

SKRIPSI

**EFEK PEMAPARAN INSEKTISIDA KARBOFURAN
TERHADAP PERKEMBANGAN
OTAK AYAM**



Oleh :

I MADE BANGUN ARSANA
SURABAYA - JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2004**

**EFEK PEMAPARAN INSEKTISIDA KARBOFURAN
TERHADAP PERKEMBANGAN
OTAK AYAM**

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk menempuh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

Pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh

I MADE BANGUN ARSANA

NIM. 069912705

Menyetujui,

Komisi Pembimbing,



Nove Hidayati, M.Kes., Drh

Pembimbing Pertama



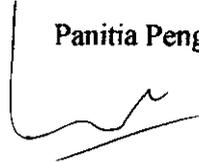
Rochmah Kurniasanti, M.Si., Drh

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,

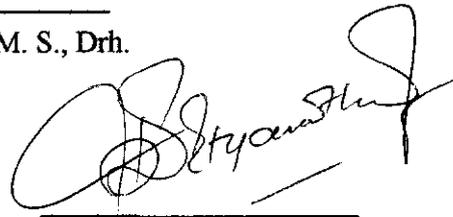


Dr. Bambang Poernomo, M. S., Drh.

Ketua

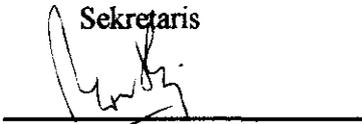


Roesno Darsono, Drh.



Setiawati Sigit, M. S., Drh.

Sekretaris



Nove Hidayati, M. Kes., Drh.

Anggota



Rochmah Kurniasanti, M. Si., Drh.

Anggota

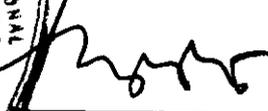
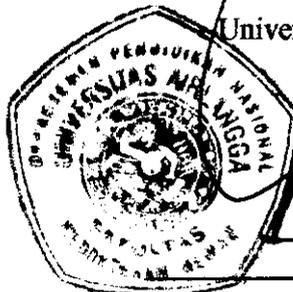
Anggota

Surabaya, 14 Juni 2004

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



Prof. Dr. Ismudiono, M.S., Drh.
NIP. 130 687 297

EFEK PEMAPARAN INSEKTISIDA KARBOFURAN TERHADAP PERKEMBANGAN OTAK AYAM

I Made Bangun Arsana

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui efek dari pemaparan insektisida karbofuran pada masa embrional terhadap bobot otak dan jumlah sel purkinje otak bagian cerebellum karena karbofuran merupakan bahan insektisida yang bersifat menghambat aktifitas cholinesterase bahkan pada masa embrional sehingga berpotensi teratogenik pada ayam.

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan tiga perlakuan dan masing-masing perlakuan terdiri dari sepuluh ulangan. Sejumlah 60 butir telur ayam bertunas (TAB) berasal dari *parent stock* ayam pedaging (Broiler) yang belum diinkubasi dengan berat rata-rata 62,04 gram dibagi menjadi dua umur pengamatan yaitu ayam umur satu hari (DOC) dan ayam umur dua minggu. Masing-masing waktu pengamatan tersebut dibagi lagi menjadi tiga kelompok perlakuan yaitu kelompok perlakuan kontrol (P0) dan kelompok perlakuan (P1 dan P2). Karbofuran dilarutkan dalam PZ steril, kemudian disuntikkan ke TAB dengan dosis 0,0106 mg/0,1 ml/ butir (P1) dan 0,0127 mg/0,1 ml/ butir (P2). Kelompok perlakuan kontrol disuntik dengan PZ steril sebanyak 0,1 ml.

Dosis teratogenik yang digunakan memakai pendekatan LD₅₀ pada ayam dewasa serta potensi residu pada kuning telur sehingga hasil yang diperoleh dapat menunjukkan dosis riil pada kondisi lingkungan. Pada penelitian pendahuluan didapat dosis $\frac{1}{10}$ dan $\frac{1}{12}$ LD₅₀ yang *equivalent* dengan dosis karbofuran 0,0106 mg/butir dan 0,0127 mg/butir.

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan Analisis Varian (ANOVA) untuk mengetahui pengaruh dari perlakuan. Jika perlakuan memberikan pengaruh nyata dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf signifikansi 95% untuk mengetahui pengaruh dari masing-masing perlakuan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penyuntikan karbofuran pada masa embrional dengan dosis 0,0106 mg/butir (P1) dan 0,0127 mg/butir untuk P2, pada DOC tidak memberikan pengaruh nyata ($p > 0,05$) terhadap bobot otak maupun jumlah sel purkinje otak. Sedangkan pada ayam umur dua minggu, perlakuan memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap bobot otak maupun jumlah sel purkinje otak. Dari uji BNT diketahui bobot otak P0 tidak berbeda nyata dibandingkan dengan P1 dan berbeda nyata dibandingkan P2. Sedangkan P1 tidak berbeda nyata dibandingkan P0 dan P2. Uji BNT terhadap jumlah sel purkinje diketahui jumlah sel purkinje P0 berbeda nyata dibandingkan dengan P1 dan P2, sedangkan P1 tidak berbeda nyata dibandingkan dengan P2.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa 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 terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Dr. Ismudiono., Drh selaku dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
2. Ibu Nove Hidajati, M.Kes., Drh dan ibu Rochmah Kurnijasanti, M.Si., Drh yang telah membimbing penulis sepenuhnya hingga selesainya tulisan ini.
3. Kepala serta staf pengajar laboratorium Fisiologi Reproduksi yang telah bersedia menyediakan peralatan serta laboratorium selama penulis melakukan penelitian.
4. Kepala dan para dosen laboratorium Patologi yang telah memberikan informasi dan pembuatan preparat histopatologi serta pemotretan preparat.
5. Bapak Epy Mohamad Luqman, M.Kes., Drh beserta keluarga yang telah memberikan bimbingan serta bantuan kepada penulis.
6. Papa, mama, kakak, serta adik yang telah memberikan dukungan kepada penulis selama ini.
7. Teman-teman serta sahabat Dodit, CT, Fery, Hani, Ucok, Badrul, Mbak Erlyn, Mbak Rose, dan Laksmi atas dukungannya terhadap penulis.

8. Semua pihak yang telah membantu hingga selesainya tulisan ini.

Penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna. Semoga tulisan ini dapat memberikan manfaat bagi masyarakat. Akhir kata penulis mengucapkan terima kasih.

Surabaya, April 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.....	3
1.3. Landasan Teori.....	3
1.4. Tujuan Penelitian.....	5
1.5. Hipotesis.....	6
1.6. Manfaat Penelitian.....	6
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Insektisida Karbofuran.....	7
2.2. Embriogenesis pada Ayam.....	12
2.3. Perkembangan Sistem Saraf Pusat pada Ayam.....	17
2.4. Mekanisme Kerja Teratogen.....	20
BAB III. MATERI DAN METODE	23
3.1. Rancangan Penelitian.....	23
3.2. Tempat dan Waktu Penelitian.....	23
3.3. Bahan dan Materi Percobaan.....	23
3.3.1. Sampel Penelitian.....	23
3.3.2. Bahan Penelitian.....	24

3.3.3. Bahan Kimia dan Bahan Penunjang.....	24
3.3.4. Peralatan Penelitian.....	24
3.4. Metode Penelitian.....	24
3.4.1. Penentuan Dosis.....	24
3.4.2. Persiapan Sampel Penelitian.....	26
3.4.3. Perlakuan.....	27
3.4.4. Pengambilan Sampel.....	27
3.4.5. Pemeriksaan Sampel.....	28
3.4.5.1. Sampel Anak Ayam Umur Satu Hari (DOC).....	28
3.4.5.2. Sampel Ayam Umur Dua Minggu.....	28
3.5. Analisis Data.....	28
BAB IV. HASIL PENELITIAN.....	30
4.1. Hasil Pengukuran Bobot Otak pada Ayam.....	30
4.1.1. Hasil Pengukuran Bobot Otak pada DOC.....	30
4.1.2. Hasil Pengukuran Bobot Otak pada Ayam Umur Dua Minggu.....	31
4.2. Hasil Perhitungan Jumlah Sel Purkinje Otak Bagian Cerebellum.....	33
4.2.1. Hasil Perhitungan Jumlah Sel Purkinje Otak Bagian Cerebellum pada DOC.....	33
4.2.2. Hasil Perhitungan Jumlah Sel Purkinje Otak Bagian Cerebellum pada Ayam Umur Dua Minggu.....	34
BAB V. PEMBAHASAN.....	36
5.1. Bobot Otak Ayam Akibat Pemaparan Insektisida Karbofuran.....	36
5.2. Jumlah Sel Purkinje dari Gambaran Histologi Otak Ayam Akibat Pemaparan Insektisida Karbofuran.....	39

BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	43
6.1. Kesimpulan.....	43
6.2. Saran.....	44
RINGKASAN	45
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN	52

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Dosis Furadan 3G dan <i>Survival Rate</i> Setelah 10 Hari Inkubasi.....	26
Tabel 2. Hasil Pengukuran Bobot Otak pada DOC.....	30
Tabel 3. Hasil Pengukuran Bobot Otak pada Ayam Umur Dua Minggu.....	31
Tabel 4. Hasil Perhitungan Jumlah Sel Purkinje Otak Bagian Cerebellum pada DOC.....	33
Tabel 5. Hasil Perhitungan Jumlah Sel purkinje Otak Bagian Cerebellum pada Ayam Umur Dua Minggu.....	34
Tabel 6. Data Bobot Otak pada DOC.....	56
Tabel 7. Data Bobot Otak pada Ayam Umur Dua Minggu.....	57
Tabel 8. Data Jumlah Rata-rata Sel Purkinje pada DOC.....	59
Tabel 9. Data Jumlah Rata-rata Sel Purkinje pada Anak Ayam Umur Dua Minggu.....	60

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Pembuatan Sediaan Histopatologis.....	53
Lampiran 2. Data dan Analisis Statistik Bobot Otak pada DOC.....	56
Lampiran 3. Data dan Analisis Statistik Bobot Otak pada Ayam Umur Dua Minggu.....	57
Lampiran 4. Data dan Analisis Statistik Jumlah Rata-rata Sel Purkinje pada DOC.....	59
Lampiran 5. Data dan Analisis Statistik Jumlah Rata-rata Sel Purkinje pada Ayam Umur Dua Minggu.....	60
Lampiran 6. Penghitungan Dosis Karbofuran.....	62

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Struktur Kimia Karbofuran.....	8
Gambar 2. Telur dan Bagian-bagiannya.....	13
Gambar 3. Blastodisc.....	13
Gambar 4. Perkembangan Embrio Ayam Setelah Inkubasi 72 Jam.....	19
Gambar 5. Organ Otak dengan Berbagai Perlakuan.....	32
Gambar 6. Sel Purkinje dari Organ Otak DOC.....	33
Gambar 7. Sel Purkinje dari Organ Otak Ayam Umur Dua Minggu.....	35

BAB I
PENDAHULUAN

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Penggunaan insektisida dewasa ini sudah sedemikian luas, sehingga mulai menimbulkan efek samping yang seringkali dapat merugikan. Pertanian merupakan sektor dengan tingkat pemakaian insektisida yang cukup tinggi sedangkan produk-produk yang dihasilkan dari sektor pertanian sebagian besar akan menjadi konsumsi manusia. Insektisida pada bidang pertanian terutama digunakan untuk pengendalian terhadap hama tanaman. Penggunaan insektisida dalam jangka pendek dirasakan sangat efektif untuk mengatasi serangan hama tanaman sehingga sebagian besar sistem pertanian intensif tidak pernah lepas dari penggunaan insektisida (Lu, 1995).

Di samping keuntungan dari penggunaan insektisida, manusia juga menghadapi efek samping yang seringkali tidak disadari akibat dari penggunaannya yang tidak terkontrol. Keracunan dan pencemaran lingkungan pertanian akibat penggunaan insektisida adalah dampak yang paling mudah diamati dan sering terjadi, juga dapat berakibat fatal bagi manusia dan lingkungannya. Residu yang terjadi akibat penggunaan dalam jangka panjang akan mengakibatkan perubahan dalam keseimbangan ekosistem yang disebabkan matinya organisme bukan sasaran serta timbulnya resistensi hama (Lu, 1995).

Dikenal tiga golongan insektisida yaitu golongan organoklorin, organofosfat dan karbamat. Golongan karbamat seperti karbaril, aldikarb dan

karbofuran banyak digunakan sebagai bahan insektisida pertanian khususnya karbofuran karena memiliki daya kerja yang cepat dan berspektrum luas terhadap hama. Kebanyakan golongan karbamat bersifat toksik bagi hewan termasuk manusia walaupun tingkat kepekaannya berbeda-beda. Pada bangsa burung, karbofuran memiliki efek toksik yang tinggi dan burung dapat terbunuh karena memakan bentuk granul dari karbofuran (Oregon State University, 1996).

Insektisida kelompok karbamat memiliki efek toksik yang lebih rendah dibandingkan kelompok lainnya sehingga sering digunakan sebagai insektisida pilihan (Natawigena, 1989). Burung sebagai salah satu komponen ekosistem, memiliki kepekaan yang lebih tinggi terhadap pemaparan insektisida kelompok karbamat. Manifestasinya berupa tingkat kematian yang tinggi akibat keracunan dan dalam jangka panjang berpotensi menimbulkan kelainan perkembangan seperti mikromelia, *parrot beak*, pertumbuhan bulu yang abnormal, serta kelainan pada rangka (Hoffman and Eastin, 1981).

Kelompok karbamat seperti karbofuran, pada individu dewasa bekerja menghambat aktifitas Choline Esterase (ChE) pada sistem saraf manusia, vertebrata, dan serangga. Pada masa embrional, pemaparan karbofuran dapat menghambat perkembangan otak selain juga hambatan pada ChE dan kelainan ini berpotensi untuk terus terjadi sampai individu tersebut menetas. Otak pada golongan unggas merupakan pusat dari segala aktifitas seperti penglihatan, pendengaran, kontrol pernafasan dan detak jantung, ketrampilan bawah sadar, mengatur suhu badan, tekanan darah, reaksi emosional yang diperlukan untuk

bertahan hidup: nafsu makan, agresivitas, reaksi terbang dan perasaan seksual (Setiani, 2001).

Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh pemaparan insektisida karbofuran terhadap perkembangan otak serta jumlah sel purkinje otak dari gambaran histopatologis otak yang diamati pada anak ayam umur satu hari (DOC) dan ayam umur dua minggu.

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Apakah pemaparan insektisida karbofuran berpengaruh terhadap bobot otak pada DOC dan ayam berumur dua minggu?
2. Apakah pemaparan karbofuran berpengaruh terhadap jumlah sel purkinje otak bagian cerebellum pada DOC dan ayam umur dua minggu?

1.3. Landasan Teori

Insektisida golongan karbamat khususnya karbofuran memiliki mekanisme kerja menghambat aktifitas ChE. ChE terdapat pada seluruh tubuh, namun konsentrasi tertinggi terdapat pada sistem saraf. ChE merupakan enzim yang berperan dalam hidrolisis *neurotransmitter* acetylcholine menjadi choline dan asam asetat serta terlibat dalam mekanisme regulasi, proliferasi dan diferensiasi sel (Anonymous, 2003¹).

Pada masa embrional, pemaparan insektisida karbofuran menyebabkan adanya hambatan pada pembentukan lima vesikel otak embrio ayam yang telah diinkubasi selama 72 jam (Nasrun, 1991). Perkembangan bermacam-macam organ selama embriogenesis merupakan suatu rangkaian tingkatan yang berbeda-beda yang dikontrol dengan tepat dalam waktu dan ruang. Sel asal akan menyebar sedikit demi sedikit dan pada waktu penyebaran itu diikuti oleh bermacam-macam kejadian sehingga akhirnya terbentuk suatu susunan jaringan yang teratur dengan bentuk, ukuran dan fungsi yang spesifik. Selain dikendalikan oleh faktor genetik, penyebaran sel embrionik tergantung dari interaksi antar sel termasuk diantaranya fungsi dari beragam enzim sebagai induktor yang salah satunya adalah ChE.

Dalam menentukan dosis teratogenik pada embrio ayam (TAB), dilakukan pendekatan LD_{50} pada ayam dewasa sebesar 25 mg/kg BB, yang merupakan kisaran terendah dari LD_{50} yaitu sebesar 25-38,9 mg/kg. Selain itu sifat metabolisme serta farmakokinetik karbofuran pada induk juga menjadi pertimbangan sehingga hasil yang diperoleh dapat menunjukkan dosis riil pada kondisi lingkungan. Total konsentrasi karbofuran yang dapat ditemukan dalam tubuh induk sebesar 91,8% (California Environmental Protection Agency, 2000), sehingga potensi karbofuran yang membentuk residu pada telur sebesar 8,2%. Dari pendekatan LD_{50} ayam dewasa serta potensi residu karbofuran pada kuning telur, selanjutnya dilakukan penurunan fraksi-fraksi dosis secara bertahap sampai didapat dosis yang berpotensi teratogen terhadap embrio ayam. Potensi dosis teratogen ditentukan pada embrio yang memiliki *survival rate* lebih dari 50% pada umur inkubasi lebih dari sepuluh hari (Karnofsky, 1964; Plapp, 1981).

Sistem cholinergik (sintesis ACh dan ChE) pada awal perkembangan berfungsi sebagai regulasi pertumbuhan dan fungsi morfogenetik (Lauder and Schambra, 1999) dengan cara mengendalikan proliferasi sel, motilitas, diferensiasi sel dan ekspresi gen (Weiss *et al*, 1998). Dengan demikian sistem cholinergik sangat berperan dalam penting dalam perkembangan sel dan penyusunan perkembangan otak (Slotkin, 1999).

Sel purkinje sebagai salah satu parameter pengamatan, terdapat pada organ otak bagian *cerebellum* (otak kecil) dan sel tersebut memiliki kepekaan yang tinggi terhadap bahan yang bersifat toksik pada saat diferensiasi sel sampai setelah periode neurogenesis lengkap dengan migrasi sempurna (Bonthius dkk, 1996). Selain itu sel purkinje memiliki ukuran relatif besar dibandingkan dengan sel lainnya sehingga mudah diamati apabila terjadi perubahan akibat pengaruh bahan-bahan yang bersifat toksik bagi otak seperti merkuri (Lubis, 1988), dan herbisida (Kusmindarti, 2001)

1.4. Tujuan Penelitian

Dari rumusan masalah diatas, maka penelitian ini bertujuan :

1. Mengetahui bobot otak pada DOC dan ayam umur dua minggu setelah mendapat paparan karbofuran pada masa embrional.
2. Mengetahui jumlah sel purkinje otak bagian *cerebellum* pada DOC dan ayam umur dua minggu setelah mendapat paparan karbofuran pada masa embrional.

1.5. Hipotesis

1. Pemaparan insektisida karbofuran pada masa embrional berpengaruh terhadap bobot otak pada DOC dan ayam umur dua minggu.
2. Pemaparan insektisida karbofuran pada masa embrional berpengaruh terhadap jumlah sel purkinje otak pada DOC dan ayam umur dua minggu.

1.6. Manfaat Penelitian

Dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran pengaruh pemaparan karbofuran terhadap otak ayam pada masa embrional yang diamati dari berat dan gambaran histologis otak. Kelainan yang mungkin ditimbulkan dari pemaparan karbofuran selama masa embrional diharapkan memberikan peluang bagi inovasi baru di bidang pengendalian hama yang lebih bijaksana dan aman bagi ekosistem.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

BAB II

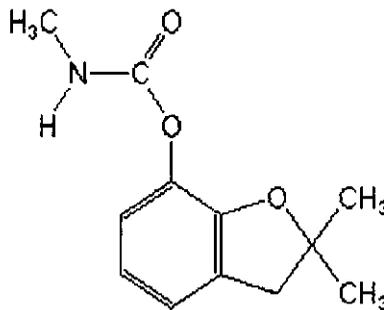
TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Insektisida Karbofuran

Insektisida karbofuran digunakan secara luas dalam bidang pertanian seperti jagung, padi, serta kacang-kacangan. Penyemprotan secara langsung ke tanah juga dapat dilakukan sebagai tindakan pengendalian terhadap kumbang, nematoda maupun cacing pada akar tanaman (U.S. EPA, 1995). Penggunaannya yang populer disebabkan oleh kerja dari karbofuran yang cepat dan memiliki spektrum yang luas terhadap berbagai jenis hama. Semua insektisida golongan karbamat termasuk karbofuran memiliki kelarutan yang relatif lebih baik dalam minyak atau lemak sehingga bisa terabsorpsi melalui kulit untuk kemudian di distribusikan ke seluruh tubuh. Karbofuran menjadi sangat toksik apabila terpapar secara inhalasi maupun secara *oral*. Toksisitas terhadap bangsa burung lebih tinggi dibandingkan dengan mamalia dan kematian dapat disebabkan karena burung memakan bentuk granul dari karbofuran (California Environmental Protection Agency, 2000), sehingga penggunaannya secara besar-besaran dalam jangka waktu yang lama, akan sangat berpotensi membunuh organisme bukan sasaran yang justru sangat penting bagi keseimbangan ekosistem.

Sejak mulai diperkenalkan tahun 1968, karbofuran telah banyak digunakan dalam pengendalian hama tanaman dan dikenal memiliki spektrum yang luas terhadap serangga (U.S. EPA, 1990). Sebagaimana halnya di Amerika, di Indonesia penggunaannya juga cukup dikenal luas oleh kalangan petani sebagai

insektisida pilihan dalam pengendalian hama. Karbofuran secara fisik berbentuk kristal putih padat dan sedikit berbau fenol. Sedangkan untuk yang beredar secara komersial terdapat dua bentuk yaitu granul dan cair. Bentuk granul, penggunaannya dengan cara disebar atau ditanam di sekitar tanaman atau biji yang baru disemaikan, sehingga kerjanya akan bersifat sistemik dari akar hingga daun. Sedangkan bentuk cair penggunaannya dengan cara disemprotkan pada lahan pertanian.



Gambar 1. Struktur Kimia Karbofuran dengan Nama Kimia : 2,3-Dihydro-2,2 Dimethyl-7-benzofuranol methylcarbamate (Sumber : Anonimus, 2003²).

Di dalam tanah, karbofuran relatif lebih tahan dengan waktu paruh antara 30-120 hari. Selain itu karbofuran akan mengalami hidrolisis secara kimiawi dan oleh aktifitas mikrobial. Proses hidrolisis akan berlangsung lebih cepat dalam suasana alkalis, dan juga akan mengalami perombakan akibat terpapar oleh sinar matahari menjadi bentuk 2-hidroxyfuran dan furadan phenol. Di dalam tanah biodegradasi karbofuran dipengaruhi oleh penguapan, dan kelembaban tanah, absorpsi, temperatur, pH, fotodekomposisi (penguraian oleh sinar matahari) dan degradasi mikrobial. Karbofuran yang terlarut dalam air akan sangat berpotensi mencemari air permukaan dan tentunya bisa terakumulasi dalam tubuh ikan atau

bahkan meracuni yang dapat berakibat kematian pada ikan. Sebagai gambaran LD_{50} (pada 96 jam) adalah 0,38 mg/L untuk ikan *rainbow trout* dan 0,24 mg/L untuk ikan *bluegill sunfish* (Oregon State University, 1996).

Pada sistem pencernaan, karbofuran akan mengalami metabolisme dan absorpsi. Sekitar 50% diabsorpsi setelah 15 menit dan sekitar 65% diabsorpsi setelah 60 menit. Pada mencit, penyerapan melalui kulit menunjukkan bahwa 33% akan diabsorpsi setelah 5 menit, 76% setelah 60 menit, dan 95% setelah 480 menit. Karbofuran merupakan insektisida yang memiliki daya absorpsi yang paling cepat dibandingkan dengan insektisida lainnya seperti karbaril, parathion, malathion, atau chlorpyrifos (California Environmental Protection Agency, 2000). Delapan jam setelah pemaparan karbofuran melalui kulit, distribusi tertinggi ditemukan pada produk-produk ekskresi (72%), kemudian pada karkas (12%), lambung (3%), usus (3%), hati (1%) dan darah (0,8%), sementara pada konsentrasi kurang dari 1% ditemukan pada jaringan lunak (Shah *et al*, 1981). Dari 72% produk ekskresi tersebut sekitar 2/3 ditemukan pada feses, dan sekitar 1/3 pada urin (Shah *et al*, 1981).

Jalur utama metabolisme karbofuran meliputi oksidasi pada *benzylic carbon* yang menghasilkan *3-hydroxycarbofuran*, yang juga bisa dihidrolisis menjadi *3-hidroxykarbofuran phenol* dan *3-ketofuran-7-phenol*. Jalur lain yang juga umum ditemui pada mamalia dibandingkan insekta adalah hidrolisis langsung karbofuran menjadi karbofuran phenol. Bentuk *3-hydroxycarbofuran*, *3-ketocarbofuran*, dan *3-hydroxy-N-hydroxy-methylcarbofuran* diketahui lebih

menghambat aktifitas anticholinesterase dibandingkan dengan karbofuran itu sendiri. (Dorough, 1983).

Toksisitas akut dari karbofuran telah diteliti pada beberapa spesies dengan pemberian secara *oral* LD₅₀ masing-masing: 6,4-14,1 mg/kg pada tikus, 18,5 mg/kg untuk anjing, dan 25-38,9 mg/kg pada ayam (California Protection Agency, 2000). Mencit kurang sensitif terhadap toksisitas karbofuran dengan LD₅₀ berada pada kisaran 250-500 mg/kg. Efek letal dari karbofuran terutama disebabkan oleh hambatan langsung terhadap ChE yang mengakibatkan kegagalan respirasi. Tanda-tanda dan gejala dari hambatan ChE terjadi dalam beberapa menit setelah terpapar karbofuran. ChE merupakan enzim yang sangat penting dan dibutuhkan dalam meneruskan rangsangan (*neurotransmitter*) pada manusia, vertebrata, dan serangga. Penurunan kadar ChE akibat dari paparan karbofuran menyebabkan kegagalan dalam hidrolisis acetylcholine menjadi choline dan asam asetat, sehingga akan terjadi inkoordinasi saraf yang pada akhirnya akan mengakibatkan kegagalan respirasi (California Evironmental Protection Agency, 2000).

Dalam menentukan dosis teratogenik pada embrio ayam (TAB), dilakukan pendekatan pada LD₅₀ pada ayam dewasa sebesar 25 mg/kg BB, yang merupakan kisaran terendah dari LD₅₀ yaitu sebesar 25-38,9 mg/kg. Selain itu sifat metabolisme serta farmakokinetik karbofuran pada induk juga menjadi pertimbangan sehingga hasil yang diperoleh dapat menunjukkan dosis riil pada kondisi lingkungan. Total konsentrasi karbofuran yang dapat ditemukan dalam tubuh induk sebesar 91,8% (California Evironmental Protection Agency, 2000),

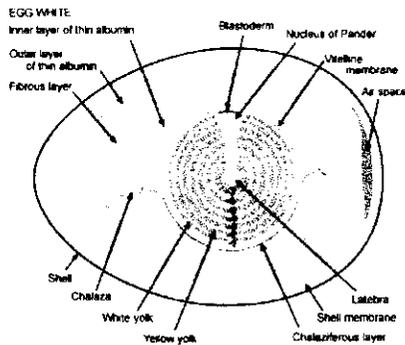
sehingga potensi karbofuran yang membentuk residu pada telur sebesar 8,2%. Dosis teratogenik yang diberikan berdasarkan fraksi-fraksi tersebut berpotensi dalam menimbulkan efek teratogenik tanpa menimbulkan kematian pada embrio.

Furadan 3G yang digunakan dalam penelitian ini memiliki kandungan bahan aktif karbofuran sebanyak 3%, potensi karbofuran yang dapat menimbulkan residu dalam telur sebesar 8,2%, bobot telur yang digunakan rata-rata 62,04 gram, dan LD₅₀ pada ayam digunakan 25 mg/kg BB. Dari fraksi-fraksi tersebut di atas maka dapat diperkirakan potensi dosis teratogenik dengan dosis yang dicobakan memiliki *survival rate* lebih dari 50% pada penyuntikan karbofuran sampai dengan menetas.

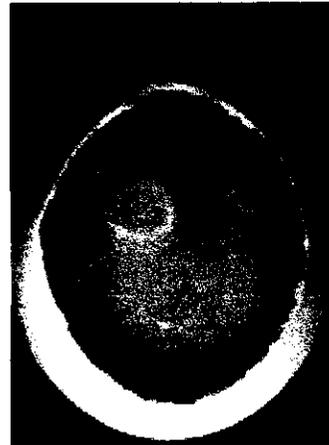
Neurotoksisitas dari karbofuran adalah hambatan pada aktifitas ChE pada sistem saraf. Terdapat dua jenis pengukuran kadar ChE yang sering dilakukan pada hewan coba, salah satunya adalah kadar ChE dalam darah. ChE darah lebih mudah dilakukan pengukuran dan selain itu hewan coba tidak perlu dibunuh untuk mengukur ChE yang ada dalam jaringan. Selain ChE darah tentunya pengukuran juga dapat dilakukan pada jaringan, kebanyakan pada otak atau otot. Pada penelitian yang dilakukan pada tikus pada hari ke-18 periode birahi, pemaparan karbofuran secara *oral* menunjukkan hambatan pada ChE darah, dengan hambatan pada ChE fetus ternyata lebih tinggi dibandingkan pada ChE induk.

2.2. Embriogenesis pada Ayam

Proses pertumbuhan dan perkembangan embrio pada bangsa burung termasuk ayam hampir seluruhnya terjadi di luar tubuh induk. Sejak sel telur betina dibuahi oleh sperma pejantan di dalam tuba falopi, maka perkembangan embrio ayam selanjutnya akan berlangsung di luar tubuh induk. Sumber makanan yang digunakan oleh embrio selama proses pertumbuhan dan perkembangannya seluruhnya berasal dari zat makanan yang terdapat di dalam kuning telur. Pertumbuhan dan perkembangan embrio di luar tubuh induknya dimungkinkan apabila telur fertil tersebut berada dalam kondisi lingkungan yang sesuai bagi telur tersebut. Telur fertil yang dikeluarkan dari kloaka, dalam kondisi lingkungan bersuhu rendah perkembangan embrio akan terhenti untuk sementara yang disebut dengan masa dormansi (istirahat). Bila masa dormansi ini terlalu lama maka embrio akan mengalami kematian atau autolisis sehingga tidak mampu berkembang lagi. Pertumbuhan dan perkembangan embrio terjadi pada kisaran suhu 39°C (Poernomo dkk, 2003). Sementara tingkat kelembaban diusahakan berada pada kisaran 50-60 persen dengan pemberian nampan yang berisi air atau lap basah di bagian bawah telur apabila inkubasi dilakukan dengan menggunakan inkubator (Wiharto, 1994).



Gambar 2. Telur dan Bagian-bagiannya
(Sumber : Poernomo dkk, 2004)



Gambar 3. Blastodisc
(Sumber : Poernomo dkk, 2004)

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

Pembelahan pertama diawali dengan pembentukan sebuah lekukan kecil pada bagian tengah yang membelah secara meridional (membujur), yang biasanya berlangsung 5 jam setelah fertilisasi dan disebut dengan fase 2 sel. Pembelahan ke dua biasanya berlangsung 20 menit setelah pembelahan pertama dan tegak lurus dengan bidang pembelahan pertama dan fase ini disebut dengan fase 4 sel. Pembelahan ketiga berjalan simultan sejajar dengan bidang pembelahan pertama

Pembelahan ketiga berjalan simultan sejajar dengan bidang pembelahan pertama dan tegak lurus bidang pembelahan ke dua. Pembelahan ke empat berjalan simultan sejajar dengan bidang pembelahan ke dua dan tegak lurus bidang pembelahan ke tiga. Pembelahan ke lima arahnya melingkar (Noden and de Lahunta, 1985).

Terjadinya pembelahan secara terus menerus pada daerah *animal pole* menyebabkan sel blastomer akan terdesak dan terjadilah gaya epiboli yaitu peluncuran sel blastomer ke arah kiri dan kanan menuju *vegetal pole*. Desakan sel berjalan terus mengakibatkan bagian tengah akan terangkat karena gaya angkat dari bawah dan membentuk atap yang terdiri dari lapisan tipis blastomer sedangkan bagian dasar merupakan yolk. Lapisan tipis yang terdiri dari sel blastomer ini disebut dengan *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).

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 proses gastrulasi. Pada awal proses invaginasi, lapisan *blastoderm* yang berada di bawah yolk membentuk celah pada blastosul. Kemudian celah ini akan meluas dan berlanjut yang mengawali proses invaginasi. *Axial gradien* yang terdapat pada saat mitosis

menyebabkan potensial organizer yang menekan *margin of overgrowth* dan *zone of junction* akibatnya akan terjadi delaminasi *endoderm*. 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, sedangkan bagian tengah disebut dengan *area pellusida* yang merupakan bagian intra embrional. Pada akhir proses ini akan terbentuk lapisan *endoderm*, *mesoderm* dan *ektoderm* serta rongga gastrosul (archenteron) (Poernomo dkk, 20003).

Telur yang diinkubasi 16 jam akan membentuk *primitive streak*. Struktur awal pada blastula terdapat celah menuju posterior disebut dengan *primitive groove* yang diapit dua buah sisi yang disebut dengan *primitive ridges*. Bagian posterior disebut *primitive plate*, sedangkan bagian anterior terdapat bentukan seperti pita yang disebut *primitive pit*. Bagian anterior *primitive streak* tumbuh sebuah bentukan yang 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 somit mesoderm. Somit mesoderm mulai dibentuk setelah inkubasi 21 jam. Menghitung umur inkubasi ayam dapat dilakukan dengan menghitung pertambahan jumlah somit mesoderm yang penambahan tiap pasang somit adalah tiap 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).

Pada masa inkubasi 19-24 jam akan terjadi lipatan lapis *ektoderm* sebelah anterior simpul Hensen yang kemudian membentuk peninggian pada tepinya yang disebut *neural fold*. Pada *neural fold* terdapat celah yang menuju posterior yang disebut *neural groove*. Pengangkatan kepala pada stadium *head fold* sehingga di bawahnya terdapat kantong yang disebut sub *cephalic pocket* (Poernomo dkk, 2003).

Proses neurulasi dimulai setelah bagian kepala terangkat membentuk *head fold* dan diikuti bagian ekor terangkat membentuk *tail fold*, sedangkan bagian tengah tidak terangkat dan tetap berhubungan dengan yolk. Pada masa inkubasi 24 sampai 33 jam terbentuk *neural tube*, setelah masa inkubasi 48 jam perkembangan otak dibagi menjadi 3 bagian yang mudah dilihat karena adanya 2 lekukan. Bagian ini disebut *mesencephalon* di bagian tengah, bagian depan disebut *prosencephalon*, dan bagian belakang disebut dengan *rhombencephalon*. Ketiga komponen otak tersebut berdiferensiasi lagi, *prosencephalon* menjadi *telencephalon* dan *diencephalon* sedangkan *rhombencephalon* menjadi *metencephalon* dan *myelencephalon*. Setelah 50-60 jam inkubasi terjadi pembentukan bagian-bagian sistem saraf pusat seperti otak besar, otak kecil, lobus optikus, bulbus olfaktorius, medulla oblongata, medulla spinalis, infundibulum, epiphysis, hipotalamus, dan ventrikel (Poernomo dkk, 2003).

Struktur saraf pada otak dan medulla spinalis terdiri dari *substansia grisea*, dan *substansia alba*. *Substansia grisea* mengandung badan-badan sel saraf (perikaryon), serabut saraf bermielin dan tidak bermielin serta neuroglia. Neuroglia meliputi astrosit, oligodendrosit, mikroglia, dan sel ependyma yang berfungsi sebagai penunjang dan pengantar pembuluh darah untuk keperluan metabolisme saraf pusat (Poernomo dkk, 2003).

Substansia grisea medulla oblongata berbeda dengan medulla spinalis, pada medulla oblongata *substansia grisea* terbagi menjadi kelompok-kelompok kecil yang tersebar letaknya bukan merupakan masa yang terpusat di tengah seperti pada medulla spinalis. Permukaan otak kecil memiliki banyak alur (*fissura*) yang tegak lurus pada vermis (*corpus cerebeli*). Alur ini membagi otak kecil menjadi *folia*, masing-masing *folia* memiliki satu lapis *substansia grisea* dan satu lapis *substansia alba* (Poernomo dkk, 2003).

2.3. Perkembangan Sistem Saraf Pusat pada Ayam

Perkembangan awal sistem saraf pusat pada ayam dimulai dengan terbentuknya *sulkus neuralis* dan somit yang terjadi pada umur mudigah sekitar 19 jam. Pada umur inkubasi 19 jam hingga 21 jam mulai terbentuk *lamina neuralis*. Mudigah dengan umur inkubasi 21 jam kemudian terbentuk *plika neuralis* dan *sulkus neuralis* yang lebih nyata. Pada umur inkubasi 22 hingga 23 jam sudah terbentuk buluh neuralis walaupun belum nyata. Mulai memasuki umur inkubasi 25 jam, dua pertiga bagian dari kranial menutup membentuk buluh neuralis yang nyata dan memisah dari ektoderm, tetapi bagian yang lainnya belum

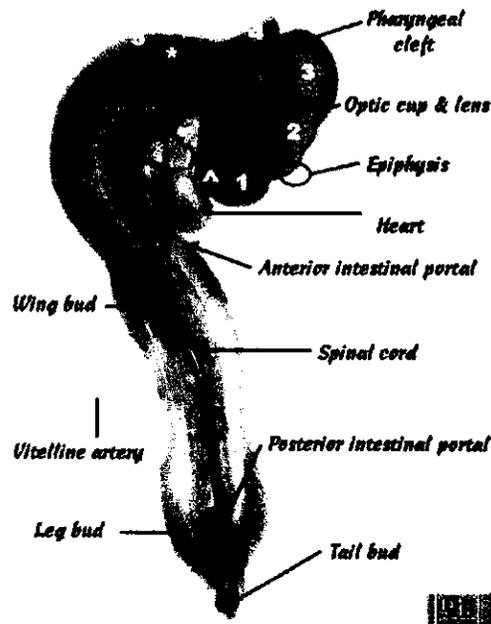
menutup. Ujung kranial dari buluh neuralis ini kemudian mengalami pembesaran selanjutnya diikuti oleh terbentuknya *prosencephalon* dan tonjolan dari optik vesikel.

Perkembangan otak pertama kali dipengaruhi oleh adanya neuromer di bagian anterior dari *head fold*. Sebelum terjadi penggabungan di daerah kepala, tampak secara samar-samar segmentasi neuromer kurang lebih terdiri dari sebelas neuromer walaupun masih diragukan jumlahnya mengindikasikan jumlah bagian otak secara keseluruhan. Setelah penggabungan dari *neural fold*, selanjutnya akan terbentuk tiga bagian otak yang berdiferensiasi dari neuromer-neuromer yang spesifik. *Prosencephalon* atau otak depan terbentuk pertama kali, kemudian diikuti dengan *mesencephalon*, dan *rhombencephalon*. Dengan terbentuknya tiga bagian otak tersebut, terbentuk juga pemisah dari bagian otak yang disebut *neurocoel* (*prosocoel*, *mesocoel*, dan *rhombocoel*). Bagian terakhir bergabung dengan bagian dari spinal cord dari bagian posterior *rhombencephalon*. Di bagian dasar dari *prosencephalon* kearah posterior menuju lobus optikus, terjadi tekanan di bagian median yang akan membentuk infundibulum, yang mana bagiannya akan membentuk lobus posterior dari kelenjar pituitary.

Pada umur inkubasi 48 jam, otak serta spinal cord akan nampak lebih jelas. Tiga bagian otak yang sebelumnya berkembang akan berdiferensiasi lagi menjadi lima bagian yang pembagiannya belum nampak jelas. *Prosencephalon* membagi menjadi *telencephalon* dan yang berdekatan dengan *mesencephalon* menjadi *diencephalon*. Bagian *mesencephalon* tidak membagi tapi hanya menekuk membentuk *fleksura cranialis*. *Rhombencephalon* juga terbagi menjadi

menjadi *metencephalon*, sisanya dengan atap tipis membentuk *myelencephalon*.

Bagian kaudal dari buluh neuralis menutup dan menjadi medulla spinalis.



Gambar 4. Perkembangan Embrio Ayam Setelah Inkubasi 72 Jam. Keterangan 1 = Telencephalon, 2 = Diencephalon, 3 = Mesencephalon, 4 = Metencephalon, 5 = Myelencephalon, * = Optic capsule, ^ = Olfactory pit (Sumber : Anonimus, 2003³)

Pada umur inkubasi 72 jam terlihat *telencephalon* yang sudah lebih jelas pemisahannya dari bagian *diencephalon*. *Telencephalon* ini kemudian membesar membentuk *hemisfer cerebri*. Bagian dorsal *diencephalon* juga ditemukan tonjolan yang disebut *epifisis cerebri*. Bagian *mesencephalon* juga terpisah jelas dengan bagian *metencephalon*. Antara bagian kaudal otak dengan medulla spinalis membentuk *fleksura cervikalis*.

Umur inkubasi 96 jam (4 hari), tonjolan *hemisfer cerebri* semakin jelas dan diikuti dengan pembesaran bagian *mesencephalon*. Perkembangan sistem saraf pusat ini terus berlanjut dan pada umur inkubasi tujuh hari sistem saraf pusat

saraf pusat ini terus berlanjut dan pada umur inkubasi tujuh hari sistem saraf pusat embrio ayam telah sesuai dengan dewasa. Cerebellum juga telah terbentuk yang berasal dari pembesaran bagian *metencephalon* (Banerjee, 1986).

2.4. Mekanisme Kerja Teratogen

Kerentanan terhadap teratogen berbeda-beda menurut tempat dan stadium perkembangan saat paparan (Saxen, 1976). 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, 2003³).

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. Pada organogenesis, terjadi proses pembentukan organ sehingga zat teratogen akan menyebabkan malformasi organ, jenis malformasi tergantung dari jenis teratogen. Histogenesis dan pematangan fungsional tergantung pada suplai nutrisi dan diatur berbagai sistem hormon (Kalant and Roschlau, 1989).

Banyak zat-zat kimia terbukti bersifat teratogen pada hewan coba tetapi tidak pada manusia yang mungkin disebabkan manusia kurang rentan dan tingkat pajanan yang tinggi pada manusia. Efek teratogenik suatu zat kimia dapat muncul berupa tingkat kebuntingan yang rendah, jumlah anak per induk yang berkurang dan ketahanan hidup janin yang rendah (Lu, 1995). Perkembangan tidak normal dapat disebabkan oleh faktor genetik seperti mutasi dan aberasi serta faktor lingkungan baik yang berasal dari obat, radiasi, infeksi, defisiensi dan emosi.

Kelainan teratogenik yang timbul ditentukan oleh tempat kerja (*site of action*) dan tahap kerja (*stage of action*) dari perkembangan organ yang dipengaruhi. Terdapat empat tingkatan aksi zat teratogen yang merupakan tempat dari faktor genetik maupun non genetik bekerja yaitu aksi primer yang terjadi pada kompartemen intraseluler (*intracellular compartment*) pada rangkaian interaksi antara inti dan sitoplasma pada produksi metabolit yang khas dari sel tersebut. Kedua, aksi primer terjadi karena kelainan dalam struktur dan fungsi dari permukaan sel (*cell surface*). Ketiga, terjadi karena ketidaknormalan pada matriks ekstraseluler (*cellular matrix*). Keempat, pada lingkungan janin (*fetus environment*), ketidak normalan pada tingkat organisme atau dalam hubungan fetomaternal (Saxen, 1976).

Tahap kerja (*Stage of Action*) pada perkembangan organ tubuh, tahap ini merupakan tahap perkembangan organ selama embriogenesis berupa rangkaian tingkat yang berbeda-beda yang dikontrol dengan tepat. Pada tahap ini akan terbentuk susunan jaringan yang teratur dengan bentuk dan ukuran yang spesifik serta stadium pertumbuhan ini sangat peka terhadap faktor genetik maupun faktor

lingkungan. Perubahan pada tiap tahap pertumbuhan mempunyai kepekaan terhadap teratogen yang berbeda. Perkembangan suatu organ meliputi kejadian-kejadian yang dapat dibedakan menjadi : determinasi, proliferasi, organisasi seluler, migrasi dan kematian morfologik sel (Yatim, 1982).

BAB III
MATERI DAN METODE

BAB III

MATERI DAN METODE

3.1. Rancangan Penelitian

Pada penelitian ini, rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga perlakuan dan ulangan masing-masing 10 telur ayam bertunas (TAB). Perlakuan meliputi kelompok kontrol (P0), kelompok perlakuan 1 (P1) dan kelompok perlakuan 2 (P2).

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fisiologi Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga selama 6 (enam) bulan, mulai bulan September 2003 hingga bulan Februari 2004. Pembuatan serta pemotretan sediaan histopatologi dilakukan di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

3.3. Bahan dan Materi Penelitian

3.3.1. Sampel Penelitian

Populasi penelitian ini menggunakan TAB (Telur Ayam Bertunas) umur 1 hari sebanyak 60 butir yang didapat dari PT Multibreeder Adirama Indonesia Farm Unit IV desa Songsong Kecamatan Singosari Kabupaten Malang. Penempatan perlakuan ke dalam satuan-satuan percobaan dilakukan secara acak (Kusriningrum. 1989).

3.3.2. Bahan Penelitian

Bahan Karbofuran yang digunakan pada penelitian ini merupakan insektisida golongan karbamat dengan rumus kimia 2.3-dihidro-2.2-dimetil-7 benzo furanil metil karbamat. Nama dagang dari jenis insektisida ini adalah Furadan 3G produksi PT Parama Bina Tani unit produksi Ungaran Jawa Tengah dengan mendapat pengawasan dari FMC Corporation Agricultural Chemical Group, Philadelphia PA 19103 USA. Kandungan bahan aktif karbofuran sebanyak 3% berbentuk granul dan berwarna ungu.

3.3.3. Bahan Kimia dan Bahan Penunjang

Formalin 10% sebagai larutan fiksasi, aquabidestilata sebagai pelarut, alkohol 70% sebagai desinfektan, ether anestetik, parafin.

3.3.4. Peralatan Penelitian

Peralatan yang digunakan adalah gunting, pinset, gelas penutup, *skalpel*, timbangan mikro, *petridish*, *syringe disposable* 1cc, bor listrik dengan mata bor berukuran 1 mm, mikroskop, thermometer, dan inkubator, *egg candler*, kandang ayam yang terbuat dari kawat dengan alas sekam, lampu pemanas, dan pot salep sebagai tempat koleksi organ.

3.4. Metode Penelitian

3.4.1. 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

abnormalitas perkembangan organ (teratogen) menggunakan TAB. Teratogen yang mempunyai LD₅₀ dapat dilakukan degradasi dosis secara langsung melalui fraksi-fraksi kelipatannya misalkan $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$ LD₅₀ 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 LD₅₀ 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 dosis 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 dosis teratogenik, yang ditentukan dari LD₅₀ karbofuran pada ayam yang memiliki kisaran 25-38,9 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 gr. Dari penelitian pendahuluan diketahui dosis $\frac{1}{10}$ dan $\frac{1}{12}$ dari LD₅₀ karbofuran (Furadan 3G sebesar 0,4239 dan 0,3534 mg/butir yang *equivalent* dengan karbofuran 0,0127 dan 0,0106 mg/butir) yang memiliki *survival rate* setelah sepuluh hari pemaparan lebih dari 50%. Sedangkan pada dosis $\frac{1}{8}$ dari LD₅₀ (Furadan 3G sebesar 0,5299 mg/butir yang *equivalent* dengan karbofuran 0,0159 mg/butir) memiliki *survival rate* sebesar 30% yang berarti kurang dari 50% sehingga tidak dapat digunakan sebagai dosis

teratogenik. Hasil penurunan secara bertahap berbagai dosis selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Dosis Furadan 3G dan *Survival Rate* Setelah 10 Hari Inkubasi

Fraksi LD ₅₀	Karbofuran yang disuntikan dalam kuning telur (mg/butir)	Furadan 3G yang disuntikan dalam kuning telur (mg/butir)	Survival rate setelah 10 hari inkubasi (%)
$\frac{1}{2}$	0,0636	2,1197	0
$\frac{1}{4}$	0,0318	1,0599	0
$\frac{1}{6}$	0,0212	0,7066	0
$\frac{1}{8}$	0,0159	0,5299	30
$\frac{1}{10}$	0,0127	0,4239	100
$\frac{1}{12}$	0,0106	0,3534	100

Dari hasil tersebut, maka didapat *survival rate* terhadap dosis penyuntikan Furadan 3G lebih dari 50% adalah pada dosis $\frac{1}{10}$ (0,4239 mg/butir) dan $\frac{1}{12}$ (0,3534 mg/butir) dari LD₅₀. Dosis tersebut selanjutnya digunakan sebagai dosis yang berpotensi teratogenik pada embrio ayam melalui penyuntikan pada kuning telur.

3.4.2. Persiapan Sampel Penelitian

Telur yang akan diberi perlakuan sebelumnya didesinfeksi dengan menggunakan alkohol 70% secara *spray*, demikian halnya dengan inkubator beserta peralatan perlengkapannya. Telur diberi label sesuai dengan perlakuan serta ulangnya masing-masing menggunakan pensil. Telur dibagi menjadi dua kelompok waktu pengamatan yaitu pada DOC dan ayam umur dua minggu. Masing-masing waktu pengamatan dibagi menjadi tiga kelompok perlakuan yaitu

kelompok kontrol (P0) serta kelompok perlakuan satu (P1) dan kelompok perlakuan dua (P2).

3.4.3. Perlakuan

Pada bagian tumpul dari telur, sekitar perbatasan kantung udara dibuat lubang yang akan menjadi tempat untuk melakukan penyuntikan karbofuran pada kantung kuning telur dengan menggunakan bor listrik dengan diameter mata bor 1 mm. Penyuntikan menggunakan *syringe disposable* ukuran 1 ml dengan jarum berukuran 23 Gauge sesuai dengan kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan diberi suntikan karbofuran yang telah dilarutkan dengan menggunakan PZ steril, sedangkan pada kelompok kontrol diberi PZ steril. Volume penyuntikan pada kuning telur sebesar 0,1 ml pada kelompok kontrol maupun perlakuan. Pada bagian lubang tempat penyuntikan selanjutnya ditutup dengan menggunakan parafin dan diinkubasi pada suhu sekitar 39°C dengan kisaran kelembaban 50%-60%. Selama proses inkubasi sampai dengan menetas, selalu diamati kestabilan suhu inkubator serta dilakukan pemutaran telur mulai hari ke tiga periode inkubasi hingga hari ke delapan belas sebanyak tiga kali sehari.

3.4.4. Pengambilan Sampel

Embrio akan menetas pada hari ke duapuluh satu periode inkubasi, dan sampel yang diambil adalah embrio yang sanggup menetas untuk sampel DOC serta mampu untuk tumbuh dan berkembang untuk sampel ayam umur dua minggu. Koleksi otak dilakukan pada DOC dan ayam umur dua minggu dengan membuka bagian kranial dari kepala ayam. Koleksi dilakukan dengan hati-hati untuk menghindari adanya kerusakan pada bagian otak.

3.4.5. Pemeriksaan Sampel

3.4.5.1. Sampel Anak Ayam Umur Satu Hari (DOC)

Pengamatan secara makroskopis dilakukan dengan menimbang bobot otak segar dari tiap perlakuan pada DOC dengan menggunakan timbangan mikro. Sedangkan secara mikroskopis dilakukan pembuatan preparat histopatologi untuk menghitung jumlah sel purkinje dari otak bagian cerebellum, untuk tiap perlakuan. Pembuatan preparat histopatologi terdapat pada Lampiran 1.

3.4.5.2. Sampel Ayam Umur Dua Minggu

Setelah dilakukan pemeliharaan dalam kandang tertutup, serta pemberian pakan dan minum dilakukan secara *ad libitum* selama dua minggu, selanjutnya koleksi organ untuk sampel ayam umur dua minggu. Pengamatan secara makroskopis dilakukan dengan menimbang bobot otak segar dari tiap perlakuan pada ayam umur dua minggu dengan menggunakan timbangan mikro. Sedangkan secara mikroskopis dilakukan pembuatan preparat histopatologi dari organ otak ayam umur dua minggu untuk menghitung jumlah sel purkinje dari otak bagian cerebellum, untuk tiap perlakuan. Pembuatan preparat histopatologi terdapat pada Lampiran 1.

3.5. Analisis Data

Untuk mengetahui adanya perbedaan akibat pengaruh perlakuan dengan karbofuran terhadap bobot dan jumlah sel purkinje dari organ otak maka dilakukan uji varian (ANAVA). Bila perlakuan memberikan pengaruh yang nyata,

dilanjutkan dengan melakukan uji beda nyata terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan (Kusriningrum, 1989).

BAB IV

HASIL PENELITIAN

BAB IV**HASIL PENELITIAN****4.1. Hasil Pengukuran Bobot Otak pada Ayam****4.1.1. Hasil Pengukuran Bobot Otak pada DOC**

Setelah dilakukan pengukuran pada bobot otak DOC, diperoleh hasil seperti pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Bobot Otak pada DOC (gram)

	P0	P1	P2
Rata-rata \pm SD	0,76031 \pm 0,1019 ^a	0,71715 \pm 0,1260 ^a	0,78666 \pm 0,0725 ^a

Keterangan :

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

P0 : Penyuntikan larutan PZ steril sebanyak 0,1 ml

P1 : Penyuntikan Furadan 3G dengan dosis 0,353 mg/0,1 ml

P2 : penyuntikan Furadan 3G dengan dosis 0,424 mg/ 0,1 ml

Hasil analisis varian menunjukkan bahwa perlakuan tidak memberikan pengaruh nyata, maka hipotesis nol (H_0) diterima yang berarti tidak ada perbedaan di antara kelompok perlakuan ($p > 0,05$).

4.1.2. Hasil Pengukuran Bobot Otak pada Ayam Umur Dua Minggu

Setelah dilakukan pengukuran bobot otak ayam umur dua minggu, diperoleh hasil seperti pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Pengukuran Bobot Otak pada Ayam Umur Dua Minggu (gram)

	P0	P1	P2
Rata-rata \pm SD	1,49758 \pm 0,1149 ^a	1,38063 \pm 0,0836 ^{ab}	1,36715 \pm 0,1069 ^b

Keterangan :

Superskrip huruf yang berbeda menunjukkan ada perbedaan nyata ($p < 0,05$)

P0 : Penyuntikan larutan PZ steril sebanyak 0,1 ml

P1 : Penyuntikan Furadan 3G dengan dosis 0,353 mg/0,1 ml

P2 : penyuntikan Furadan 3G dengan dosis 0,424 mg/ 0,1 ml

Hasil analisis varian menunjukkan bahwa perlakuan memberikan pengaruh nyata dibandingkan dengan kontrol, maka hipotesis nol (H_0) ditolak yang berarti ada perbedaan di antara kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dilakukan uji lanjutan menggunakan uji BNT 5%. Uji BNT 5% menunjukkan bahwa perlakuan 1 (P1) berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol (P0) dan perlakuan 2 (P2). P2 berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol dan berbeda nyata dibandingkan dengan P1.



Gambar 5. Otak Ayam dengan Berbagai Perlakuan

Keterangan : P0 (Kontrol)

: P1 (Dosis $\frac{1}{10}$ LD₅₀)

: P2 (Dosis $\frac{1}{12}$ LD₅₀)

4.2. Hasil Perhitungan Jumlah Sel Purkinje Otak Bagian Cerebellum

4.2.1. Hasil Perhitungan Jumlah Sel Pukinje Otak Bagian Cerebellum pada DOC

Setelah dilakukan perhitungan jumlah sel purkinje dari otak bagian cerebellum, diperoleh hasil seperti pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Perhitungan Jumlah Sel Purkinje Otak Bagian Cerebellum pada DOC

	P0	P1	P2
Rata-rata \pm SD	11,25 \pm 2,6398 ^a	9,24 \pm 2,2426 ^a	9,00 \pm 1,4851 ^a

Keterangan :

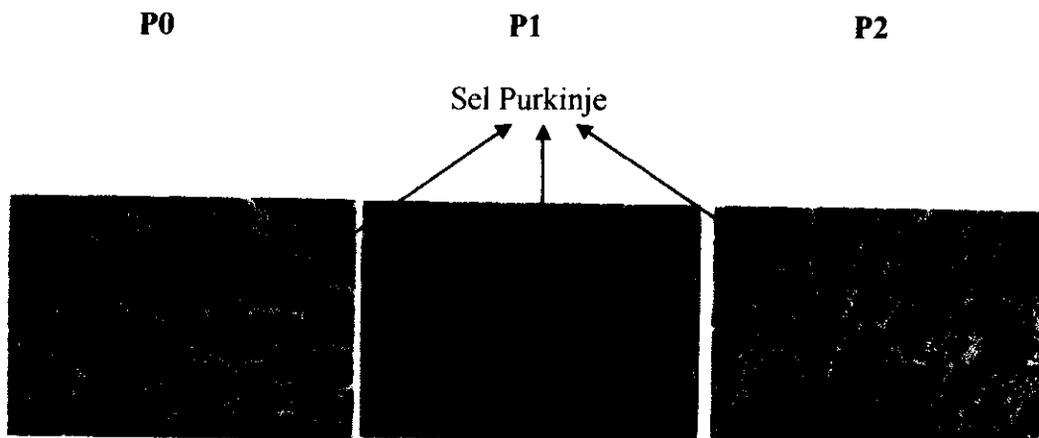
Superskrip huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($p > 0,05$)

P0 : Penyuntikan larutan PZ steril sebanyak 0,1 ml

P1 : Penyuntikan Furadan 3G dengan dosis 0,353 mg/0,1 ml

P2 : penyuntikan Furadan 3G dengan dosis 0,424 mg/ 0,1 ml

Hasil analisis varian menunjukkan bahwa perlakuan tidak memberikan pengaruh nyata dibandingkan dengan kontrol, maka hipotesis nol (H_0) diterima yang berarti tidak ada perbedaan di antara kelompok perlakuan ($p > 0,05$).



Gambar 6. Sel Purkinje dari Organ Otak DOC (pembesaran 400 kali)

4.2.2. Hasil Perhitungan Jumlah Sel Purkinje Otak Bagian Cerebellum pada Ayam Umur Dua Minggu

Setelah dilakukan perhitungan jumlah sel purkinje otak bagian cerebellum, diperoleh hasil seperti Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Perhitungan Sel Purkinje Otak Bagian Cerebellum pada Ayam Umur Dua Minggu

	P0	P1	P2
Rata-rata \pm SD	10,54 \pm 1,4819 ^a	6,3 \pm 0,7958 ^b	7,7 \pm 1,6665 ^b

Keterangan :

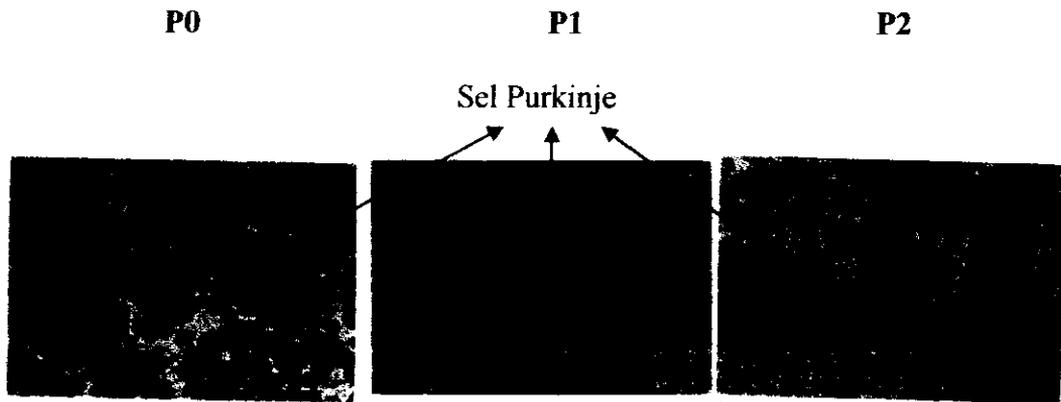
Superskrip huruf yang berbeda menunjukkan ada perbedaan nyata ($p < 0,05$)

P0 : Penyuntikan larutan PZ steril sebanyak 0,1 ml

P1 : Penyuntikan Furadan 3G dengan dosis 0,353 mg/0,1 ml

P2 : penyuntikan Furadan 3G dengan dosis 0,424 mg/ 0,1 ml

Hasil analisis varian menunjukkan bahwa perlakuan memberikan pengaruh yang nyata dibandingkan dengan kontrol, maka hipotesis nol (H_0) ditolak yang berarti ada perbedaan di antara kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dilakukan uji lanjutan menggunakan uji BNT 5%. Uji BNT 5% menunjukkan bahwa perlakuan 1 (P1) berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol dan perlakuan 2 (P2) berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol. Sedangkan P1 tidak berbeda nyata dibandingkan dengan P2.



Gambar 7. Sel Purkinje dari Organ Otak Ayam Umur Dua Minggu (pembesaran 400 kali)

BAB V

PEMBAHASAN

BAB V**PEMBAHASAN****5.1. Bobot Otak Ayam Akibat Pemaparan Insektisida Karbofuran**

Karbofuran memiliki mekanisme hambatan pada ChE dan dapat menekan tingkat ChE yang ada pada otak. Pemaparan pada hari ke-0 periode inkubasi mengakibatkan karbofuran juga berpengaruh pada embriogenesis ayam sampai dengan menetas. Pada awal perkembangan, ChE lebih bersifat sebagai pengendali proliferasi sel, motilitas, diferensiasi sel, dan ekspresi gen ketimbang sebagai hidrolisis neurotransmitter (Weiss *et al*, 1998; Brimijoin and Koenigsberger, 1999). Hal ini mengakibatkan pemaparan karbofuran selama periode embriogenesis sangat berpotensi menimbulkan malformasi perkembangan organ termasuk otak. Karbofuran sebagai anti ChE, memiliki aktifitas yang lebih tinggi pada otak burung dibandingkan pada mamalia dengan rata-rata aktifitas anti ChE pada burung tiga kali lebih tinggi dibandingkan dengan mamalia (Westlake *et al*, 1983). Kepekaan ini disebabkan adanya perbedaan enzim secara kuantitatif diantaranya enzim *hepatic microsomal mono oxygenase* (HMO) dan aktifitas A-esterase yang akan mendeaktifasi kelompok karbamat atau organofosfat (Brealey and Baldwin, 1980).

Pada anak ayam yang baru menetas, masih terdapat deposit kantung kuning telur (yolk sac) didalam rongga abdomen. Secara alami keberadaan kantung kuning telur ini sekitar tujuh sampai sepuluh hari dan masih bisa digunakan sebagai sumber energi di awal pertumbuhan anak ayam. Deposit

kuning telur yang tercemar residu karbofuran tentunya akan terus menimbulkan paparan karbofuran paling tidak selama kuning telur belum terserap secara sempurna. Embrio yang sanggup menetas selama terpapar karbofuran dalam periode embrional, memiliki daya tahan yang lebih baik karena paparan karbofuran tidak bersifat letal atau berpengaruh terhadap daya tetas dari embrio tersebut. Tetapi pada paparan yang bersifat terus menerus selama 2-3 minggu oleh golongan organofosfat maupun karbamat, terjadi hambatan perkembangan sensor motoris, kelainan pada alat gerak bagian distal, serta mengakibatkan degeneratif yang bersifat selektif pada serabut saraf pada susunan saraf pusat (CNS) maupun degenerasi susunan saraf tepi (*Peripheral Nervous System*) (Cavanagh, 1963).

Mekanisme kerja karbofuran yang menekan aktivitas ChE kemudian disebut dengan anti ChE, bekerja dengan cara mengikat ChE membentuk ikatan kompleks dan menutup reseptor ACh yaitu reseptor nikotinic (N cholinoreceptor) dan reseptor muskarinik (M cholinoreceptor) (Fairman, *et al.* 1991). N cholinoreceptor menerima rangsangan ACh dari ujung saraf otot lurik, ganglion saraf otonom, dan sedikit dari SSP, sedang M cholinoreceptor menerima rangsangan ACh dari ujung saraf otot polos, kelenjar eksokrin dan endokrin (Ballantyne and Marrs, 1992). Bahan neurotoksik yang menekan aktifitas kelenjar eksokrin maupun endokrin akan mengakibatkan gangguan sekresi hormon diantaranya sekresi tiroid yang akan mempengaruhi perkembangan otak dan menentukan jumlah sel saraf yang dibentuk. Penurunan jumlah sel saraf ini nantinya akan mempengaruhi kemampuan motorik individu saat dewasa. (Cone, 1999 dan Rosso dkk, 2000).

Pemberian anti ChE seperti parathion dengan pelarut air atau minyak pada telur, terjadi hambatan pertumbuhan (pengaruh pada bobot badan serta panjang ekor) dan sekitar 65% embrio yang bisa hidup pada pemaparan parathion memperlihatkan gejala abnormalitas (Hoffman and Eastin, 1981). Organofosfat bersifat teratogenik pada golongan avian serta embrio ikan. Mekanisme teratogenesis pada burung mungkin berhubungan dengan hambatan pada kynurenin formamidase (Eto, *et al*, (1980), Moscioni, *et al*, (1977), Seifert and Casida (1980)), seperti juga pada karbamat yang mempengaruhi kadar ACh yang berpengaruh pada blokade reseptor nikotinik dan muskarinik selama perkembangan (Landauer, (1975).

Pada penelitian yang dilakukan pada anjing jenis beagle yang dipapar karbofuran secara per oral pada dosis 0, 10, 20, dan 500 ppm karbofuran (dengan tingkat kemurnian 99,6%) yang setara dengan 0; 0,3; 0,6; dan 13 mg/kg berat badan per hari. Hambatan pada plasma ChE terjadi pada sekitar 77% dari jumlah sampel sementara pada dosis 500 ppm, hambatan ChE terjadi pada keseluruhan sampel. Berat absolut dari otak dan hati pada dosis 500 ppm terjadi penurunan dibandingkan kontrol (Taylor, 1983).

Dibandingkan dengan ayam umur dua minggu, pada DOC, bobot otak relatif tidak berbeda dibandingkan dengan kontrol walaupun ada kecenderungan bahwa bobot rata-rata otak pada P1 lebih rendah dibandingkan kontrol dan P2 tetapi secara statistik tidak ada pengaruh signifikan dari perlakuan. Sedangkan pada ayam umur dua minggu, justru terjadi perbedaan yang signifikan akibat dari pemaparan karbofuran. Selain dari faktor diatas, kemungkinan toleransi dari DOC

terhadap pemaparan insektisida golongan karbamat yang bersifat menekan Acetylcholinesterase (AChE) disebabkan karena individu yang sanggup bertahan dari paparan golongan karbamat tetap mempertahankan ketersediaan AChE bebas yang terbatas selama reaktivasi spontan enzim karbamilasi (Berry and Davies, (1970). Sementara karbamat bebas yang beredar akan “menghancurkan diri” dengan mempengaruhi kunci enzim *hepatic microsomal* (Hinderer and Menzer, (1976), Stevens and McPhilips, (1972)) walaupun karbamat tidak berpotensi sebagai penghambat enzim *hepatic microsomal mono-oksigenase* (HMO) secara menyeluruh. Pada waktu yang sama, AChE karbamilasi akan melindungi secara sementara terhadap masukan karbamat yang mana ia juga berperan dalam metabolisme *hepatic microsomal mono-oksigenase* (HMO).

5.2. Jumlah Sel Purkinje dari Gambaran Histopatologi Otak Ayam Akibat Pemaparan Insektisida Karbofuran

Pemaparan bahan-bahan yang bersifat menghambat ChE seperti pada penggunaan organofosfat maupun karbamat menimbulkan respon neurologis yang nyata akibat dari hambatan kolinergik. Pada anjing dan *guinea pig*, pemaparan dari golongan organofosfat maupun karbamat setelah 2-3 minggu menimbulkan defisit pada perkembangan saraf sensoris, menyebabkan kelainan pada alat gerak bagian bawah dan menunjukkan adanya selektif degenerasi pada serabut saraf pada susunan saraf pusat (CNS) serta susunan saraf tepi (PNS) (Cavanagh, 1963). Gambaran klinis dari pemaparan anti ChE biasanya gangguan pada pernafasan, yang merupakan kombinasi dari efek reseptor muskarinik dan nikotinik dari saraf tepi dan juga keracunan pada susunan saraf pusat.

Periode perkembangan otak merupakan periode yang sensitif terhadap pengaruh bahan-bahan yang bersifat toksik, dimana pada periode ini otak mudah mengalami kelainan apabila terpapar oleh bahan yang bersifat toksik. Sel purkinje merupakan neuron yang bersifat menghambat sehingga rangsangan yang keluar dari cerebellum juga berupa hambatan. Hal ini sesuai dengan fungsi cerebellum pada umumnya, yaitu mengatur gerakan otot sehingga otot terkoordinasi dengan sempurna. (Charles and Lemming, 1998). Apabila cerebellum mengalami kerusakan, maka gerakan-gerakan ini menjadi tidak teratur dan tidak menentu arahnya. Untuk merubah gerakan dengan cepat juga menjadi sulit apalagi jika dilakukan dengan cepat dan dilakukan berulang-ulang (Noback and Demarest, 1995).

ACh secara cepat akan dihidrolisis oleh ChE sehingga keberadaan ACh diantara synap (sekitar 200 mikrosekon) lebih singkat dibandingkan dengan hilangnya *end plate potensial* (EPP) atau periode pemulihan dari otot (Cloquhoun, 1979). Setelah hambatan pada ChE maka ACh yang tetap berada pada synap akan meningkat. Selama periode ikatan antara ACh dengan multiple reseptor akan mengakibatkan semakin panjangnya waktu degradasi *end plate potensial* (sekitar tiga kali lebih lama) yang akan menyebabkan rangsangan menerus terhadap reseptor sekitarnya. Jumlah ACh yang dilepaskan oleh impuls saraf semakin tidak terkendali yang akan menimbulkan disinkronasi dari depolarisasi *end plate* sehingga terjadi kekejangan yang tidak terkoordinasi serta fibrilasi pada otot.

Dari hasil analisis statistik pada penelitian ini, kelainan yang terjadi pada gambaran histopatologi otak yang diamati pada jumlah sel purkinje tidak

menunjukkan perbedaan yang nyata pada DOC dibandingkan dengan pada ayam umur 2 minggu. Hasil ini kemungkinan disebabkan oleh umur individu yang akhirnya mempengaruhi gambaran histopatologi otak. Pada penelitian pengaruh umur terhadap sensitifitas bahan yang bersifat menghambat ACh, terdapat korelasi dimana peningkatan umur semakin meningkatkan kepekaan individu terhadap paparan. Pada penelitian dengan menggunakan tikus, sensitifitas terhadap organofosfat yang bersifat menghambat ChE terjadi kerusakan persarafan seperti juga yang terjadi pada ayam (Namba, *et al*, 1971). Tikus dengan umur bervariasi (20, 25, 30, 35, 40, dan 60 hari) diberi perlakuan triorthocresyl phosphate (TOCP) yang juga bersifat menghambat ChE 2360 mg/kg berat badan dan dibuat sediaan histopatologi setelah 2 dan 3 minggu. Walaupun ada variasi yang besar dari gambaran hasil tetapi sensitifitas saraf yang nampak dari kerusakan yang terjadi menunjukkan adanya peningkatan seiring dengan pertambahan umur. Kemungkinan dari penyebab peningkatan sensitifitas persarafan terhadap kelompok karbamat yang nampak pada gambaran histopatologis organ karena aktifitas pematangan dari enzim *microsomal hepatic* yang terjadi sejak aktifitas sitokrom P450. Pada tikus aktifitas sitokrom P450 terjadi karena aktifitas anilase dehidrogenase yang secara bertahap akan meningkat sesuai dengan pertambahan umur (Lapadula, 1985). Sitokrom P450 merupakan kelompok enzim yang terdapat pada retikulum endoplasma dari organ hati maupun pada jaringan ekstra hepatic. Pada manusia sitokrom P450 memegang peranan penting dalam metabolisme bahan-bahan kimia yang berasal

dari lingkungan atau bahan obat khususnya bahan-bahan yang bersifat lipofilik (Nelson, 2003).

BAB VI
KESIMPULAN DAN SARAN

BAB VI**KESIMPULAN DAN SARAN****6.1. Kesimpulan**

1. Pemaparan karbofuran selama masa embriogenesis dengan dosis $1/10$ dan dosis $1/12$ LD₅₀ yang *equivalent* dengan 0,0127 dan 0,0106 mg/butir karbofuran, tidak berpengaruh terhadap bobot otak pada DOC. Pada ayam umur dua minggu, pemaparan karbofuran pada masa embrional memberikan pengaruh yang nyata yaitu terjadi penurunan bobot pada kelompok P1 dan P2 dibandingkan dengan kontrol (P0). P0 tidak berbeda nyata dibandingkan dengan P1 dan berbeda nyata dibandingkan dengan P2, sedangkan P1 tidak berbeda nyata dibandingkan dengan P2 dan P0
2. Pemaparan karbofuran selama masa embriogenesis dengan dosis $1/10$ dan dosis $1/12$ LD₅₀ yang *equivalent* dengan 0,0127 dan 0,0106 mg/butir karbofuran, selama masa embriogenesis tidak berpengaruh terhadap jumlah sel purkinje dari sediaan histopatologi otak DOC. Pada ayam umur dua minggu, pemaparan karbofuran pada masa embrional memberikan pengaruh yang nyata yaitu terjadi penurunan jumlah sel purkinje otak pada kelompok P1 dan kelompok P2 dibandingkan dengan kontrol (P0). P0 berbeda nyata dibandingkan dengan P1 dan P2, sedangkan P1 tidak berbeda nyata dibandingkan dengan P2.

6.2. Saran

Pada dosis $1/12$ dan dosis $1/10$ yang equivalent dengan 0,0106 dan 0,0127 mg/butir karbofuran tidak berpengaruh terhadap berat otak pada DOC, tetapi dosis tersebut di atas memberikan pengaruh yang nyata pada ayam umur dua minggu yaitu terjadi penurunan berat otak baik pada perlakuan 1 maupun pada perlakuan 2. Sedangkan terhadap jumlah sel purkinje dari otak bagian *cerebellum*, dosis $1/12$ dan dosis $1/10$ yang equivalent dengan 0,0106 dan 0,0127 mg/butir karbofuran tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah sel purkinje pada DOC tetapi dosis tersebut berpengaruh nyata terhadap ayam umur dua minggu. Dari hasil tersebut maka saran yang dapat diberikan adalah bahwa penggunaan karbofuran tidak selalu akan menimbulkan kelainan perkembangan khususnya pada ayam atau unggas tetapi kelainan tersebut juga dipengaruhi oleh dosis penggunaan karbofuran yang berpotensi menimbulkan residu dan juga umur dari individu yang terpapar karena menyangkut tingkat kepekaan individu yang berbeda-beda pada setiap tingkatan umur.

RINGKASAN

RINGKASAN

I Made Bangun Arsana. Efek Pemaparan Insektisida Karbofuran Terhadap Perkembangan Otak Ayam.

Karbofuran merupakan salah satu insektisida golongan karbamat yang digunakan secara luas dalam bidang pertanian sebagai pengendali hama tanaman yang cepat dan berspektrum luas. Aktifitas insektisida yang utama disebabkan oleh hambatan pada enzim yaitu Cholinesterase (ChE) pada sistem saraf.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui berat otak ayam dan gambaran histologi otak ayam yang diamati pada bagian *cerebellum* setelah terpapar oleh insektisida karbofuran selama masa embrional sampai dengan embrio tersebut menetas dan berumur dua minggu.

Sejumlah 60 butir telur ayam bertunas (TAB) dari strain ayam pedaging (Broiler) yang belum diinkubasi dengan berat telur rata-rata 62,04 gram dibagi menjadi dua kelompok umur pengamatan yaitu anak ayam umur satu hari dan ayam umur dua minggu. Masing-masing umur pengamatan dibagi menjadi kelompok kontrol (P0) dan kelompok perlakuan (P1 dan P2). Telur ayam bertunas (TAB) disuntik karbofuran pada umur 0 hari inkubasi (belum diinkubasi) dengan dosis karbofuran 0,0106 mg/butir dan 0,0127 mg/butir yang dilarutkan dalam 0,1 ml PZ steril untuk kelompok perlakuan sementara kelompok kontrol disuntik dengan PZ steril sebanyak 0,1 ml.

Peubah yang diamati yaitu organ otak, diambil dari ayam setelah ayam menetas umur satu hari (DOC) dan ayam berumur dua minggu. Untuk setiap kelompok kontrol maupun perlakuan dilakukan penimbangan terhadap berat otak,

kemudian dilanjutkan dengan pembuatan sediaan histopatologi untuk mengamati jumlah sel purkinje otak bagian *cerebellum*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok kontrol maupun perlakuan tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap bobot otak DOC. Pada ayam umur dua minggu, perlakuan dengan insektisida karbofuran memberikan pengaruh nyata terhadap bobot otak yaitu berat tertinggi pada kelompok kontrol (P0) tidak berbeda nyata dengan P1 dan P0 berbeda nyata dengan P2. Pengamatan pada jumlah sel purkinje pada DOC, perlakuan tidak memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah sel purkinje dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pengamatan pada ayam umur dua minggu, perlakuan memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah sel purkinje yaitu P0 berbeda nyata dengan P1 dan P2, sedangkan P1 tidak berbeda nyata dibandingkan dengan P2. Hal ini menunjukkan bahwa efek dari pemaparan insektisida karbofuran justru menunjukkan pengaruh nyata pada ayam umur dua minggu dibandingkan dengan anak ayam umur satu hari.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus. 2003¹. Development of lamination and wiring patterns in the retina of the chick embryo. Function of the enzymes acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase during neurogenesis, cellular regulation and differentiation. <http://neuro.bio.tu-darmstadt.de/layer/layer.html>
- Anonimus. 2003². *Quick Facts*. <http://www.abcbirds.org/pesticides/Profiles/carbofuran.html>.
- Anonimus. 2003³. Teratology. <http://www.teratology.org/jfs/teratologyindex.html>
- Banerjee, G. C. 1986. A Textbook of Animal Husbandry. 6th ed. Oxford and Publishing Co. New Delhi. 633-644.
- Ballantyne, B. and T. C. Mars. 1992. Overview of the biological and clinical aspects of organophosphat and carbamates. In : *Clinical and Experimental Toxicology of Organophosphat and Carbamates*. Ballantyne, B. and T. C. Marrs (ed). Butterworth-Heinemann Ltd.
- Berry, W. K. and Davies, D. R. 1970. The Use of Carbamates and Atropine in the Protection of Animal Against Poisoning by 1,2,2,trymethylpropyl methylphosphonofluoridate. *Biochem. Pharmacol.*, 19 : 927-934.
- Brealey, C. J., Walker, C. H. and Baldwin, B. C. 1980. A-esterase activities in relation to the diferential toxicity of pirimiphos-methyl to birds and mamals. *Pestic. Sci.* 11, 546-554.
- California Environmental Protection Agency. 2000. Carbofuran. Public Health Goal for Chemicals in Drinking Water. Journal.
- Cavanagh, J. B. 1963. Organophosphorus neurotoxicity, a model 'dying back' process comparable to certai human neurological disorders. *Guys Hospital Reports*, 17. 163-172.

- Charles, J. M. and Leming, N. M. 1998. Chronic Dietary Toxicity Study on 2,4 Dichlorophenoxyacetic acid in The Dog. *J. Toxicol Sci.* 46 (1) : 134-142.
- Cloquhoun, D. 1979. The link between drug binding and response : theories and observations. In *The Receptors : A Comprehensive Treatise*. Vol 1. (Brien, R. D. ed). Pp. 93-142. New York. : Plenum Press.
- Cone, W. 1999. Pesticides May Harm Brain. Study Says Health. Fetuses and Young Children in Farm Areas at Highest Risk. Research Suggest With Intelligent, Motor Skills and Personalities Affected. *Environmental Health Perspectives.* 15 : 1-11.
- Dorough, H. W. 1983. Toxicological Significance of Pesticide Conjugate. *Journal. Toxicol. Clin. Toxicol.* 19: 637-659.
- Eto, M., Sifert, J., Engel, J. L. and Casida, J. E. 1980. Organophosphorus and methylcarbamate teratogens : structural requirements for inducing embryonic abnormalities in chicken and kynurenine formamidase inhibition in mouse liver. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 54 : 20-30.
- Frank, C. 1995. Toksikologi Dasar : Asas, Organ Sasaran, dan Penilaian Resiko. Ed. 2. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta. 154-168.
- Hinderer, R. K. and Menzer, R. E. 1976. Enzyme activities and cytochrome P-450 levels of some Japanese quail tissues with respect to their metabolism of several pesticides. *Pestic. Biochem. Physiol.* 16 : 161-169.
- Hoffman, D. J. and Eastin, W. C. Jr. 1981. Effects of malathion, diazinon, and parathion on mallard embryo development and cholinesterase activity. *Environ. Res.*, 26, 472-485.
- Kalant, H., Roschlau, W. H. E. 1989. Principles of Medical Pharmacology. Ed. V, B. C. Dekker Inc. Toronto. Philadelphia. 645-691.
- Landauer, W. (1975). Cholinomimetic teratogens : studies with chicken embryo. *Teratology.* 12 : 125-146.

- Lapadula, D. M., Patton, S. E., Campbell, G. A., Aboudonia, M. B. 1985. Characterization of delayed neurotoxicity in the mouse following chronic oral administration of tri-o-cresyl phosphate. *Toxic. Appl. Pharmacol.* 79 : 83-90.
- 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.
- Moscioni, A. D., Engel, J. L. and Casida, J. E. 1977. Kynurenine formamidase inhibition as a possible mechanism for certain teratogenic effect of organophosphorus and methylcarbamate insecticides in chicken embryos. *Biochem. Pharmacol.* 26 : 2251-2258.
- Namba, T. 1971. Cholinesterase inhibition by organophosphorous compound and its clinical effect. *Bull. WHO.* 44 : 289-307.
- Nasrun, K. A. 1991. Anatomi Perkembangan Sistem Saraf Pusat Mudigah Ayam Setelah Pemberian Insektisida Furadan 3G. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Natawigena, H. 1989. Pestisida dan Kegunaannya . Cetakan keempat. CV. Armico. Bandung. 15, 16, 48.
- Nelson, D. 2003. Cytochrome P450s in Human. *Journal Sci.*
- Noden, D. M. and de Lahunta, A. 1985. The Embriologi of Domestic Animal : Developmental Mechanisms and Malformations. Baltimore. London. 23-41.
- Noback, C. and Demarest, R. J. 1995. Anatomi Susunan Saraf Manusia : Prinsip-Prinsip Dasar Embriologi. Jakarta. Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Oregon State University. 1996. Extension Toxicologi Network. Pesticide Information Profile. Journal.

- Plapp, F. W. Jr. 1981. The Nature, Modes of Action, and Toxicity of Insecticides. Handbook of Pest Mangement in Agriculture Press.
- Poernomo, B. P., M. Mafruchati., Widjiati., E. M. Luqman. Dan E. D. Masithah. 2003. Diktat Ilmu Mudigah. FKH. Universitas Airlangga.
- Rang, H. P., Dale, M. M., Ritter, J. M. 1999. Pharmacology. Ed. IV. Churchill. Livingstone. 168.
- Rochiman, Kusrieningrum, M. S. 1989. Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap. Universitas Airlangga Surabaya.
- Rosso, S. B., 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.
- Saxen. L. 1976. Mechanism of Teratogenesis. *J. Embryo Exp. Morph.* 36: 1-12.
- Seifert, J. and Casida, J. E. 1980. Mechanism of teratogenesis induced by organophosphorous and methyl-carbamate insecticides. In *Progres in Pesticide Biochemistry*. Berkeley, CA : University of California.
- Setiani, D. H. 2001. Otak Manusia dan Berfikir. Makalah Falsafah Sains. PPS IPB. E-Mail: dewi_setiani@excite.com.
- Shah, P. V., Monroe, R. J. and Guthrie, F. E. 1981. Comparative Rate of Dermal Penetration of Insecticides in Mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 59: 414-423.
- Smith, G. J. 1987. Pesticide use and toxicology in relation to wildlife: organophosporus and carbamate compound. Fish and Wildlife Service Resour. Pub. 170, Washington, DC, US Government Printing Office.
- Stevens, J. T., Stitzel, R. E. and McPhilips, J. J. 1972. The effect of subacute administration of anticholinesterase insecticides on hepatic microsomal metabolism. *Life Sci.* 11 : 423-431.

- Taylor. 1983. Evaluation for acceptable daily intake. Biochemical aspect : absorption, distribution, and excretion. *Short term toxicity*. Wettswil. Switzerland.
- Tyl, R. W. 1992. Development and Reproductive Toxicity of Anthicholinesterases. In : Clinical and Experimental Toxicology of Organophosphat and Carbamates. Ballantyne, B. and T. C. Marrs (ed). Butterworth-Heinemann Ltd.
- U. S. EPA. 1990. Drinking Water Criteria Document on Carbofuran. Prepared Under Program No. 1524 for contract 68-C8-0033 by ICAIR, Life Systems, Inc. Cleveland, Ohio for the U.S. Environmental Protection Agency.
- U. S. EPA. 1995. National primary drinking water regulations. Carbofuran. Office of Water, U.S. Environmental Protection Agency. EPA 811-F-95-003f-T.
- Westlake, G. E., Martin, A. D., Stanley, P. I. *et al.* 1983. Control enzyme levels In the plasma, brain and liver from wild birds and mamals in Britain. *Comp. Biochem. Physiol.*, 76C, 15-24.
- Wilson, J. G. 1964. Experimental Teratology. *Am. J. Obstet and Gynec.* 90 : 1181-1191.
- Yatim, W. 1982. Reproduksi dan Embriologi. Penerbit Tarsito Bandung.

LAMPIRAN

Lampiran 1.**Pembuatan Sediaan Histopatologi****a. Fiksasi dan Pencucian**

Organ yang akan dibuat preparat histopatologi yaitu otak yang akan di koleksi selanjutnya di masukan ke dalam larutan formalin 10% sekurang-kurangnya 24 jam. Kemudian dilakukan pencucian dengan air bersih yang mengalir selama 30 menit dan organ otak tersebut sebelumnya telah dipotong dengan ketebalan sekitar 0,5 sentimeter.

b. Dehidrasi dan Clearing

Organ otak yang sudah dibersihkan dengan air selanjutnya di masukkan ke dalam reagen berturut-turut alkohol 70%, 80%, 95%, 96%, alkohol absolut I, II, dan III, dan xylol I dan II masing-masing 30 menit.

c. Infiltrasi

Jaringan di masukan ke dalam parafin I yang mencair, kemudian dimasukan ke dalam oven selama 30 menit. Selanjutnya di masukan ke dalam parafin II dan di masukan ke dalam oven selama 30 menit pada suhu 50°C.

d. Pembuatan Blok Parafin

Sediakan beberapa cetakan besi yang disediakan sebelumnya dan diolesi dengan gliserin dengan tujuan untuk mencegah melekatnya parafin pada cetakan

besi. Organ otak di masukan ke dalam cetakan dengan menggunakan pinset dan dituangi parafin dan ditunggu sampai parafin mengeras.

e. Pengirisan Dengan Mikrotom

Jaringan dipotong dengan setebal 5-7 mikron, kemudian di celupkan ke dalam air hangat dengan suhu 40-50°C sampai jaringan mengembang dengan baik. Kemudian dipindahkan ke dalam *obyek glass* yang sebelumnya telah diolesi dengan menggunakan albumin, dan dikeringkan di atas *hot plate* 60°C.

f. Pewarnaan

Pewarnaan menggunakan pewarnaan Haematoksilin Eosin (HE) yang dilakukan dengan metode Harris, dengan cara sebagai berikut:

Jaringan yang telah dikeringkan di masukan ke dalam xylol I selama tiga menit dengan tempat khusus dan selama satu menit pada xylol II, kemudian pada alkohol absolut I, II, alkohol 96%, 80%, 70% dan air bersih selama satu menit. Jaringan atau organ di masukkan ke dalam zat warna Harris selama 5-10 menit dan cuci dengan air kran selama 2-5 menit. Masukkan ke dalam *acid alcohol* 3-10 celupan, amoniak 6 celupan, aquades secukupnya, zat warna Eosin selama 15 menit, kemudian di masukkan ke dalam aquades secukupnya. Selanjutnya di masukkan ke dalam alkohol 70%, 80%, masing-masing selama 30 detik, alkohol 96%, alkohol absolut I dan II selama 1 menit dan terakhir di masukan ke dalam xylol I dan II masing-masing selama 1-2 menit. Kemudian dibersihkan dari sisa-sisa pewarnaan.

g. Mounting

Yaitu penutupan *obyek glass* dengan *cover glass* yang sebelumnya telah ditetesi dengan canada balsam.

h. Pemeriksaan Mikroskopis

Setelah kering preparat tersebut diperiksa di bawah mikroskop cahaya untuk melihat adanya perubahan pada organ otak dengan menggunakan pembesaran 100 kali atau 400 kali.

Lampiran 2. Data dan Analisis Statistik Berat Otak pada DOC

Tabel 6. Data Bobot Otak pada DOC

ULANGAN	PERLAKUAN			TOTAL
	P0	P1	P2	
1	0,8393	0,7862	0,8301	2,4556
2	0,8203	0,7188	0,8033	2,3424
3	0,9505	0,7798	0,5863	2,3166
4	0,7736	0,8299	0,8655	2,4690
5	0,7088	0,8427	0,7281	2,2796
6	0,8109	0,7668	0,6782	2,2559
7	0,6011	0,6975	0,5541	1,8572
8	0,7050	0,8193	0,5644	2,0887
9	0,6433	0,6970	0,8444	2,1847
10	0,7503	0,9286		1,6789
TOTAL	7,6031	7,8666	6,4544	21,9241
RATA-RATA	0,76031	0,78666	0,71715	2,26412

$$JKT = (0,8393)^2 + (0,8203)^2 + \dots + (0,8444)^2 - \frac{(21,9241)^2}{29}$$

$$= 16,86577 - 16,57469$$

$$= 0,29108$$

$$JKP = \frac{(7,6031)^2}{10} + \frac{(7,8666)^2}{10} + \frac{(6,4544)^2}{9} - \frac{(21,9241)^2}{29}$$

$$= 5,78071 + 4,62881 + 6,18834 - 16,57469$$

$$= 0,02317$$

$$JKS = 0,29108 - 0,02317 = 0,26791$$

$$\text{db perlakuan} = 2$$

$$\text{db sisa} = (10 + 9 + 10) - 3 = 26$$

$$\text{db total} = 28$$

TABEL ANAVA

SK	Db	JK	KT	F Hit	F Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	2	0,02317	0,011585	1,25	3,37	5,53
Sisa	26	0,26791	0,009238			
Total	28	0,29108				

Lampiran 3. Data dan Analisis Statistik Bobot Otak pada Ayam Umur Dua Minggu

Tabel 7. Data Bobot Otak pada Ayam Umur Dua Minggu

ULANGAN	PERLAKUAN			TOTAL
	P0	P1	P2	
1	1,4641	1,3017	1,4032	
2	1,2956	1,3660	1,3853	
3	1,4410	1,4520	1,4994	
4	1,4842	1,3954	1,3229	
5	1,4305	1,5340	1,4495	
6	1,5372	1,3660	1,3680	
7	1,4409	1,2660	1,4750	
8	1,5695	1,3640	1,1327	
9	1,7222		1,2755	
10	1,5906		1,3600	
TOTAL	14,9758	11,0451	13,6715	39,6924
RATA-RATA	1,49758	1,38063	1,36715	

$$JKT = (1,4641)^2 + (1,2956)^2 + \dots + (1,3600)^2 - \frac{(39,6924)^2}{28}$$

$$= 56,63841 - 56,26738$$

$$= 0,37103$$

$$JKP = \frac{(14,9758)^2}{10} + \frac{(11,0451)^2}{8} + \frac{(13,6715)^2}{10} - \frac{(39,6924)^2}{28}$$

$$= 22,42746 + 18,69099 + 15,24928 - 56,26738$$

$$= 0,10035$$

$$JKS = 0,37103 - 0,10035 = 0,27068$$

$$db \text{ perlakuan} = 2$$

$$db \text{ sisa} = (10 + 9 + 10) - 3 = 25$$

$$db \text{ total} = 27$$

TABEL ANAVA

SK	Db	JK	KT	F Hit	F Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	2	0,10035	0,050175	4,63*	3,38	5,57
Sisa	25	0,27068	0,010827			
Total	27	037103				

UJI BEDA NYATA TERKECIL (BNT)

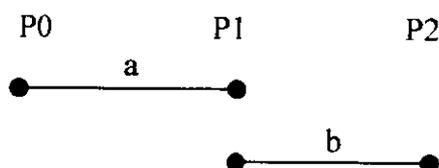
$$BNT \ 5\% = t \ 5\% (25) \times \sqrt{0,010827 (1/10 + 1/10 + 1/8)}$$

$$= 2,060 \times \sqrt{3,518775^{-03}}$$

$$= 0,12220$$

BEDA RATA-RATA PERLAKUAN UNTUK UJI BNT 5%

Perlakuan	Rata-rata X			BNT 5%
		X - P2	X - P1	
P0 ^a	1,49758	0,13043*	0,11695	0,12220
P1 ^{ab}	1,38063			
P2 ^b	1,36715			



Lampiran 4. Data dan Analisis Statistik Jumlah Rata-rata Sel Purkinje pada DOC

Tabel 8. Data Jumlah Rata-rata Sel Purkinje pada DOC

ULANGAN	PERLAKUAN			TOTAL
	P0	P1	P2	
1	8,8	12	10,8	
2	7,6	8,6	7,2	
3	10,2	8	7,8	
4	11,2	8,4	7,6	
5	11,4	8	12,6	
6	12,2	7,6	10	
7	12,2	9	8,8	
8	16,4	10,4	9	
9			6	
10			12,6	
TOTAL	90	72	92,4	254,4
RATA-RATA	11,25	9	9,24	

$$JKT = (8,8)^2 + (7,6)^2 + \dots + (12,6)^2 - \frac{(254,4)^2}{26}$$

$$= 2623,76 - 2489,21$$

$$= 134,55$$

$$JKP = \frac{(90)^2}{8} + \frac{(72)^2}{8} + \frac{(92,4)^2}{10} - \frac{(21,9241)^2}{26}$$

$$= 1012,5 + 648 + 853,776 - 2489,21$$

$$= 25,066$$

$$JKS = 134,55 - 25,066 = 109,484$$

$$\text{db perlakuan} = 2$$

$$\text{db sisa} = (10 + 9 + 10) - 3 = 23$$

$$\text{db total} = 25$$

TABEL ANAVA

SK	Db	JK	KT	F Hit	F Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	2	25,066	12,53	2,63	3,42	5,66
Sisa	23	109,484	4,76			
Total	25	134,55				

Lampiran 5. Data dan Analisis Statistik Jumlah Rata-rata Sel Purkinje pada Ayam Umur Dua Minggu

Tabel 9. Data Jumlah Rata-rata Sel Purkinje pada Ayam Umur Dua Minggu

ULANGAN	PERLAKUAN			TOTAL
	P0	P1	P2	
1	11,6	7	7,8	
2	12,2	5,6	6	
3	11,2	8,4	5,6	
4	9	10,2	5,4	
5	12	5,4	6,2	
6	7,8	8,2	7,4	
7	11,4	7,6	6	
8	9	9,2	5,6	
9	10,2		6,8	
10	11		6,2	
TOTAL	105,4	61,6	63	230
RATA-RATA	10,54	7,7	6,3	

$$JKT = (11,6)^2 + (12,2)^2 + \dots + (6,2)^2 - \frac{(230)^2}{28}$$

$$= 2027,04 - 1889,29$$

$$= 137,75$$

$$JKP = \frac{(105,4)^2}{10} + \frac{(61,6)^2}{8} + \frac{(63)^2}{10} - \frac{(230)^2}{28}$$

$$= 1110,916 + 474,32 + 396,9 - 1889,29$$

$$= 92,846$$

$$JKS = 137,75 - 92,846 = 44,904$$

$$db \text{ perlakuan} = 2$$

$$db \text{ sisa} = (10 + 9 + 10) - 3 = 25$$

$$db \text{ total} = 27$$

TABEL ANAVA

SK	Db	JK	KT	F Hit	F Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	2	92,846	46,42	25,78**	3,38	5,57
Sisa	25	44,904	1,79			
Total	27	137,75				

UJI BEDA NYATA TERKECIL (BNT)

$$BNT 5\% = t 5\% (25) \times \sqrt{1,79 (1/10 + 1/8 + 1/10)}$$

$$= 2,060 \times \sqrt{0,58175}$$

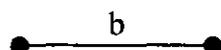
$$= 1,57$$

BEDA RATA-RATA PERLAKUAN UNTUK UJI BNT 5%

Perlakuan	Rata-rata X			BNT 5%
		X - P2	X - P1	
P0 ^a	10,54	4,24*	2,84*	1,57
P1 ^b	7,7	1,4		
P2 ^b	6,3			

P0 P1 P2

• a



Lampiran 6. Penghitungan Dosis Karbofuran

**PENGHITUNGAN
DOSIS KARBOFURAN**

Absorpsi 50% karbofuran terjadi setelah 15 menit secara per oral dan segera 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) menggunakan TAB. Pertama yaitu teratogen yang mempunyai LD_{50} dapat dilakukan degradasi dosis secara langsung melalui fraksi-fraksi kelipatan misal $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{8}$, $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{12}$ dan seterusnya sehingga diperoleh dosis yang mempunyai survival rate lebih dari 50% minimal 10 hari setelah pemaparan. Kedua yaitu teratogen yang tidak mempunyai LD_{50} dapat dilakukan terlebih dahulu pemaparan dengan dosis masing-masing 0,1 ; 1,0 ; dan 10 mg/butir. Teratogen yang masih toleran terhadap TAB pada dosis 0,1 mg dapat dilakukan degradasi dosis pemaparan melalui fraksi-fraksi kelipatan seperti 0,1 ; 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; mg/butir dan seterusnya 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 $\frac{1}{10}$ dan $\frac{1}{12} LD_{50}$ yang masih mempunyai *survival rate* lebih dari 50% minimal 10 hari setelah pemaparan.

Penghitungannya adalah sebagai berikut :

- ❖ LD_{50} karbofuran pada ayam = 25 mg/Kg
- ❖ Dosis Fraksi LD_{50} : 1). $\frac{1}{10}$.
2). $\frac{1}{12}$.
- ❖ Potensi residu pada yolk = 8,2%.

Sehingga diperoleh hasil :

$$1). \frac{1}{10} \times 25 \text{ mg/Kg} \times 8,2\% = 0,2050 \text{ mg/Kg.}$$

$$2). \frac{1}{12} \times 25 \text{ mg/Kg} \times 8,2\% = 0,1708 \text{ mg/Kg.}$$

❖ Furadan 3G yang mengandung kabofuran 3% =

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

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

❖ Furadan 3G yang mengandung kabofuran 3% pada :

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

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

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

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

❖ Berat rata rata Telur Ayam Berembrio (TAB) = 62,04 gram.

❖ Furadan 3G yang disuntikkan pada TAB dengan berat rata-rata 62,04 gram pada:

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

$$= 0,4241 \text{ mg.}$$

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

$$= 0,3534 \text{ mg.}$$

Jadi dosis yang digunakan adalah :

- I. Dewasa-kontrol = 0 mg/butir.
- II. Dewasa-perlakuan I = 0,3534 mg/butir.
- III. Dewasa-perlakuan II = 0,4241 mg/butir.
- IV. Tetas-kontrol = 0 mg/butir.
- V. Tetas-perlakuan I = 0,3534 mg/butir.
- VI. Tetas-perlakuan II = 0,4241 mg/butir.