

**EFEK PEMBERIAN SIMPLISIA KUNYIT (*Curcuma domestica*)
TERHADAP PERKEMBANGAN EMBRIO AYAM (*Gallus
gallus*) BERDASARKAN PERKEMBANGAN DIAMETER
KEPALA DAN HISTOPATOLOGI OTAK**

SKRIPSI

Oleh:

RIFKYTRI ADITIA

145130101111069



PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2019

repository.ub.ac.id

**EFEK PEMBERIAN SIMPLISIA KUNYIT (*Curcuma domestica*)
TERHADAP PERKEMBANGAN EMBRIO AYAM (*Gallus
gallus*) BERDASARKAN PERKEMBANGAN DIAMETER
KEPALA DAN HISTOPATOLOGI OTAK**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh :
RIFKYTRI ADITIA
145130101111069



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
2019**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**EFEK PEMBERIAN SIMPLISIA KUNYIT (*Curcuma domestica*)
TERHADAP PERKEMBANGAN EMBRIO AYAM (*Gallus gallus*)
BERDASARKAN BERDASARKAN PERKEMBANGAN
DIAMETER KEPALA DAN HISTOPATOLOGI OTAK**

Oleh:

RIFKYTRI ADITIA
145130101111069

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 29 Juli 2019
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Edwin Widodo, S.Si., M.Sc., Ph.D

NIP. 19810504 200501 1 001

Drh. Herlina Pratiwi, M.Si

NIP. 19870518 201012 2 010

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya

Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M.App.Sc

NIP. 19631216 198803 1 002

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rifkytri Aditia

NIM : 145130101111069

Program Studi : Kedokteran Hewan

Penulis Skripsi berjudul :

Efek Pemberian Simplisia Kunyit (*Curcuma domestica*) Terhadap Perkembangan Embrio Ayam (*Gallus gallus*) Berdasarkan Perkembangan Diameter Kepala dan Histopatologi Otak

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 29 Juli 2019

Yang menyatakan,

Rifkytri Aditia

NIM. 145130101111069

Efek Pemberian Simplisia Kunyit (*Curcuma domestica*) Terhadap Perkembangan Embrio Ayam (*Gallus gallus*) Berdasarkan Perkembangan Diameter Kepala dan Histopatologi Otak

ABSTRAK

Kunyit (*Curcuma domestica*) merupakan salah satu tanaman obat yang dipakai sebagai bahan obat herbal. *Curcumin* pada kunyit digunakan sebagai bahan obat pengobatan kanker karena bersifat menghambat ekspresi VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) yang berperan dalam proliferasi sel dan angiogenesis. Adanya hambatan angiogenesis dapat menyebabkan perkembangan organogenesis otak terganggu karena kurangnya asupan nutrisi. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh pemberian curcumin dari simplisia Kunyit (*Curcuma domestica*) terhadap perkembangan organogenesis dan diameter otak pada embrio ayam. Sampel TAB yang digunakan merupakan telur ayam yang berumur 0 hari dengan berat 55 g yang dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu: kelompok Perlakuan 1 (P1) tanpa perlakuan, kelompok P2 yang diinokulasi 0,25 mL DMSO 2% (*Dimethylsulfoxide*), kelompok P3 yang diberi simplisia kunyit dengan dosis 0,48 mg/g berat telur dalam 0,25 mL DMSO 2%, dan kelompok P4 yang diberi simplisia kunyit dengan dosis 0,96 mg/g berat telur dalam 0,25 mL DMSO 2%. Inokulasi dilakukan pada TAB usia 3 hari dan di inkubasi selama 10 hari. Parameter yang diukur adalah diameter otak yang dianalisis secara statistik dengan *one-way ANOVA* ($\alpha=0,05$), dan histopatologi otak yang diwarnai dengan metode HE (*Haematoxylin Eosin*) dan diamati secara deskriptif untuk menggambarkan perkembangan otak embrio ayam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa simplisia rimpang kunyit dosis 0,96 mg/g berat telur dapat menyebabkan penurunan diameter embrio dan menyebabkan penurunan sel granular pada otak embrio ayam.

Kata kunci: *Curcumin*, Kunyit, Otak, VEGF.

The Effect of Curcuma (*Curcuma Domestica*) Against the Development of Chicken Embryo (*Gallus gallus*) Based on the Diameter of its Head and Brain Histopathology

ABSTRACT

Turmeric (*curcuma domestica*) is one of the medical plants which is widely used as a herb. Curcumin inside the turmeric is used as a cancer treatment drug because of its ability to block VEGF expression which has the role in cell proliferation and angiogenesis. The blocking of angiogenesis could cause a disruption in brain development because of lacking of nutrition. The purpose of this experiment was to determine the effect of curcumin against angiogenesis development and the brain diameter of chicken embryo. The samples we used are newborn fertilized-chicken egg weighed 55 grams. The samples were divided into 4 groups, which were P1 group without any treatment, P2 group which was inoculated by 0.25mL DMSO 2%, P3 group which was treated by curcumin 0.48mg/gBW inside 0.25mL DMSO 2%, and lastly P4 group which was treated by curcumin 0.96mg/gBW inside 0.25mL DMSO 2%. Inoculation was done in 3 days old fertilized-chicken egg and then incubated for 10 days. The parameter we used were brain diameter which was analyzed statistically using one-way ANOVA and brain histopathology which was stained by HE method, and analyzed descriptively. The result of the experiment showed that curcumin 0.96 mg/gBW could reduce the diameter of embryo brain and caused granular cell reduction of embrio brain.

Keywords : brain, curcumin, turmeric, VEGF

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan berkat dan anugrah-Nya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul “Efek Pemberian Simplisia Kunyit (*Curcuma domestica*) Terhadap Perkembangan Embrio Ayam (*Gallus gallus*) Berdasarkan Perkembangan Diameter Kepala dan Histopatologi Otak” ini dapat terselesaikan.

Selama menyusun skripsi, penulis banyak mendapatkan arahan, bimbingan dan bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

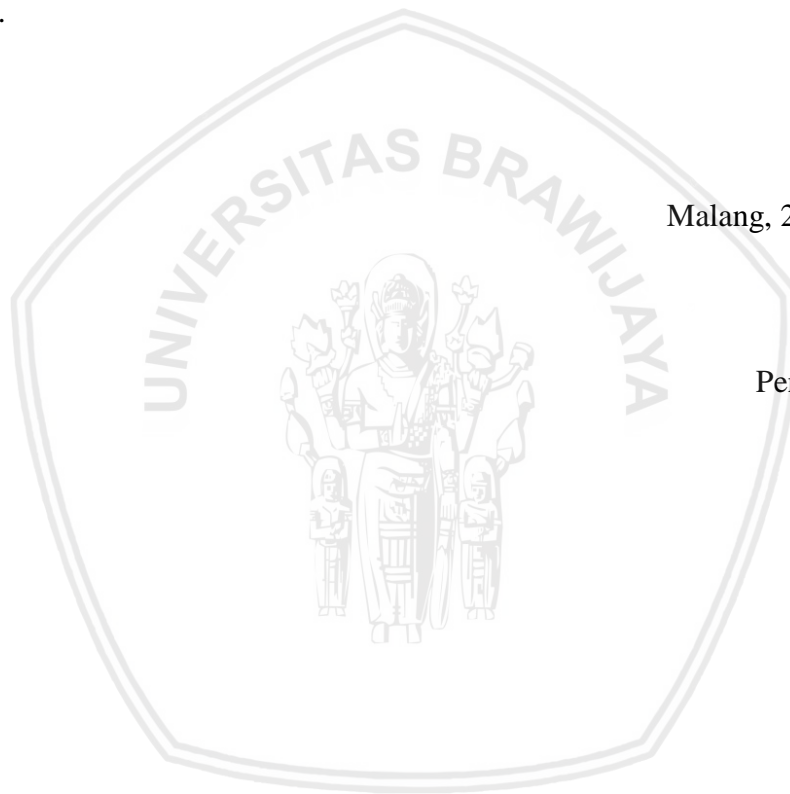
1. Edwin Widodo, S.Si., M.Sc., Ph.D selaku dosen pembimbing I yang telah membantu penulis dalam mengarahkan dan memberi bimbingan, kesabaran, fasilitas, dan waktu yang telah diberikan serta dukungan kepada penulis dalam penyusunan dan penyempurnaan laporan ini.
2. Drh. Herlina Pratiwi, M.Si selaku dosen pembimbing II yang telah membantu penulis dalam mengarahkan dan memberi bimbingan, kesabaran, fasilitas, dan waktu yang telah diberikan serta dukungan kepada penulis dalam penyusunan dan penyempurnaan laporan ini.
3. drh. Aulia Firmawati, M.Vet dan drh. Aldila Noviatry M.Biomed selaku dosen penguji yang telah memberikan saran, kritik, masukan serta dukungan kepada penulis dalam penyempurnaan skripsi ini.
4. Keluarga penulis, Ayah Suyono, Ibu Pujiati, Kakak Rahayu Ariningtias, Kakak Rizki Agung Putra Wicaksono, dan Adik Rahma Asa Kamila yang selalu memberi kasih sayang, dorongan dan dukungan untuk menyelesaikan skripsi serta perhatiannya akan kebutuhan saya baik secara moril maupun materi.
5. Teman sejawat dalam pelaksanaan penelitian ini “Riyyan, Syadza dan Nayo” yang bekerjasama dengan baik, serta selalu memberikan dukungan yang tak henti-henti.
6. Teman-teman Deer (2014 D) yang selalu mendukung penulis dalam menyelesaikan proposal ini.

7. Teman-teman baik penulis "Risalia, Esti, Riyyan, Syaiful, Bay, Putra, Wahyu, Faiz, dan Venny" yang selalu memberikan semangat dan kebahagiaan kepada penulis dalam menyelesaikan proposal ini.

Akhir kata, penulis berharap semoga ALLAH S.W.T. membalas segala kebaikan yang telah diberikan dan hasil dari penelitian ini dapat memberikan manfaat dan menambah pengetahuan tidak hanya bagi penulis tetapi juga bagi pembaca.

Malang, 29 Juli 2019

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
LEMBAR PERNYATAAN	iv
ASTRAK	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Kunyit (<i>Curcuma domestica</i>)	5
2.2 Telur Ayam Berembrio (TAB)	7
2.2.1 Pembentukan Pembuluh Darah pada Embrio	8
2.2.2 Perkembangan Organ	11
2.2.3 Pembentukan Otak pada Embrio Ayam	13
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	15
3.1 Kerangka Konseptual	15
3.2 Hipotesis Penelitian	17
BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN	18
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian	18
4.2 Populasi dan Sampel	18
4.3 Rancangan Penelitian	19
4.4 Variabel Penelitian	20
4.5 Alat dan Bahan	21
4.5.1 Alat	21
4.5.2 Bahan	21
4.6 Prosedur Penelitian	21
4.6.1 Persiapan Simplisia Kunyit (<i>Curcuma domestica</i>)	21
4.6.2 Inokulasi Simplisia Kunyit (<i>Curcuma domestica</i>)	21



4.6.3 Inkubasi Telur Ayam Berembrio	22
4.6.4 Pengambilan Embrio	22
4.6.5 Pembuatan Preparat <i>Whole Mount</i> Pewarnaan HE	23
4.6.6 Pengamatan Histopatologi Otak.....	24
4.6.7 Pembuatan Preparat <i>Whole Mount</i> Pewarnaan IHK	24
4.7 Analisa Data	26
BAB 5 HASIL PENELITIAN	18
5.1 Efek Simplisia Rimpang Kunyit terhadap Pemendekan Diameter Kepala Embrio Usia 10 Hari	19
5.2 Efek Simplisia Rimpang Kunyit terhadap Histopatologi Otak Embrio Usia 10 Hari.....	22
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN	30
DAFTAR PUSTAKA	31
LAMPIRAN.....	33



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1. Kandungan nutrisi kunyit.....	6
4.1 Rancangan Kelompok Penelitian	13
5.5 Rata-rata diameter kepala embrio usia 10 hari pada kelompok perlakuan...	19



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Kunyit (<i>Curcuma domestica</i> Val)	5
3.1 Kerangka Konsep Penelitian	9
5.1 Embrio ayam usia 10 hari.....	19
5.2.1 Histologi otak embrio usia 10 hari.....	22
5.2.2 Histologi <i>Eksternal Granular Layer</i> (EGL).....	23
5.2.3 Histologi <i>marginal layer</i> otak embrio usia 10 hari.....	24
5.2.4 Histologi <i>inner cortical layer</i> otak embrio usia 10 hari.....	25



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Kerangka Operasional	34
2. Pengambilan Embrio	35
3. Pembuatan Preparat <i>Hematoxylin Eosin</i>	36
4. Data Hasil Analisis Statistik Diameter Kepala Embrio.....	37



DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

Angs	: <i>Angiopoietin</i>
AMPA	: <i>α-amino-3-hydroxyl-5-methyl-4-isoxazole-propionate</i>
ANOVA	: <i>Analysis of Variance</i>
BB	: <i>Berat Badan</i>
CAM	: <i>Chorio Allantois Membrane</i>
DMSO	: <i>Dimethyl Sulfoxyde</i>
FGF	: <i>Fibroblast Growth Factor</i>
g	: <i>gram</i>
HE	: <i>Haematoksilin Eosin</i>
JNK	: <i>c-Jun N-terminal kinase</i>
kg	: <i>kilogram</i>
mg	: <i>miligram</i>
mL	: <i>mililiter</i>
NMDA	: <i>N-methyl-D-aspartate</i>
OEC	: <i>Olfactory Ensheathing Cells</i>
PAK2	: <i>p21-activated kinase 2</i>
PARP	: <i>poly-(ADP-ribose) polymerase</i>
RAL	: <i>Rancangan Acak Lengkap</i>
SPF	: <i>Spesific Pathogen Free</i>
SSP	: <i>sistem saraf pusat</i>
TAB	: <i>Telur Ayam Berembrio</i>
TGF	: <i>Transforming Growth Factor</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Penelitian

Kunyit (*Curcuma domestica*) merupakan salah satu tanaman obat yang sering dipakai sebagai bahan obat tradisional atau lebih dikenal sebagai jamu (Paryono dan Kurniarum, 2014). Kunyit mengandung berbagai jenis zat-zat kimia seperti zat warna (Curcumin, dihidrocurkumin, desmetoksikurkumin dan bisdesmetoksikurkumin) sebanyak 3-5%, minyak atsiri (seskuiterpen dan turunan fenilpropana turmeron kurlon kurkumol, atlanton, bisabolen, seskuifellandren, zingiberin, aril kurkumen, humulen) sebanyak 2-5%, dan mineral (magnesium, besi, mangan, kalsium, natrium, kalium, timbal, seng, kobalt, aluminium dan bismuth) (Sudarsono dkk, 1996). Salah satu kandungan kunyit yang banyak dipakai sebagai bahan obat yaitu *curcumin*. *Curcumin* sering digunakan sebagai bahan obat pengobatan kanker. Menurut Zhang dkk (2004), *Curcumin* dapat mengganggu siklus sel kanker paru A549 dan menekan pertumbuhan sel. Aktivitas antikanker *Curcumin* dikaitkan dengan kemampuannya sebagai penghambat COX maupun pada jalur signaling sel, baik melalui pemacuan apoptosis maupun *cell cycle arrest* dengan mempengaruhi produk gen penekan tumor maupun onkogen (Meiyanto, 1999). Selain itu, dikaitkan juga dengan kemampuannya sebagai antioksidan, penghambatan karsinogenesis, penghambatan proliferasi sel, antiestrogen, dan antiangiogenesis.

Menurut Bhandarkar *et al* (2007), *Curcumin* dapat menghambat angiogenesis pada kultur sel endotel vaskuler. Angiogenesis merupakan suatu proses kompleks yang melibatkan *remodelling* matriks ekstraseluler, proliferasi, migrasi sel endotel, dan maturasi secara fungsional dari sel endotel baru menjadi pembuluh darah yang matur. Angiogenesis diperlukan pada proses pertumbuhan embrio (The Angiogenesis Foundation, 2015). Peningkatan angiogenesis akan memperbaiki permeabilitas yang nantinya akan memberikan ekstrasvasasi cairan dan nutrisi yang akan dialirkan pada otak sehingga membantu dalam organogenesis (Ihvaricci, 2014).

Vaskulo-angiogenesis sangat mempengaruhi proses organogenesis otak pada embrio ayam. Embrio ayam dapat digunakan sebagai model penelitian karena memiliki ekspresi gen, detail perkembangan embrio, serta fungsi fisiologis dan bentukan embrio yang memiliki kemiripan dengan embrio manusia (Drake *et al.*, 2006). Proses organogenesis otak embrio membutuhkan nutrisi dan oksigen yang adekuat. Bila terdapat hambatan pada proses transportasi tersebut maka proses perkembangannya tidak dapat berjalan dengan baik. Vaskulo-angiogenesis dapat dipelajari dengan menggunakan model embrio ayam karena sistem vaskularisasinya yang representatif dan lebih mudah dipelajari (Ribatti, 2010). Embrio ayam (*Gallus-gallus*) dapat diobservasi guna mengetahui pertumbuhan biologis, eksperimen embriologi dan teratology. Maka penelitian ini mempelajari pengaruh simplisa kunyit terhadap perkembangan organogenesis otak dan diameter kepala pada embrio.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut didapatkan rumusan masalah sebagai berikut :

1. Apakah pemberian simplisia Kunyit (*Curcuma domestica*) dapat mempengaruhi perkembangan organogenesis otak pada embrio ayam?
2. Apakah pemberian simplisia Kunyit (*Curcuma domestica*) dapat mempengaruhi ukuran diameter kepala pada embrio ayam?

1.2 Batasan Masalah

Batasan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Hewan coba yang digunakan yaitu telur ayam berembrio sejumlah 20 butir dengan usia 3 hari dan berat 55 gram. Telur ayam berembrio yang digunakan sedang dalam proses mendapatkan sertifikat Laik Etik dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
2. Dosis pemberian curcumin dari simplisia Kunyit (*Curcuma domestica*) sebanyak 0,48 mg/g berat telur, 0,96 mg/g berat telur, yang diberikan melalui kantung hawa.
3. Volume pemberian simplisia Kunyit (*Curcuma domestica*) yang diberikan sebanyak 0,25 mL sekali pemberian yang diberikan melalui kantung hawa sesuai dengan kelompok perlakuan.
4. Pengamatan diameter kepala embrio dilakukan dengan mengukur diameter kepala embrio menggunakan jangka sorong.

5. Pembacaan histopatologi otak yang diwarnai dengan pewarnaan *Haematoksilin Eosin* (HE) diamati dengan mikroskop cahaya melalui perbesaran 400x, dan 1000x dan dianalisis secara deskriptif untuk mengamati proses organogenesis otak.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu :

1. Mengetahui pengaruh pemberian simplisia Kunyit (*Curcuma domestica*) terhadap perkembangan diameter kepala pada embrio ayam.
2. Mengetahui pengaruh pemberian simplisia Kunyit (*Curcuma domestica*) terhadap organogenesis otak embrio ayam.

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang dapat diberikan penulis terhadap penelitian ini yaitu memberikan informasi mengenai pengaruh pemberian curcumin dari simplisia Kunyit (*Curcuma domestica*) terhadap pertumbuhan diameter kepala dan organogenesis otak pada embrio ayam dengan pengukuran menggunakan jangka sorong dan histopatologi dengan pewarnaan *Haematoxylin Eosin* (HE).

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kunyit (*Curcuma domestica*)

Kunyit merupakan salah satu jenis tanaman obat yang banyak memiliki manfaat dan banyak ditemukan di wilayah Indonesia. Kunyit merupakan jenis rumput – rumputan, tingginya sekitar 1 meter dan bunganya muncul dari puncak batang semu dengan panjang sekitar 10 – 15 cm. Umbi akarnya berwarna kuning tua, berbau wangi aromatis dan rasanya sedikit manis. Bagian utamanya dari tanaman kunyit adalah rimpangnya yang berada didalam tanah. Rimpangnya memiliki banyak cabang dan tumbuh menjalar, rimpang induk biasanya berbentuk elips dengan kulit luarnya berwarna jingga kekuning – kuning (Hartati dan Balitro, 2013).



Gambar 2.1 Kunyit (*Curcuma domestica* Val) (Hartati dan Balitro, 2013).

Klasifikasi tanaman pegagan (Winarto, 2005) :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub-divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Ordo	: Zingiberales
Family	: Zingiberaceae

Genus : Curcuma
 Spesies : *Curcuma domestica*

Kandungan nutrisi kunyit **Tabel 2.1** :

Kandungan	Jumlah dalam 100 g
Energi	390,00 KCal
Kalsium	20,00 mg
Karbohidrat	6990,00 mg
Lemak	890,00 mg
Asam askorbat	50,00 mg
Zat Besi	4750,00 mg
Niasin	4,80 mg
Kalium	200,00 mg
Fosfor	260,00 mg
Protein	850,00 mg
Riboflavin	0,19 mg
Natrium	30,00 mg
Tiamin	0,09 mg
Air	60,00 mg

Tabel 2.1 Komposisi nutrisi kunyit menurut Winarto (2005).

Senyawa kimia utama yang terkandung dalam kunyit adalah kurkuminoid atau zat warna, yakni sebanyak 2,5 – 6%. Pigmen kurkumin menyebabkan warna kuning orange pada rimpang (Winarto, 2004). Komponen kimia lain yang terdapat didalam rimpang kunyit diantaranya minyak atsiri, pati, zat pahit, resin, selulosa dan beberapa mineral. Kandungan minyak atsiri kunyit sekitar 3 – 5%. Disamping itu, kunyit juga mengandung zat warna lain, seperti monodesmetoksikurkumin dan bidesmetoksikurkumin, setiap rimpang segar kunyit mengandung ketiga senyawa ini sebesar 0,8% (Winarto, 2004).

Kandungan curcumin pada kunyit banyak dikembangkan kinerja farmakologisnya sebagai antiinflamasi, antihepatotoksik dan antikanker. Sebagai antikanker aksi kurkumin biasanya dikaitkan dengan aktivitasnya sebagai senyawa penangkal radikal, antioksidan, antiproliferasi, antiinflamasi, yaitu sebagai inhibitor enzim siklooksigenase (suatu enzim yang mengkatalisis pembentukan prostanooid dari asam arakidonat), dan juga sebagai senyawa pemacu apoptosis (Nurrochmad, 2004).

Salah satu mekanisme antikanker curcumin adalah dengan menginhibisi MMP-2, MMP-9 dan *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) (Lin *et al*, 2009). Inhibisi terhadap VEGF bertujuan untuk menghambat proliferasi sel, dan angiogenesis pada kanker sehingga perkembangan kanker dapat dihambat. Inhibisi Matrix metalloproteinase (MMPs) berfungsi untuk menghambat invasi dan metastase sel kanker (Mutiah, 2015).

2.2 Telur Ayam Berembrio (TAB)

Klasifikasi ayam (Nasser, *et al.*, 2007):

Phylum	: Animalia
Subphylum	: Vertebrata
Class	: Aves
Order	: Galliformes
Family	: Phasianidae
Subfamily	: Phasianidae
Genus	: Gallus
Species	: <i>Gallus gallus</i>

Telur ayam berembrio (TAB) merupakan telur dari ayam yang mengandung embrio atau sudah dibuahi oleh pejantan. Embrio ayam banyak digunakan untuk penelitian karena memiliki ekspresi gen, detail perkembangan, dan fungsi fisiologis yang mirip dengan manusia (Drake *et al*, 2006). Embrio ayam juga bagus untuk digunakan sebagai model untuk mempelajari perkembangan vaskulogenesis dan angiogenesis (Ferguson, *et al.*, 2006). Pada proses inkubasi 48 jam embrio ayam telah menggambarkan pembentukan *blood island* dan sistem vaskuler, serta pembentukan jantung (Le Noble, *et al.*, 2004). Pada usia 72 jam, *pharyngeal groove* ke empat akan terbentuk dan

pharyngeal arch akan menebal. Pada masa ini juga akan terbentuk 5 bagian otak embrio (Patten, 2012).

Uji pada telur ayam berembrio dapat dilakukan dengan 3 rute pemberian yaitu ruang allantois, *yolk sac*, dan *chorioallantois membran* (CAM). Menurut Murtini, dkk (2006), rute pemberian paling aman adalah melalui ruang allantois. Hal ini disebabkan karena pemberian melalui ruang allantois memungkinkan zat yang diberikan akan terserap secara perlahan sehingga mengurangi efek zat tersebut pada embrio ayam.

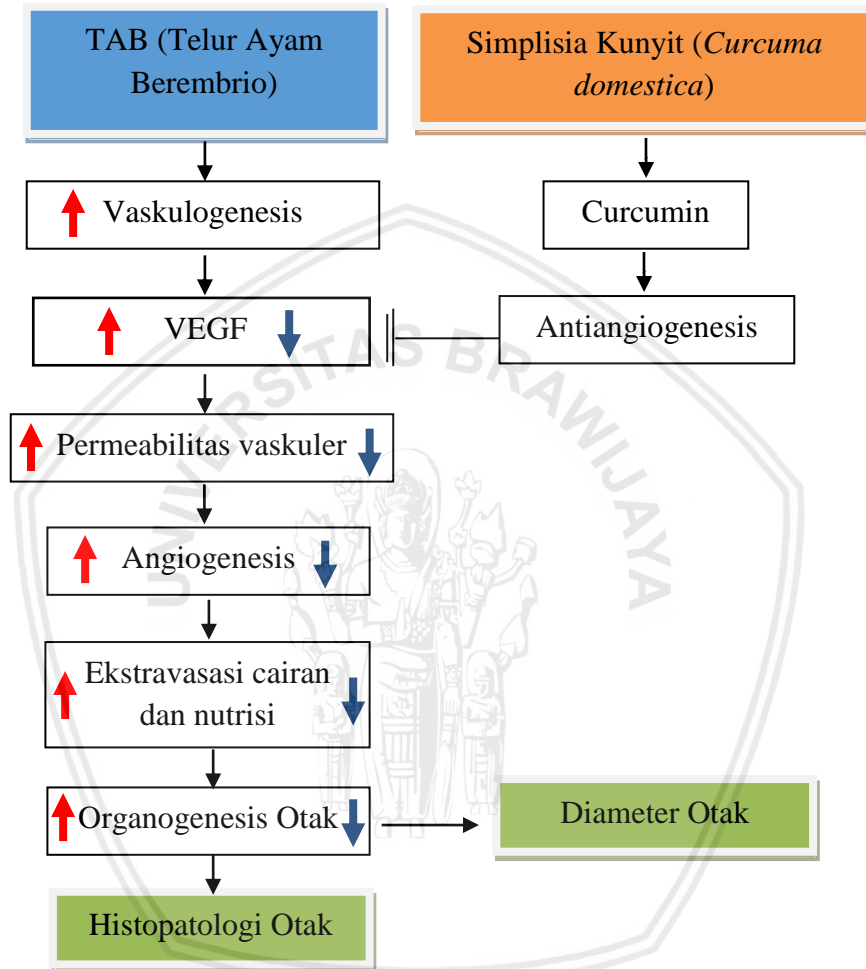
2.3 Pembentukan Otak pada Embrio Ayam

Otak adalah organ vital yang terdiri dari 100-200 milyar sel aktif yang saling berhubungan dan bertanggung jawab atas fungsi mental dan intelektual. Otak merupakan bagian utama dari sistem saraf, dengan komponen bagiannya adalah: Cerebrum, cerebellum, dan brain stem. Cerebrum merupakan bagian otak yang terbesar yang terdiri dari sepasang hemisfer kanan dan kiri dan tersusun dari korteks. Korteks ditandai dengan sulkus (celah) dan girus (Ganong, 2003). Cerebellum terdiri dari tiga bagian fungsional yang berbeda yang menerima dan menyampaikan informasi ke bagian lain dari sistem saraf pusat. Cerebellum merupakan pusat koordinasi untuk keseimbangan dan tonus otot. Mengendalikan kontraksi otot-otot volunter secara optimal. Bagian-bagian dari cerebellum adalah lobus anterior, lobus medialis dan lobus flucolonodularis (Purves, 2004). Brainstem adalah batang otak, berfungsi untuk mengatur seluruh proses kehidupan yang mendasar. Secara garis besar brainstem terdiri dari tiga segmen, yaitu mesensefalon, pons dan medulla oblongata (Purves, 2004).

Perkembangan organogenesis otak dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya angiogenesis. Organogenesis otak memerlukan asupan nutrisi yang adekuat. Adanya hambatan angiogenesis dapat menyebabkan perkembangan organogenesis otak terganggu (Ganong, 2003).

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Kerangka konsep penelitian

Keterangan :

- : Variabel kendali
- : Variabel bebas
- : Variable bergantung
- : Kondisi perkembangan embrio ayam
- : Efek pemberian curcumin

Organogenesis otak dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya vaskulogenesis dan angiogenesis. Pada tahap awal vaskulogenesis, *yolk sac endoderm* akan menginduksi *yolk sac mesoderm* menjadi sel-sel hemangioblas. Sel-sel hemangioblas atau disebut dengan *blood island* terbagi menjadi dua bagian, yaitu *hematopoietic stem cell* dan *endothelial cell*. *Hematopoietic stem cell* berfungsi sebagai penghasil sel darah sebelum terbentuknya thymus. *Endothelial cell* akan berproliferasi, dan berdiferensiasi menjadi pembuluh darah utama. *Vascular Endothelial Growth Factor* merupakan faktor angiogenik yang merupakan faktor penting dalam angiogenesis yang berperan sebagai permeabilitas vaskuler yang digunakan sebagai marka angiogenesis. Angiogenesis akan dimulai setelah proses vaskulogenesis. Angiogenesis berperan penting dalam organogenesis otak embrio ayam. Peningkatan angiogenesis akan memperbaiki permeabilitas yang nantinya akan memberikan ekstrasvasi cairan dan nutrisi yang akan dialirkan pada otak sehingga membantu dalam organogenesis.

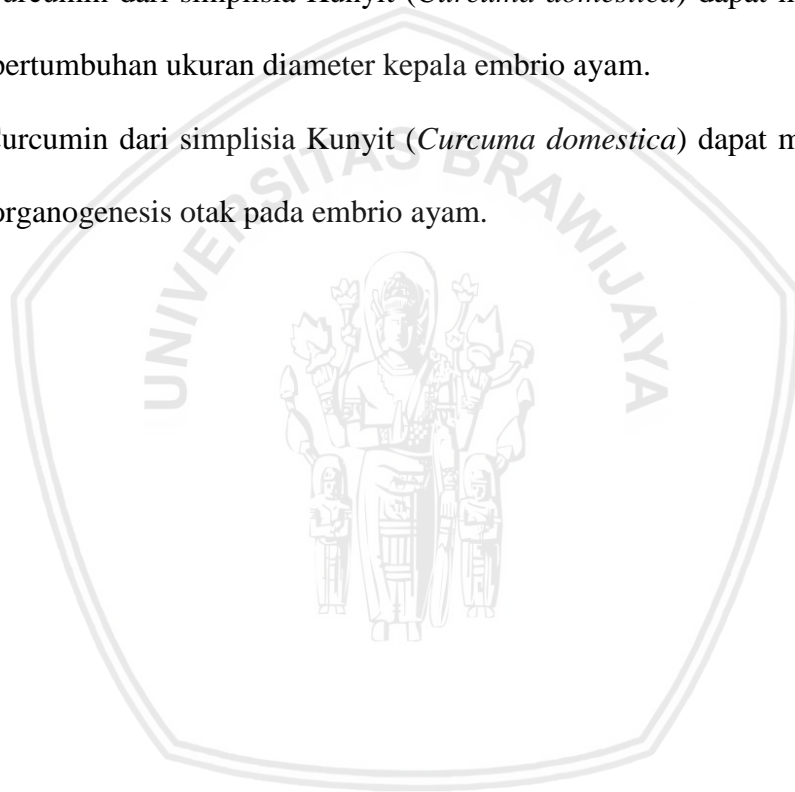
Larutan simplisia kunyit diberikan pada TAB melalui kantung hawa. Kunyit memiliki kandungan curcumin yang berfungsi sebagai antiangiogenesis yang menghambat proses angiogenesis. Adanya hambatan angiogenesis dapat menyebabkan perkembangan organogenesis otak terganggu. Pertumbuhan pembuluh darah akibat VEGF sangat penting untuk pertumbuhan jaringan saraf selama perkembangan embrio. Hal ini ditunjukkan oleh pengamatan bahwa hilangnya ekspresi VEGF oleh neuron sistem saraf pusat (SSP) akan mengganggu vaskularisasi, menghambat

ekspansi neuron dan menghasilkan apoptosis neuron pada otak yang sedang berkembang.

3.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka konsep yang telah diuraikan didapatkan hipotesa penelitian sebagai berikut :

1. Curcumin dari simplisia Kunyit (*Curcuma domestica*) dapat menghambat pertumbuhan ukuran diameter kepala embrio ayam.
2. Curcumin dari simplisia Kunyit (*Curcuma domestica*) dapat menghambat organogenesis otak pada embrio ayam.



BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya, pembuatan preparat pewarnaan HE dilakukan di Laboratorium Histologi Anatomi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya. Penelitian ini dimulai pada bulan September 2018 dan sudah mendapatkan keterangan laik etik.

4.2 Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah Telur Ayam Berembrio (TAB) yang belum pernah diinkubasi. Estimasi besar sampel dihitung berdasarkan rumus Federer (Kusriningrum, 2008) :

$$t(n-1) \geq 15$$

$$4(n-1) \geq 15$$

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75 \approx 5$$

Keterangan:

t = jumlah kelompok

n = jumlah ulangan yang diperlukan

Berdasarkan perhitungan di atas, maka untuk empat kelompok perlakuan diperlukan jumlah ulangan paling sedikit 5 kali dalam setiap kelompok. Penelitian ini menggunakan 5 telur ayam berembrio yang belum pernah diinkubasi dalam setiap kelompok.

4.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), dimana akan dibagi 4 kelompok eksperimen secara acak, dan tiap kelompok terdiri

dari 5 telur ayam berembrio. Kelompok pertama (P1) adalah telur ayam berembrio dengan kontrol negatif tanpa perlakuan, kelompok kedua (P2) adalah kelompok telur ayam berembrio yang diberikan DMSO 2%, kelompok ketiga (D1) adalah kelompok telur ayam berembrio yang diberikan simplisia kunyit dengan dosis 0,48 mg dengan dilarutkan dengan DMSO 2%, dan kelompok keempat (D2) adalah kelompok telur ayam berembrio yang diberikan simplisia kunyit dengan dosis 0,96 mg/g berat telur dengan pelarut DMSO 2%. Kelompok kontrol P2, D1, dan D2 diberikan sebanyak 0,25 mL. Semua perlakuan diinkubasi selama 10 hari dengan suhu 38°C. Variabel yang diamati adalah Histopatologi Otak dan Diameter Kepala embrio ayam (**Tabel 4.1**).

Tabel 4.1 Rancangan Kelompok Penelitian

Kelompok	Perlakuan	Variabel yang diamati	
		Histopatologi Otak	Diameter Kepala Embrio
P1	Inkubasi selama 10 hari dengan suhu 38°C.		
P2	Inkubasi selama 10 hari dengan suhu 38°C + pemberian DMSO 2% sebanyak 0,25 mL.		
P3	Inkubasi selama 10 hari dengan suhu 38°C + pemberian simplisia kunyit dengan dosis 0,48 mg/g berat telur sebanyak 0,25 mL.		

P4	Inkubasi selama 10 hari dengan suhu 38°C + pemberian simplisia kunyit dengan dosis 0,96 mg/g berat telur sebanyak 0,25 mL.
-----------	--

4.4 Variabel Penelitian

Adapun variabel yang diamati pada penelitian ini adalah:

Variabel Bebas : Pemberian Simplisia rimpang kunyit dan DMSO..

Variabel Terikat : Gambaran Histopatologi Otak dan Panjang Embrio Ayam.

Variabel Kontrol : TAB buras SPF, Masa inkubasi selama 10 hari dan suhu inkubasi 38°C.

4.5 Alat dan Bahan

4.5.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian kali ini di antaranya adalah inkubator, *egg tray*, cawan petri, tabung effendorf, *vortex mixer*, timbangan, spuit 1 cc, spuit 5 cc, *object glass*, *cover glass*, pinset, gunting, *candler egg*, pelubang telur (*egg shell punch*), selotip, *glove*, kertas saring, jangka sorong, mikroskop cahaya, kamera, dan alat tulis.

4.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian kali ini di antaranya adalah telur ayam berembrio dengan berat rata-rata 55 gram, simplisia kunyit, cairan ringer laktat, aquades, formalin 10%, alkohol 96%, xylol, Phosphat Buffer Saline 1%, H₂O₂ 0,1%, DMSO 2%, alkohol (70%, 80%, 90%, dan 95%), etanol (70%, 80%, 90% dan 95%), xylol I-III, paraffin blok, pewarna Hematoxyline eosin.

4.6 Prosedur Penelitian

4.6.1 Persiapan Simplisia Rimpang Kunyit

Persiapan simplisia rimpang kunyit diawali dengan melakukan penimbangan simplisia kunyit sebanyak 0,48 mg/g berat telur untuk kelompok perlakuan P3 dan 0,96 mg/g berat telur untuk kelompok perlakuan P4. Simplisia diencerkan dengan DMSO 2% hingga mencapai 0,25ml kemudian dihomogenkan menggunakan *vortex mixer*. Proses dari diencerkan bertujuan untuk mempermudah dari proses pemberian simplisia rimpang kunyit terhadap telur ayam berembrio.

Metode pembuatan simplisia menurut Prasetyo (2013), pembuatan simplisia kunyit diawali dari proses sortasi basah yaitu pemisahan dari jenis tanaman lainnya pasca panen, kemudian dilakukan proses pencucian dengan pemisahan dari kotoran dan memastikan kondisi bahan bersih dari kotoran, setelah dilakukan pencucian dilakukan proses perajangan dan proses pengeringan, setelah tahapan selesai dilakukan sortasi kering untuk memisahkan dari kotoran yang tersisa dan dilakukan *packing*.

4.6.2 Pemberian Simplisia Kunyit

Telur ayam berembrio yang akan digunakan diperiksa terlebih dahulu di dalam ruangan gelap dengan menggunakan *egg candler*. Hal ini bertujuan untuk menentukan letak kantong hawa untuk diberikan simplisia kunyit. Lokasi kantong hawa ditandai menggunakan pensil, begitu pula di bagian atas kantong hawa untuk tempat melubangi telur. Langkah

selanjutnya adalah melubangi telur selebar jarum spuit di bagian yang sudah ditandai lalu diinjeksi larutan DMSO 2% sebanyak 0,25 mL pada kelompok P2 (DMSO 2%) dan diberikan simplisia kunyit sebanyak 0,25 mL dengan dosis masing-masing pada kelompok perlakuan P3 dan P4 sebanyak 0,48 mg/g berat telur dan 0,96 mg/g berat telur. Lubang hasil injeksi ditutup menggunakan selotip dan dilabeli.

4.6.3 Inkubasi Telur Ayam Berembrio

Telur ayam berembrio diinkubasi pada suhu inkubator 38°C. Menurut Asmarawati dkk. (2013), suhu mesin tetas telur kisaran 38-39 °C dengan kelembaban dari inkubator sebesar 45-60%. Selama penetasan suhu dan kelembaban dicatat dan dijaga agar tetap optimal, dengan mengisi bak air dan diisi kembali saat air sudah berkurang (Badaruddin dkk., 2017).

4.6.4 Pengambilan Embrio

Cangkang telur dipecahkan dengan mengetukkan kantong hawa menggunakan pinset dengan tidak mengubah posisi telur. Telur dituang ke dalam cawan petri yang setengahnya telah diisi larutan *Ringer Laktat* selanjutnya di pisahkan embrio dari kuning telur yang menempel di embrio. Langkah selanjutnya yaitu pencucian embrio menggunakan *Ringer Laktat* dengan di rendam dan di goyang-goyangkan sampai embrio bersih dari kuning telur yang tertinggal. Kemudian di masukan pot organ yang berisi formalin 10%.

4.6.5 Pengukuran Diameter Kepala

Pengukuran diameter otak dilakukan dengan menggunakan jangka sorong di titik terjauh antara *os frontal* dan *os occipital*. Data pengukuran di tulis dalam sebuah tabel. Data pengukuran di analisis secara statistika dengan *spss 16 for windows*.

4.6.6 Pembuatan Preparat dengan Pewarnaan HE

Sampel embrio ayam yang telah direndam dalam larutan formalin 10%, selanjutnya masuk ke proses dehidrasi, embrio direndam dalam larutan etanol 70% selama 24 jam, selanjutnya larutan etanol 80% selama 2 jam, larutan etanol 90% dan 95% masing masing 20 menit. Embrio direndam lagi dalam larutan etanol absolut I, II, dan II masing – masing selama 20 menit. Setelah tahap dehidrasi kemudian direndam pada cairan xylol I selama 20 menit dan xylol II selama 40 menit. Sampel embrio kemudian dipadatkan menggunakan parafin, embrio dibenamkan pada parafin I selama 2 jam, parafin dua selama 1 jam dan parafin III selama 2 jam. Tahap selanjutnya dilakukan blocking memakai cetakan logam.

Parafin cair ditempatkan sedikit pada cetakan, kemudian jaringan dimasukkan dalam cetakan secara cepat lalu parafin cair dituangkan kembali pada cetakan hingga penuh, selanjutnya masuk ke tahap pemotongan jaringan memakai pisau mikrotom. Blok parafin yang akan dipotong diletakkan pada tempatnya pada mikrotom dan diatur jarak preparat ke arah pisau sedekat mungkin. Irisan dibuat dengan ketebalan $\pm 5 \mu\text{m}$. Jaringan

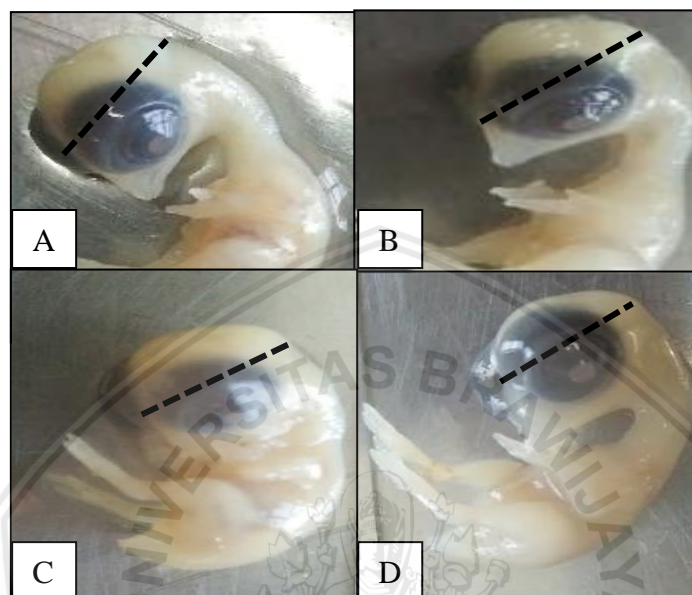
selanjutnya dipindahkan perlahan ke atas air pada waterbath pada suhu 55°C agar pita parafin terkembang dengan baik kemudian ditempelkan pada object glass. Preparat kemudian diinkubasi untuk pembuangan parafin lalu diwarnai dengan pewarnaan HE dan disimpan selama 12 jam agar pengeringan maksimal. *Canada balsem* dioleskan setelah preparat kering (Khusna, 2017).

4.7 Analisa Data

Data perkembangan embrio ayam berdasarkan Diameter Kepala embrio berupa data kuantitatif yang dianalisis dengan menggunakan Uji *One Way Analysis of Variance* (ANOVA) dengan taraf kepercayaan 95% untuk mengetahui pengaruh pemberian simplisia rimpang kunyit terhadap perkembangan diameter kepala embrio ayam, yang selanjutnya dilakukan uji lanjutan berupa Uji Tukey. Gambaran histopatologi otak dianalisis secara kualitatif deskriptif dengan mengamati perubahan sel pada masing-masing kelompok perlakuan.

BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Efek Simplisia Rimpang Kunyit terhadap Pemendekan Diameter Kepala Embrio Usia 10 Hari



Gambar 5.1 Embrio ayam usia 10 hari. (A) Kelompok P1 (tanpa perlakuan). (B) Kelompok P2 (injeksi DMSO 2%). (C) Kelompok P3 (injeksi simplisia rimpang kunyit dosis 0,48 mg/gr dan DMSO 2%). (D) Kelompok P4 (injeksi simplisia rimpang kunyit dosis 0,96 mg/gr dan DMSO 2%)
Keterangan : ---- = Garis area pengukuran diameter embrio

Efek simplisia rimpang kunyit terhadap diameter kepala embrio usia 10 hari diamati secara kuantitatif (**Tabel 5.1**) yang diukur dengan jangka sorong.

Kelompok	Mean±SD (mm)	Peningkatan Terhadap P1	Penurunan Terhadap P1
P1 (tanpa perlakuan)	9,70 ± 0,44 ^b mm	-	-
P2 (injeksi DMSO 2%)	11,69 ± 0,59 ^c mm	20,5%	-
P3 (injeksi simplisia kunyit dosis 0,48 mg/gr + DMSO 2%)	9,65 ± 2,09 ^b mm	-	0,5%
P4 (injeksi simplisia kunyit dosis 0,96 mg/gr + DMSO 2%)	7,15 ± 1,35 ^a mm	-	26,2%

Tabel 5.1 Rata-rata diameter kepala embrio usia 10 hari pada kelompok perlakuan

Perbedaan rata-rata diameter kepala embrio ayam usia 10 hari antara kelompok kontrol negatif (tanpa perlakuan) dengan kelompok kontrol positif (pemberian DMSO 2%) menunjukkan perbedaan hasil yang signifikan berdasarkan notasi statistika (**Tabel 5.1**). Pada kelompok P2 terjadi peningkatan rata-rata diameter kepala embrio usia 10 hari jika dibandingkan dengan kelompok P1 dengan peningkatan signifikan sebesar 20,5%. Penyebab peningkatan diameter kepala kelompok P2 dapat disebabkan karena efek neuroprotektif dari DMSO (*Dimetil sulfoksida*). Menurut Suarez *et al.* (2011), DMSO merupakan pelarut yang dapat dipakai pada konsentrasi sangat rendah untuk pengembangan antioksidan baru yang memiliki karakteristik sebagai neuroprotektif. Efek neuroprotektif disebabkan kemampuan DMSO untuk mengumpulkan radikal bebas berlebih dan mencegah kerusakan sel dari masuknya Na^+ dan Ca^{2+} ke dalam sel-sel otak, serta pengurangan aktivasi NMDA-AMPA. Pengurangan aktivasi NMDA-AMPA akan menurunkan eksitotoksisitas glutamat, yang diyakini memicu kaskade biokimia yang berakhir pada jalur kematian sel (Purves dkk., 2001.). Hal ini menunjukkan bahwa DMSO dapat bersifat sebagai pelindung saraf yang kuat dan dapat mengurangi kerusakan neurologis setelah kerusakan SSP (Sistem Saraf Pusat) dan dapat memiliki dampak yang signifikan pada pemulihan neurologis yang mengalami trauma.

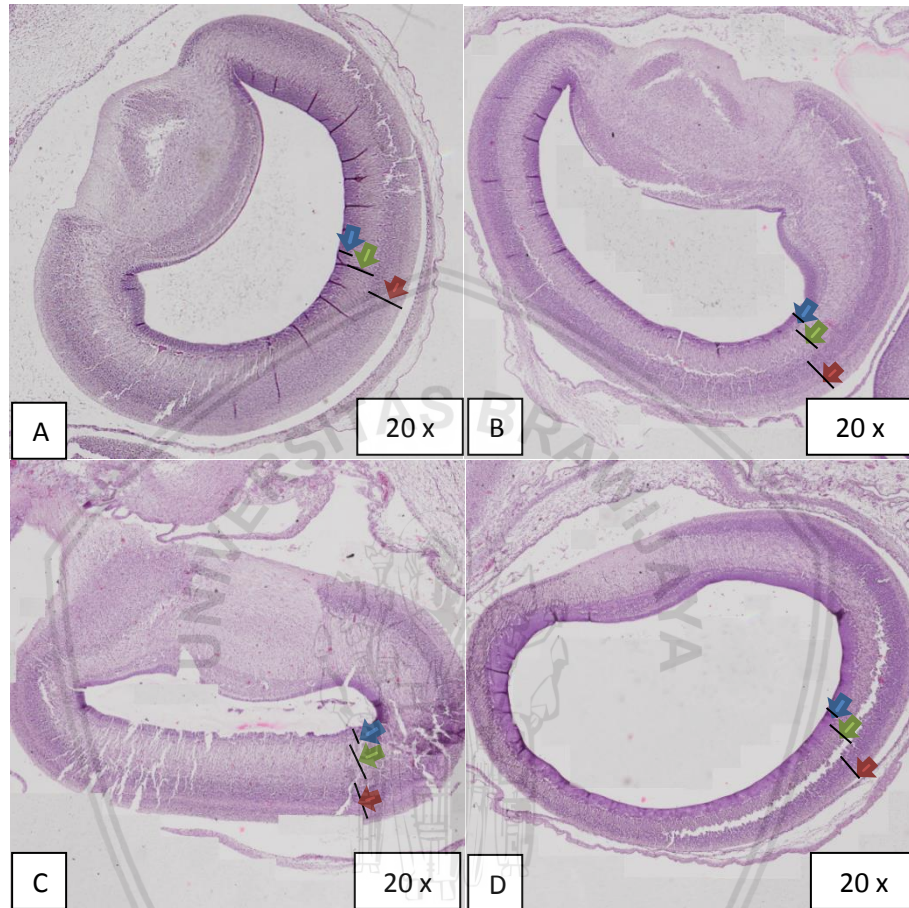
Pada kelompok pemberian simplisia rimpang kunyit dengan dosis 0,48 mg/gr telur dan DMSO 2% (P3) menyebabkan hambatan perkembangan

diameter kepala jika dibandingkan dengan kelompok P1 dan kelompok P2 (**Tabel 5.1**). Secara statistika rata-rata diameter kepala kelompok P3 tidak menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan dengan kelompok kontrol positif dengan ditandai notasi yang sama karena penurunan diameter kepala hanya sebesar 0,5%.

Rata-rata diameter kepala embrio ayam kelompok P4 (pemberian simplisia rimpang kunyit dosis 0,96 mg/gr dan DMSO 2%) secara statistika berbeda nyata dengan kelompok P1 dan mengalami pemendekan diameter kepala sebesar 26,2%. Penurunan rata rata diameter kepala dapat disebabkan karena adanya gangguan angiogenesis oleh simplisia kunyit. Gangguan angiogenesis akan menyebabkan hambatan pembentukan pembuluh darah ke jaringan perifer, sehingga menyebabkan kurangnya pemenuhan nutrisi dan berujung pada kegagalan tumbuh hingga kematian jaringan (Bhandarkar dan Arbiser, 2007).

Lingkar kepala digunakan sebagai pengganti pengukuran ukuran dan pertumbuhan otak tetapi tidak sepenuhnya berkorelasi dengan volume otak. Pengukuran lingkar kepala merupakan prediktor terbaik dalam melihat perkembangan syaraf dan dalam menyediakan tampilan dinamis dari pertumbuhan global otak dan struktur internal (Chamidah, 2009). Pengukuran lingkar kepala dapat di ganti dengan pengukuran diameter kepala karena pengukuran keduanya berbanding lurus. Penurunan rata rata diameter kepala dapat menggambarkan adanya penurunan perkembangan syaraf dan hambatan pertumbuhan otak.

5.2 Efek Simplisia Rimpang Kunyit terhadap Histopatologi Otak Embrio Usia 10 Hari

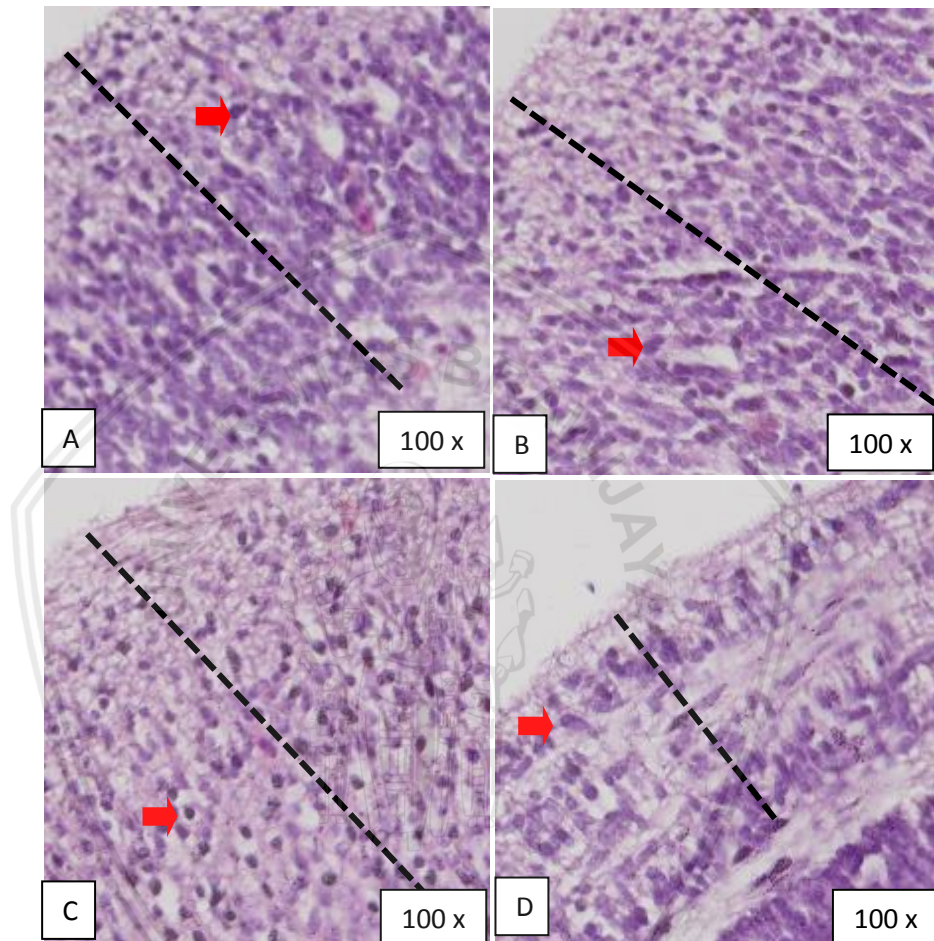


Gambar 5.2.1 Histologi cerebrum otak embrio usia 10 hari kelompok P1. (A) Histologi otak embrio usia 10 hari kelompok P2 (B) Histologi otak embrio usia 10 hari kelompok P3 (C) Histologi otak embrio usia 10 hari kelompok P3 (D)

Keterangan: ➡ : *Eksternal Granular Layer* (EGL)
➡ : *marginal layer*
➡ : *inner cortical layer*

Pada jaringan otak embrio ayam usia 10 hari pada setiap kelompok memperlihatkan otak memiliki 3 bagian yang terdiri dari *Eksternal Granular Layer* (EGL), *marginal layer*, dan *inner cortical layer* (**Gambar 5.2.1**). *Eksternal Granular Layer* (EGL) tampak gelap dan terdiri dari sel granular yang berbentuk bulat (➡). *marginal layer* tampak lebih terang dan terdapat

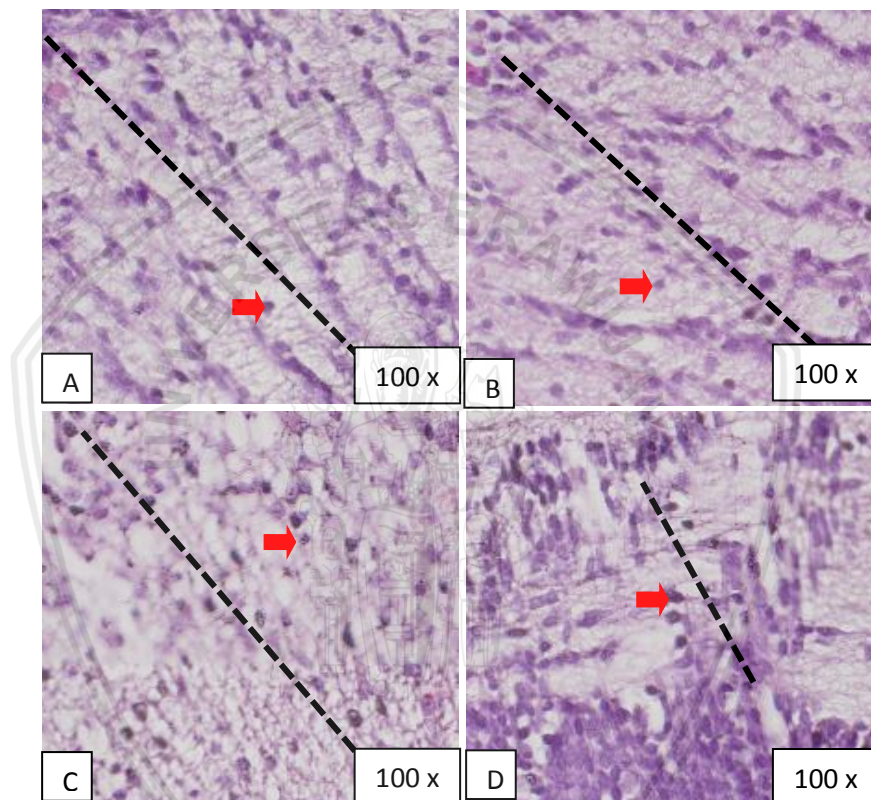
sedikit sel granular yang bermigrasi (➡). *inner cortical layer* tampak lebih gelap dan terdapat sel granular yang rapat (➡).



Gambar 5.2.2 Histologi *Eksternal Granular Layer* (EGL) otak embrio usia 10 hari kelompok P1 (A). Histologi *Eksternal Granular Layer* (EGL) otak embrio usia 10 hari kelompok P2 (B). Histologi *Eksternal Granular Layer* (EGL) otak embrio usia 10 hari kelompok P3 (C). Histologi *Eksternal Granular Layer* (EGL) otak embrio usia 10 hari kelompok P4 (D). ➡ = sel granular

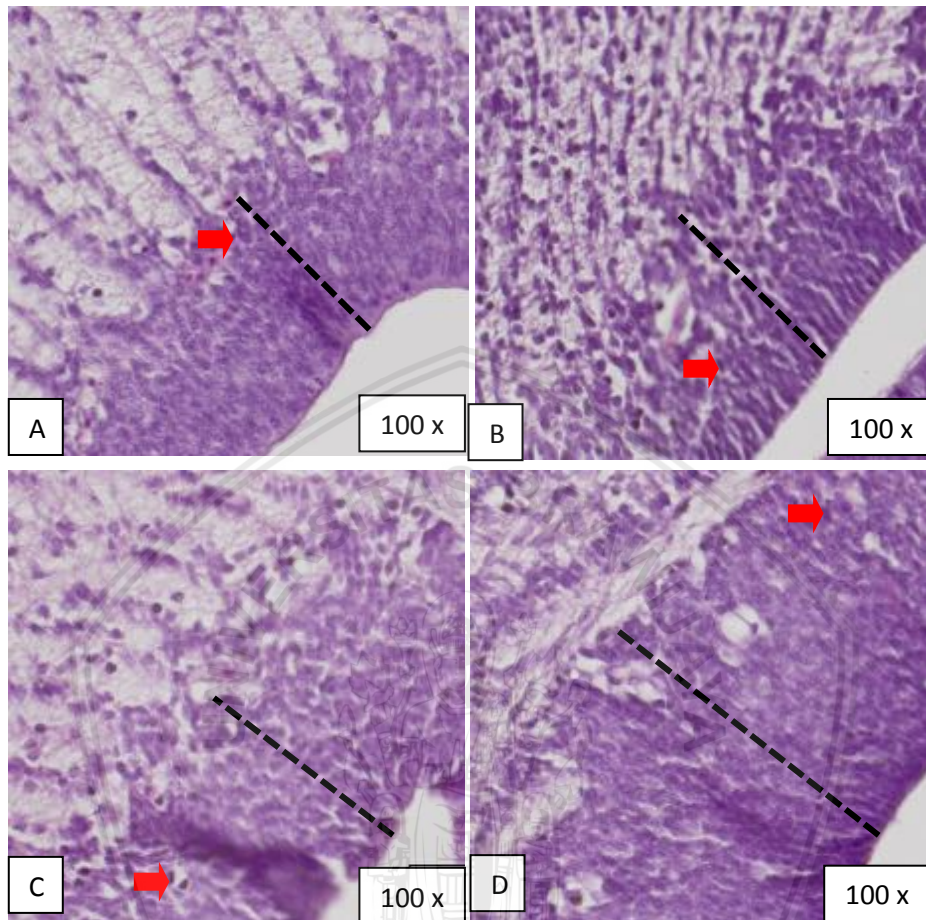
Pada jaringan otak embrio ayam usia 10 hari bagian *Eksternal Granular Layer* (EGL) terlihat adanya perbedaan kerapatan sel granular pada kelompok P1 (pemberian simplisia rimpang kunyit dosis 0,48 mg/gr dan DMSO 2%) dan P2 (pemberian simplisia rimpang kunyit dosis 0,96 mg/gr dan DMSO 2%).

Pada kelompok P1 sel granular tampak lebih renggang namun ketebalan lapisan relatif sama dengan kelompok kontrol negatif dan kontrol positif. Perbedaan signifikan terlihat pada kelompok P2 yang terlihat mengalami penurunan kerapatan sel serta ketebalan jaringan *Eksternal Granular Layer* (EGL)



Gambar 5.2.3 Histologi *marginal layer* otak embrio usia 10 hari kelompok P1 (A).
 Histologi *marginal layer* otak embrio usia 10 hari kelompok P2 (B).
 Histologi *marginal layer* otak embrio usia 10 hari kelompok P3 (C).
 Histologi *marginal layer* otak embrio usia 10 hari kelompok P4 (D).
 ➡ = sel granular

Pada jaringan otak embrio ayam usia 10 hari bagian *marginal layer* menunjukkan hasil serupa dengan bagian EGL. Terlihat adanya penurunan kerapatan yang signifikan pada kelompok P1 dengan ketebalan jaringan yang relatif sama. Penurunan kerapatan juga terdapat pada kelompok P2 yang disertai penurunan ketebalan jaringan *marginal layer*.



Gambar 5.2.4 Histologi *inner cortical layer* otak embrio usia 10 hari kelompok P1 (A).
 Histologi *inner cortical layer* otak embrio usia 10 hari kelompok P2 (B).
 Histologi *inner cortical layer* otak embrio usia 10 hari kelompok P3 (C).
 Histologi *inner cortical layer* otak embrio usia 10 hari kelompok P4 (D).
 ➡ = sel granular

Hal berbeda ditunjukkan pada hasil pengamatan jaringan otak embrio ayam usia 10 hari bagian *inner cortical layer*. Gambaran histologi pada setiap kelompok menunjukkan hasil yang relatif sama dari segi kerapatan dan ketebalan jaringan.

Pada kelompok P1 yakni telur ayam berembrio tanpa perlakuan dan kelompok P2 yakni telur ayam berembrio yang diinjeksi DMSO 2% menunjukkan gambaran histologi otak yang normal. Pada kedua kelompok

perlakuan tersebut tidak ada perbedaan struktur otak dan sel penyusunnya. Hal ini karena DMSO 2% tidak bersifat toksik pada organogenesis embrio dan hanya berperan sebagai pelarut (Zahariah dkk., 2017).

Perbedaan histologis terlihat pada kelompok P3 dan P4. Kelompok P3 menunjukkan adanya penurunan kerapatan granular sel pada setiap lapisan namun memiliki diameter lapisan yang relatif sama terhadap kelompok P1. Perbedaan yang signifikan terlihat pada kelompok P4 yang menunjukkan adanya penurunan kerapatan sel granular disertai pemendekan diameter pada setiap lapisan sel jika dibandingkan dengan kelompok P1.

Perkembangan otak secara embriologis terjadi secara bertahap membentuk lapisan otak. Pada 10 hari masa inkubasi, terbentuk 3 lapisan otak (*external granular layer*, *marginal layer*, dan *internal granular layer*) dan akan berkembang menjadi 6 lapisan (*molecular layer*, *external granular layer*, *external pyramidal layer*, *internal granular layer*, *internal pyramidal layer* dan *multiform layer*) pada akhir masa embrionik (Batah dkk., 2012). Hambatan pada proses pembentukan lapisan otak dapat memicu terjadinya kegagalan pembentukan lapisan otak dan penurunan jumlah sel granular pada setiap lapisan otak.

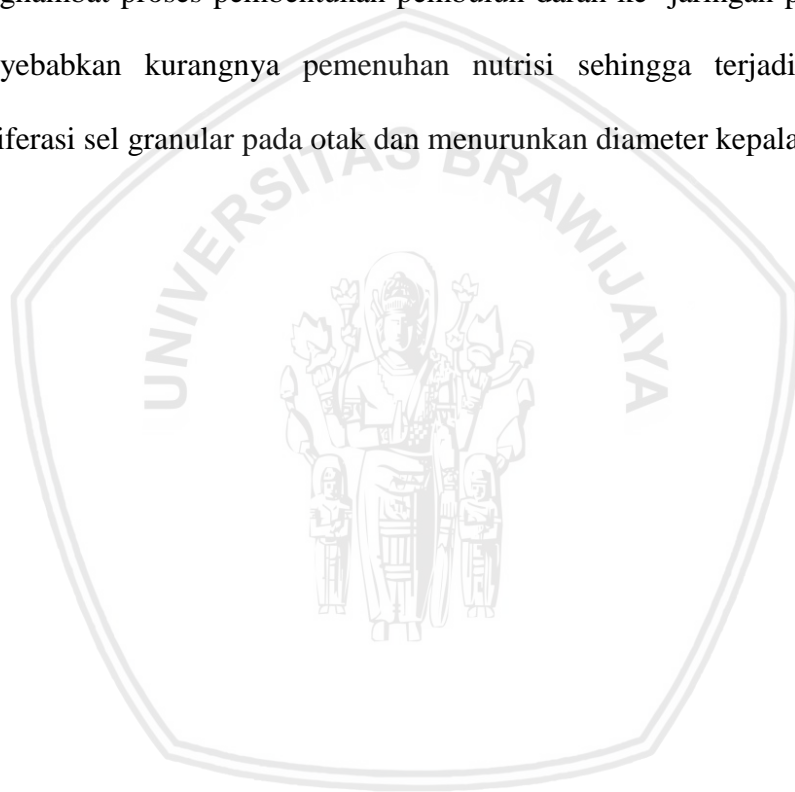
Penurunan kerapatan sel granular dapat disebabkan karena kandungan kurkumin dalam simplisia kunyit. Kandungan curcumin dalam simplisia kunyit diyakini dapat menurunkan laju proliferasi sel. Pada penelitian yang dilakukan oleh Velazquez dkk, (2014) menunjukkan bahwa pemberian dosis rendah ekstrak kurkumin pada hewan coba tikus dapat meningkatkan

proliferasi *Olfactory Ensheathing Cells* (OECs) yang merupakan sel glial pada sistem olfaktori, sedangkan pada pemberian dosis yang lebih tinggi ($\geq 10 \mu\text{M}$) justru menurunkan laju proliferasi sel. Penurunan laju proliferasi sel terjadi karena adanya mekanisme anti-proliferasi pada simplisia kunyit. Hambatan angiogenesis oleh kurkumin pada simplisia kunyit juga menyebabkan hambatan percabangan pembuluh darah ke jaringan perifer sehingga pemenuhan kebutuhan cairan dan nutrisi tidak terpenuhi dan menyebabkan terjadinya nekrosis jaringan.

Penurunan kerapatan sel granular juga dapat disebabkan oleh mekanisme antikanker kandungan kurkumin pada simplisia kunyit. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa mekanisme antikanker kurkumin akan menginduksi apoptosis sel melalui aktivasi c-Jun N-terminal kinase (JNK), caspase-3, poly-(ADP-ribose) polymerase (PARP) dan p21-activated kinase 2 (PAK2) (Chen dkk., 2010). Apoptosis yang terjadi secara berlebihan dapat memicu terjadinya gangguan perkembangan dalam fase embrionik berupa penurunan jumlah sel granular pada lapisan otak.

Berkurangnya jumlah sel granular akan berpengaruh terhadap perkembangan otak embrio ayam. Sel granular merupakan neuron eksitatorik pada korteks serebelum yang terletak di lapisan granular dan memiliki 4-5 lapis dendrit pendek. Sel granular akan menerima impuls eksitatorik dari serabut mossy dan aksornya menuju lapisan molekular dan bersinaps dengan sel purkinje. Berkurangnya jumlah sel granular dapat mengurangi kecepatan transfer neurotransmitter (Irawan, 2015).

Berdasarkan pengamatan hasil penelitian dapat diketahui bahwa simplisia kunyit dapat menghambat proses perkembangan embrio ayam. Hal ini disebabkan karena adanya hambatan proliferasi sel dan adanya mekanisme apoptosis sel oleh bahan aktif yang ada pada simplisia kunyit. Kandungan anti angiogenesis kurkumin dalam simplisia kunyit dapat menghambat proses pembentukan pembuluh darah ke jaringan perifer yang menyebabkan kurangnya pemenuhan nutrisi sehingga terjadi hambatan proliferasi sel granular pada otak dan menurunkan diameter kepala.



BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah disampaikan dapat di ambil kesimpulan bahwa:

1. Pemberian simplisia rimpang kunyit mampu menurunkan proses pertumbuhan diameter kepala pada embrio ayam usia 10 hari dengan dosis 0,96 mg/g berat telur.
2. Pemberian simplisia rimpang kunyit mampu menurunkan organogenesis pada otak embrio ayam usia 10 hari dengan dosis 0,96 mg/g berat telur berdasarkan penurunan jumlah sel granular.

6.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka saran yang dapat diberikan yaitu:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap rute pemberian simplisia kunyit melalui rute yolk sac, korioalantois dan alantois.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjut mengenai efek pemberian simplisia kunyit terhadap embrio hewan lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, A., Syahrul, R., dan Isharyah, S. 2012. Penilaian Respon Kemoterapi Kombinasi Paklitaksel-Karboplatin berdasarkan Kadar *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) Serum pada kanker Ovarium Epitelial. Bagian Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran. Universitas Hasanudin. Makasar.
- Batah A. L., Mustafa Saddam Ghaje, dan Nuthum Aziz Sh. 2012. *Anatomical and Histological study for the Brain of the locally breed chicken (Gallus domesticus)*. *J.Thi-Qar Sci. Vol.3 (3)*
- Bhandarkar SS, and Arbiser JL. 2007. Curcumin as an Inhibitory of Angiogenesis. *Adv Exp Med Biol*, 595: 185-95.
- Carlson, B. M. 2014. *Human Embryology and Developmental Biology 5th Edition*. Sanders Elsevier. Philadelphia
- Chamidah, Atien Nur. 2009. *Deteksi Dini Gangguan Pertumbuhan dan Perkembangan Anak*. *Jurnal Pendidikan Khusus Vol.5 no.2 (89)*
- Chen Chia-Chi, Ming-Shu Hsieh, Yan-Der Hsuuw, Fu-Jen Huang, and Wen-Hsiung Chan. 2010. *Hazardous Effects of Curcumin on Mouse Embryonic Development through a Mitochondria-Dependent Apoptotic Signaling Pathway*. *Int. J. Mol. Sci. 2010, 11, 2839-2855*
- Crivellato, E. 2011. Role of Angiogenic Growth Factor in Organogenesis. *Int. J. Dev. Biol. 55: 365-375*
- Ferguson, J., Kelley R. W., and Patterson C. 2005. Mechanism of Endothelial Differentiation in Embryonic Vasculogenesis. *J. Atheroscler Thromb Vasc Biol. 25: 2246-2254*
- Frisca, Sardjono C. T., dan Sandra F. 2009. Angiogenesis: Patofisiologi dan Aplikasi. *J. Kes Mas. 8(2): 174-187*
- Ganong, W. F, 2003. *Fisiologi Saraf & Sel Otot*. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi 20. Jakarta: EGC.
- Hartati, S.Y., Balitro. 2013. Khasiat Kunyit Sebagai Obat Tradisional dan Manfaat Lainnya. *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri. Jurnal Puslitbang Perkebunan. 19 : 5 - 9.*

- Ihvaricci, A., I. Cahyo., dan U. Budiono. 2014. Perbedaan Kadar *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) Serum pada Pemberian Ketorolak dengan Deksketoprofen Sebagai Analgesia Pasca Bedah pada Penyembuhan Luka. *Journal Anestesiologi Indonesia*. 6(2): 138-145.
- Irawan, Vidya, DVM, M.Sc. 2015. Proliferasi dan Plastisitas Neuronal. DOI: 10.13140/RG.2.1.4688.4962
- Kencana G. A. Y., I. Y. Suartha., A. Nurhandayani., M. Ramadhan. 2014. Kepekaan Telur *Specific Pathogen Free* dan *Clean Egg* Terhadap Virus Flu Burung. *Jurnal Veteriner* ISSN: 1411-8327 Vol. 15 No. 1: 87-93
- Kusumaningrum, E., I. D. Rahayu., dan A. Puryatni. 2015. Efek Supresi urcumin pada Organogenesis dan Morfogenesis Embrio Ayam Umur 48 Jam. *Majalah Kesehatan FKUB* Volume 2, Nomer 4.
- Meiyanto, E. 1999. Kurkumin Sebagai Obat Kanker: Menelusuri Mekanisme Aksi. *Majalah Farmasi Indonesia* 10 (4): 224-236.
- Murtini, S., Murwani R., Satrija F., dan Malole M. 2006. Penetapan Rute dan Dosis Inokulasi pada Telur Ayam Berembrio Sebagai Media Uji Khasiat Ekstrak Benalu Teh (*Scurrula oortiana*). *JITV*. 11(2): 137-143
- Noble, F., Moyon, D., Pardanaud, L., Yuan, L., Djonov, V., Matthijsen, R., Breant, C., Fleury, V. and Eichmann, A. (2004). Flow regulates arterial-venous differentiation in the chick embryo yolk sac. *Development* 131, 361-375.
- Patten, B. M. 2012. *The Early Embryology of the Chick*. Philadelphia: P. Blakiston's Son and Co.
- Prior, R. 2003. Fruits and vegetables in The Prevention of Celluler Oxidative Damage. *Arkansas. Am. J. Clin. Nutr.* Vol.78: 570S-8S.
- Purves D., Augustine G.J., dan Fitzpatrick D., 2001. *Glutamate Receptors*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10802/> diakses tanggal 24 Mei 2019.
- Ribatti, Deomenico. 2010. The Chick Embryo Chorioallantoic Membrane as an In Vivo Assay to Study Antiangiogenesis. Review. *J. Pharma*, 3: 482-513
- Rosenstein J. M., J. M. Krum., and C. Ruhrberg. 2010. VEGF in the Nervous System. *Organogenesis* 6(2): 107-114
- Sadler, T.W. 2009. *Langman's Embriologi Kedokteran*. Andita Novrianti (editor), 2016. *Langman's Medical Embryology*. Ed 10. EGC. Jakarta: 212-222

- Suarez C. S., Otero R.S., Sellero I.S., dan Alvarez E.M. 2011. *Antioxidant Properties of Dimethyl Sulfoxide and its Viability as a Solvent in the Evaluation of Neuroprotective Antioxidants*. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. 63: (209–215).
- Syahrum, M. H; Kamaluddin dan A. Djokronegoro. 1994. *Reproduksi dan Embriologi dari Satu Sel menjadi Organisme*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- The Angiogenesis Foundation. 2015. Angiogenesis. <http://www.angio.org/learn/angiogenesis/> diunduh tanggal 2 jan 2018.
- Tung, J.J., Tattersal, I.w., and Kitajewski, J. 2012. Tips, Stalks, Tubes: Notch-Mediated Cell Fate Determination and Mechanism of Tubulogenesis During Angiogenesis. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 4
- Velasquez, J.F.A., and D'amore, P.A. 2014. *Vasculogenesis and Angiogenesis Cellular and Molecular Pathology of Cardiovascular Disease*. Elsevier. USA: 181-196
- Winarto, W.P. 2005. *Khasiat dan Manfaat Kunyit*. Jakarta: Agromedia Pustaka
- Zahariah, S., Sri W., Siti C.W.B., Bambang R., dan Umi K. 2012. *The Effect of Turmeric Decoction to the Angiogenic Molecules on Chicken Embryo*. *The Journal of Tropical Life Science*.. 7(2)