0% | 34,5% |
| P1 | P1 | Count | 8 | 2 | 10 |
| | | Expected | 9,0 | 1,0 | 10,0 |
| | | % within | 80,0% | 20,0% | 100,0% |
| | | % within Jml phalanx digit II | 30,8% | 66,7% | 34,5% |
| | | % of Total | 27,6% | 6,9% | 34,5% |
| P2 | P2 | Count | 8 | 1 | 9 |
| | | Expected | 8,1 | ,9 | 9,0 |
| | | % within | 88,9% | 11,1% | 100,0% |
| | | % within Jml phalanx digit II | 30,8% | 33,3% | 31,0% |
| | | % of Total | 27,6% | 3,4% | 31,0% |
| Total | Total | Count | 26 | 3 | 29 |
| | | Expected | 26,0 | 3,0 | 29,0 |
| | | % within | 89,7% | 10,3% | 100,0% |
| | | % within Jml phalanx digit II | 100,0% | 100,0% | 100,0% |
| | | % of Total | 89,7% | 10,3% | 100,0% |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymp. Sig. (2-sided) |
|------------------------------|--------------------|----|-----------------------|
| Pearson Chi-Square | 2,165 ^a | 2 | ,339 |
| Continuity Correction | | | |
| Likelihood Ratio | 3,003 | 2 | ,223 |
| Linear-by-Linear Association | ,668 | 1 | ,414 |
| N of Valid Cases | 29 | | |

a. 3 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,93.

Lampiran 7. Data Kejadian Fusi Vertebrae Cervikalis Ayam Umur Dua Minggu.

| No ulangan | K | P1 | P2 |
|------------|----|----|----|
| 1 | 1 | 1 | 1 |
| 2 | 1 | 1 | 1 |
| 3 | 1 | 1 | 1 |
| 4 | 1 | 1 | 1 |
| 5 | 1 | 1 | 1 |
| 6 | 1 | 1 | 1 |
| 7 | 1 | 1 | 1 |
| 8 | 1 | 1 | 1 |
| 9 | 1 | | 1 |
| 10 | 1 | | 1 |
| Normal | 10 | 8 | 10 |
| Abnormal | 0 | 0 | 0 |

Keterangan:

1 =Tidak Terdapat Fusi

2 =Terdapat Fusi

(K) penyuntikan dengan aquabidestilata

(P1) penyuntikan Furadan 3G dengan dosis 0,0106 mg/0,1 ml/butir

(P2) penyuntikan Furadan 3G dengan dosis 0,0127 mg/0,1 ml/butir

Lampiran 8. Data dan penghitungan statistik jumlah tulang costae ayam umur dua minggu.

| No ulangan | K | P1 | P2 |
|------------|----|----|----|
| 1 | 1 | 1 | 1 |
| 2 | 1 | 1 | 1 |
| 3 | 1 | 1 | 1 |
| 4 | 1 | 1 | 1 |
| 5 | 1 | 2 | 1 |
| 6 | 1 | 1 | 1 |
| 7 | 1 | 1 | 1 |
| 8 | 1 | 1 | 1 |
| 9 | 1 | | 1 |
| 10 | 1 | | 1 |
| Normal | 10 | 7 | 10 |
| Abnormal | 0 | 1 | 0 |

Keterangan:

1 =Jumlah costae 7

2 =Jumlah costae lebih atau kurang dari 7

(K) penyuntikan dengan aquabidestilata

(P1) penyuntikan Furadan 3G dengan dosis 0,0106 mg/0,1 ml

(P2) penyuntikan Furadan 3G dengan dosis 0,0127 mg/0,1 ml

Case Processing Summary

| | Cases | | | | | |
|-----------------------------|-------|---------|---------|---------|-------|---------|
| | Valid | | Missing | | Total | |
| | N | Percent | N | Percent | N | Percent |
| Perlakuan * Jml costae Mg-2 | 28 | 93,3% | 2 | 6,7% | 30 | 100,0% |

Perlakuan * Jml costae Mg-2

| | | | Jml costae Mg- | | Total |
|-----------|---------------------|---------------------|----------------|--------|--------|
| | | | 7 | <> 7 | |
| Perlakuan | K | Count | 10 | 0 | 10 |
| | | Expected | 9,6 | ,4 | 10,0 |
| | | % within | 100,0% | ,0% | 100,0% |
| | | % within Jml costae | 37,0% | ,0% | 35,7% |
| | | % of Total | 35,7% | ,0% | 35,7% |
| P1 | Count | 7 | 1 | 8 | |
| | Expected | 7,7 | ,3 | 8,0 | |
| | % within | 87,5% | 12,5% | 100,0% | |
| | % within Jml costae | 25,9% | 100,0% | 28,6% | |
| | % of Total | 25,0% | 3,6% | 28,6% | |
| P2 | Count | 10 | 0 | 10 | |
| | Expected | 9,6 | ,4 | 10,0 | |
| | % within | 100,0% | ,0% | 100,0% | |
| | % within Jml costae | 37,0% | ,0% | 35,7% | |
| | % of Total | 35,7% | ,0% | 35,7% | |
| Total | Count | 27 | 1 | 28 | |
| | Expected | 27,0 | 1,0 | 28,0 | |
| | % within | 96,4% | 3,6% | 100,0% | |
| | % within Jml costae | 100,0% | 100,0% | 100,0% | |
| | % of Total | 96,4% | 3,6% | 100,0% | |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymp. Sig. (2-sided) |
|------------------------------|--------------------|----|--------------------------|
| Pearson Chi-Square | 2,593 ^a | 2 | ,274 |
| Continuity Correction | | | |
| Likelihood Ratio | 2,600 | 2 | ,273 |
| Linear-by-Linear Association | ,000 | 1 | 1,000 |
| N of Valid Cases | 28 | | |

a. 3 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,29.

Lampiran 9. Data dan Penghitungan Statistik Jumlah Prosesus Uncinatus Ayam Umur Dua Minggu

| No ulangan | K | P1 | P2 |
|------------|----|----|----|
| 1 | 1 | 2 | 1 |
| 2 | 1 | 2 | 1 |
| 3 | 1 | 2 | 1 |
| 4 | 1 | 1 | 1 |
| 5 | 1 | 2 | 1 |
| 6 | 1 | 2 | 1 |
| 7 | 1 | 1 | 1 |
| 8 | 1 | 1 | 1 |
| 9 | 1 | | 1 |
| 10 | 1 | | 1 |
| Normal | 10 | 3 | 10 |
| Abnormal | 0 | 5 | 0 |

Keterangan:

1 =Jumlah prosesus uncinatus 4

2 =Jumlah prosesus uncinatus lebih atau kurang dari 4

(K) penyuntikan dengan aquabidestilata

(P1) penyuntikan Furadan 3G dengan dosis 0,0106mg/0,1ml/butir

(P2) penyuntikan Furadan 3G dengan dosis 0,0127 mg/ 0,1ml/butir

Case Processing Summary

| | Cases | | | | | |
|--------------------------------------|-------|---------|---------|---------|-------|---------|
| | Valid | | Missing | | Total | |
| | N | Percent | N | Percent | N | Percent |
| Perlakuan * Jml proc. uncinatus Mg-2 | 28 | 93,3% | 2 | 6,7% | 30 | 100,0% |

Perlakuan * Jml proc. uncinatus Mg-2

| | | | Jml proc. uncinatus | | Total |
|-----------|-------|------------------------------|---------------------|--------|--------|
| | | | 4 | <> 4 | |
| Perlakuan | K | Count | 10 | 0 | 10 |
| | | Expected | 8,2 | 1,8 | 10,0 |
| | | % within | 100,0% | ,0% | 100,0% |
| | | % within Jml proc. uncinatus | 43,5% | ,0% | 35,7% |
| | | % of Total | 35,7% | ,0% | 35,7% |
| P1 | P1 | Count | 3 | 5 | 8 |
| | | Expected | 6,6 | 1,4 | 8,0 |
| | | % within | 37,5% | 62,5% | 100,0% |
| | | % within Jml proc. uncinatus | 13,0% | 100,0% | 28,6% |
| | | % of Total | 10,7% | 17,9% | 28,6% |
| P2 | P2 | Count | 10 | 0 | 10 |
| | | Expected | 8,2 | 1,8 | 10,0 |
| | | % within | 100,0% | ,0% | 100,0% |
| | | % within Jml proc. uncinatus | 43,5% | ,0% | 35,7% |
| | | % of Total | 35,7% | ,0% | 35,7% |
| Total | Total | Count | 23 | 5 | 28 |
| | | Expected | 23,0 | 5,0 | 28,0 |
| | | % within | 82,1% | 17,9% | 100,0% |
| | | % within Jml proc. uncinatus | 100,0% | 100,0% | 100,0% |
| | | % of Total | 82,1% | 17,9% | 100,0% |

Chi-Square Tests

| | Value | df | Asymp. Sig. (2-sided) |
|------------------------------|---------------------|----|-----------------------|
| Pearson Chi-Square | 15,217 ^a | 2 | ,000 |
| Continuity Correction | | | |
| Likelihood Ratio | 15,691 | 2 | ,000 |
| Linear-by-Linear Association | ,000 | 1 | 1,000 |
| N of Valid Cases | 28 | | |

a. 3 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1,43.

Lampiran 10. Data Jumlah Tulang Phalank Ayam Umur Dua Minggu

| No ulangan | K | P1 | P2 |
|------------|----|----|----|
| 1 | 1 | 1 | 1 |
| 2 | 1 | 1 | 1 |
| 3 | 1 | 1 | 1 |
| 4 | 1 | 1 | 1 |
| 5 | 1 | 1 | 1 |
| 6 | 1 | 1 | 1 |
| 7 | 1 | 1 | 1 |
| 8 | 1 | 1 | 1 |
| 9 | 1 | | 1 |
| 10 | 1 | | 1 |
| Normal | 10 | 8 | 10 |
| Abnormal | 0 | 0 | 0 |

Keterangan:

1 =Jumlah tulang phalank digit ke II =5

2 =Jumlah tulang phalank digit II lebih atau kurang dari 5

(K) penyuntikan dengan aquabidestilata

(P1) penyuntikan Furadan 3G dengan dosis 0,0106 mg/0,1ml/butir

(P2) penyuntikan Furadan 3G dengan dosis 0,0127 mg/ 0,1ml/butir