

PERKEMBANGAN AWAL SYSTEMA NERVOSUM CENTRALE EMBRYO GALLUS SETELAH PEMBERIAN INSEKTISIDA FURADAN 3G

*Early Development of the Central Nervous System of the Chick
Embryo after Furadan 3G Injection in the Yolk Sac*

Siti Akbari¹ dan Soedjono Aswin²

Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
Fakultas Pasca Sarjana Universitas Gadjah Mada

ABSTRACT

In the effort to obtain the profile of teratogenic effects of the insecticide Furadan 3G on the central nervous system of the embryo, the influence of insecticide Furadan 3G on the early development of the central nervous system of the chick embryo was investigated by injecting Furadan 3G into the yolk sac on the first day incubated egg. Three different concentrations of a single dose of Furadan 3G, i.e, 11 mg, 5.5 mg and 2.75 mg/egg were used and the early development of the central nervous system was observed stereomicroscopically by observing the closing of the brain primary vesicles, the 5-vesicle stage of the brain development and the formation of the flexures.

The results of the experiment showed that the treatment of three different doses of Furadan 3G caused inhibition of the closure of the neural tube and the formation of the 5-vesicles of the brain of the chick embryo.

Keyword : insecticide -- Furadan 3G -- teratogenicity -- central nervous system

PENGANTAR

Latar Belakang

Mengingat semakin meluasnya penggunaan insektisida untuk keperluan pertanian, manusia terpaksa harus menghadapi kenyataan bahwa di samping efek positif penggunaan insektisida maka efek negatifnya juga tidak dapat dihindarkan. Tiga kelompok kimia utama insektisida adalah kelompok: organochlorin, organophosphat dan carbamat.

Seperti telah diketahui Furadan 3G merupakan insektisida kelompok carbamat, yang sekarang banyak digunakan oleh para petani karena mem-

1 > *Laboratorium Anatomi, Embriologi & Antropologi Fakultas Kedokteran UGM*

2 > *Laboratorium Anatomi, Embriologi & Antropologi Fakultas Kedokteran UGM*

punyai efek toksis yang lebih rendah bila dibandingkan dengan organochlorin dan organophosphat. Meskipun insektisida Furadan 3G berguna untuk membunuh hama penyakit tanaman pangan, tetapi juga tetap merupakan racun bagi kesehatan, kehidupan, dan kelestarian lingkungan.

Pestisida pada umumnya akan merusak membran sel dan mempengaruhi ATP-ase serta menghambat sintesis protein (Howland, 1975). Di sini tidak disebutkan apakah carbamat juga mempunyai sifat-sifat tersebut.

Ibu-ibu banyak ikut bekerja di tempat-tempat pemberantasan hama tanaman, misalnya di sawah yang sudah terkena insektisida. Dengan demikian ada kemungkinan ibu hamil terkena efek insektisida yang mungkin akan mempengaruhi keadaan embryo. Laporan mengenai pengaruh insektisida Furadan 3G yang mengandung methylcarbamate terhadap embryo, belum penulis jumpai.

Pemilihan *systema nervosum centrale* yang diamati pada penelitian ini karena *systema nervosum centrale* merupakan sistem yang berkembang paling awal dan paling lama dalam periode embryonal serta kelihatan paling jelas efeknya terhadap teratogen. Stadium awal perkembangan *systema nervosum centrale* paling peka terhadap bahan teratogenik (Tuchmann-Duplessis, 1975). Belum ada laporan mengenai efek teratogenik Furadan 3G terhadap *systema nervosum centrale*.

Pada penelitian ini dipilih embryo Gallus sebagai binatang penelitian karena binatang tersebut lazim digunakan pada penelitian-penelitian teratologis dan embryologis karena pelaksanaannya relatif mudah dan cepat, serta mengingat proses pembentukan tubus neuralis pada Aves dan Mammalia sama sehingga penggunaan Gallus pada penelitian ini kiranya cukup memadai.

Methylcarbamate dapat menghambat aktivitas kerja kynurenin formamidase (KF-ase). KF-ase merupakan salah satu enzim yang terletak pada jalur metabolisme tryptophan menjadi asam nikotinat (West & Todd, 1961, *cit. Djuhandha*, 1984). Asam nikotinat atau amidanya, nikotinamide, diperlukan untuk pertumbuhan makhluk hidup (Mazur & Harrow, 1971, *cit. Djuhandha*, 1984). Jadi di sini ada hambatan terhadap kerja KF-ase, yang berarti pula adanya penghambatan terhadap pembuatan asam nikotinat dari tryptophan, sedangkan KF-ase penting untuk mengkatalisasi pembuatan NAD (nikotinamid adenin dinukleotide) dalam tubuh embryo. NAD merupakan koenzim penting untuk reaksi oksidasi-reduksi dalam metabolisme selular. Dengan terhambatnya aktivitas kerja KF-ase oleh perlakuan larutan carbaril tersebut, kadar NAD di dalam tubuh embryo berkurang dan berkurang juga kegiatan metabolisme selular, dan dengan demikian pertumbuhan embryo terhambat (Djuhandha, 1984).

Berdasarkan hal-hal tersebut di atas maka dalam penelitian ini ingin diselidiki bagaimana pengaruh insektisida Furadan 3G terhadap perkembangan morfologi awal *systema nervosum centrale* embryo Gallus.

Tinjauan Teori

Furadan 3G, yang mempunyai bahan aktif carbofuran, adalah pestisida sistemik golongan carbamate; berbentuk granula yang berwarna ungu dan

memiliki daya peracunan; di samping berfungsi sebagai insektisida juga sebagai nematosida.

Mengenai perkembangan awal systema nervosum centrale Gallus dapat diuraikan secara terinci sebagai berikut. Menurut Arey (1975) pada embryo Gallus umur inkubasi 19 jam terjadi pembentukan awal sulcus neuralis dan somiti. Pada umur inkubasi antara 19-21 jam terbentuk lamina neuralis. Pada embryo dengan umur inkubasi 21 jam terbentuk plica neuralis dan sulcus neuralis yang nyata. Pada umur inkubasi 22-23 jam terjadi tubus neuralis.

Pada embryo umur inkubasi 25 jam dua pertiga bagian cranial embryo menutup menjadi tubus neuralis dan melepaskan diri dari ectoderma, bagian lainnya belum menutup. Ujung cranial tubus neuralis melebar terlebih dahulu, baru kemudian diikuti perkembangan bagian prosencephalon dengan tonjolan vesicula optica. Pada embryo umur inkubasi 38 jam tubus neuralis membentuk 3 vesicula, yaitu prosencephalon, mesencephalon dan rhombencephalon.

Pada umur inkubasi 2 hari pada bagian otak terlihat adanya 5 vesicula, yang pembagiannya belum nyata. Prosencephalon terbagi menjadi telencephalon dan diencephalon. Pada mesencephalon bagian tengah terbentuk flexura cephalica, dan rhombencephalon terbagi menjadi bagian-bagian yang tidak begitu nyata. Bagian yang berhubungan dengan mesencephalon menjadi metencephalon, sisanya dengan atap tipis menjadi myelencephalon. Medulla spinalis kemudian menutup sampai ujung caudalnya.

Pada embryo umur 3 hari terlihat telencephalon, jelas pemisahannya dari diencephalon. Telencephalon membesar dan kemudian menjadi hemispherium cerebri. Bagian dorsal diencephalon mempunyai tonjolan di dorsal sebagai epiphysis cerebri. Mesencephalon jelas terpisah dari rhombencephalon. Antara ujung caudal otak dengan medullaspinalis terbentuk flexura cervicalis.

Pada embryo umur inkubasi 4 hari terlihat hemispherium cerebri menonjol dengan nyata, dan mesencephalon membengkak. Mulai umur inkubasi 7 hari susunan systema nervosum centrale secara garis besar sesuai dengan pada dewasa.

CARA PENELITIAN

Bahan terdiri atas 375 butir telur fertil Gallus-gallus bankivus (Ayam ras). Telur-telur tersebut dibagi menjadi 3 kelompok besar secara random: Kelompok perlakuan insektisida Furadan 3G (n: 149), kelompok kontrol dengan akuades steril (bahan pelarut insektisida Furadan 3G) (n: 64), dan kelompok kontrol tanpa disuntik sesuatu bahan (n: 62).

Dosis tertinggi (Furadan 3G III) yang dipakai diperhitungkan berdasar berat badan disesuaikan dengan LD 50 Furadan 3G pada Rattus (11 mg/berat badan). Kemudian dosis tengah (Furadan 3G II) adalah separoh dosis tertinggi = 5,5 mg/kg berat badan dan dosis terkecil (Furadan 3G I) separoh dari dosis tengah = 2,75 mg/kg berat badan. Telur-telur ditimbang, dicatat berat telur rata-rata, untuk penentuan dosis. Dibuat larutan Furadan 3G dalam akuades steril sesuai dengan dosis-dosis yang dibutuhkan untuk satu telur. Telur-telur diinkubasi pada suhu 37 C. Pada inkubasi hari ke-1 pada cangkoknya dibuat

jendela bulat dengan diameter 2 cm (berdasar modifikasi cara Hartman) untuk melihat embryonya apakah hidup atau mati. Kemudian lubang ditutup kembali dengan selotip, lalu dikembalikan pada inkubasi dengan suhu 37 C.

Larutan bahan insektisida Furadan 3G atau akuades steril disuntikkan sedemikian sehingga tidak sampai mengenai embryonya melalui sebuah lubang yang telah dibuat. Setelah itu lubang tersebut ditutup kembali dengan selotip dan diinkubasi kembali. Pada kelompok kontrol hanya dibuat jendela tanpa disuntikkan sesuatu bahan.

Untuk kelompok penyuntikan pada inkubasi hari ke-1, telur dibuka pada hari inkubasi ke-2, ke-3 dan ke-4. Semua embryo diamati secara makroskopik, embryo yang mati dicatat. Yang masih hidup diamati dengan dissecting microscope mengenai penutupan neuroporus, penutupan tubus neuralis, pembentukan 3 vesicula pada otak, pembentukan 5 vesicula pada otak, pembentukan flexura.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini ternyata bahwa pemberian insektisida Furadan 3G yang disuntikkan pada telur Gallus yang fertil pada hari inkubasi ke-1 tidak mempengaruhi penutupan neuroporus, pembentukan 3-vesicula otak, serta pembentukan flexura cephalica dan flexura cervicalis, tetapi mempengaruhi penutupan tubus neuralis, serta pembentukan 5 vesicula otak. Jumlah embryo yang mengalami malformasi berupa belum menutupnya tubus neuralis dan belum terbentuknya 5 vesicula dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1: Jumlah embryo (%) yang mempunyai tubus neuralis belum menutup pada pengamatan hari inkubasi ke-2, ke-3 dan ke-4

| KELOMPOK SUBJEK PENELITIAN | Hari inkubasi | | | | | |
|-------------------------------|---------------|------|----|------|----|------|
| | 2 | | 3 | | 4 | |
| | n | % | n | % | n | % |
| Kontrol | 21 | 0 | 21 | 0 | 22 | 0 |
| Perlakuan akuades | 20 | 0 | 21 | 0 | 21 | 0 |
| Perlakuan Furadan 3G I | 18 | 50 | 18 | 44,4 | 17 | 41,2 |
| Perlakuan Furadan 3G II | 17 | 58,8 | 16 | 68,7 | 16 | 75 |
| Perlakuan Furadan 3G III | 17 | 70,6 | 15 | 80 | 15 | 93,3 |

(n : jumlah embryo semula untuk setiap kelompok)

Pada kelompok kontrol dan kelompok akuades tubus neuralis sudah menutup pada hari inkubasi ke-2, ke-3, dan ke-4. Jumlah embryo yang mempunyai tubus neuralis belum menutup semakin besar dengan bertambah besarnya dosis perlakuan Furadan 3G, yaitu pada pengamatan hari inkubasi ke-2

sebesar 70,6 persen, kemudian pada pengamatan hari inkubasi ke-3 sebesar 80 persen, dan pengamatan hari inkubasi ke-4 sebesar 93,3 persen.

Jumlah embryo yang mempunyai tubus neuralis belum menutup pada perlakuan Furadan 3G I berkurang dengan bertambahnya umur inkubasi, sedangkan dengan perlakuan Furadan 3G II semakin besar jumlahnya dengan semakin bertambahnya umur inkubasi, yaitu pada pengamatan hari inkubasi ke-2 sebesar 58,8 persen, kemudian pada hari inkubasi ke-3 sebesar 68,7 persen, dan pada hari inkubasi ke-4 sebesar 75 persen. Pada perlakuan Furadan 3G III jumlah embryo yang mempunyai tubus neuralis belum menutup semakin besar dengan bertambahnya umur inkubasi, yaitu pada pengamatan hari inkubasi ke-2 sebesar 70,6 persen, kemudian pada hari inkubasi ke-3 sebesar 80 persen, dan pada hari inkubasi ke-4 sebesar 93,3 persen. Tubus neuralis yang belum menutup pada pengamatan hari inkubasi ke-2 berbentuk seperti segi empat layang-layang, sementara pada pengamatan hari inkubasi ke-3 bagian tubus neuralis yang belum menutup berbentuk seperti segi empat yang ke arah posterior semakin meruncing, dan pada pengamatan hari inkubasi ke-4 bagian tubus neuralis yang belum menutup berbentuk segi tiga.

Berdasarkan analisis dengan *chi-square test* baik pada pengamatan hari inkubasi ke-2, ke-3 maupun ke-4 perbandingan jumlah embryo yang mengalami malformasi berupa belum menutupnya tubus neuralis antara kontrol, akuades dan 3 macam perlakuan Furadan 3G didapatkan $P < 0,01$ yang berarti ada perbedaan sangat bermakna, sehingga dapat dikatakan bahwa perlakuan Furadan 3G menyebabkan malformasi embryo Gallus berupa belum menutupnya tubus neuralis. Pada perlakuan dengan 3 macam dosis Furadan 3G didapatkan $P < 0,01$ atau ada perbedaan sangat bermakna, yang berarti bahwa perlakuan Furadan 3G dengan dosis yang berbeda menimbulkan malformasi berupa belum menutupnya tubus neuralis.

Tabel 2: Jumlah embryo (%) yang belum membentuk 5 vesicula pada pengamatan hari inkubasi ke-2, ke-3 dan ke-4

| KELOMPOK SUBJEK PENELITIAN | Hari inkubasi | | | | | |
|-------------------------------|---------------|------|----|------|----|------|
| | 2 | | 3 | | 4 | |
| | n | % | n | % | n | % |
| Kontrol | 21 | 0 | 21 | 0 | 22 | 0 |
| Perlakuan akuades | 20 | 0 | 21 | 0 | 21 | 0 |
| Perlakuan Furadan 3G I | 18 | 44,4 | 18 | 44,4 | 17 | 35,3 |
| Perlakuan Furadan 3G II | 17 | 53 | 16 | 68,7 | 16 | 75 |
| Perlakuan Furadan 3G III | 17 | 70,6 | 15 | 80 | 15 | 93,3 |

(n = jumlah embryo semula untuk setiap kelompok)

Pada kelompok kontrol dan kelompok akuades semua embryo sudah membentuk 5-vesicula pada hari inkubasi ke-2, ke-3 dan ke-4, sedangkan

setelah diberi perlakuan Furadan 3G pada pengamatan hari inkubasi ke-2, ke-3 dan ke-4 jumlah embryo yang belum membentuk 5-vesicula semakin besar dengan bertambah besarnya dosis perlakuan Furadan 3G, yaitu pada pengamatan hari inkubasi ke-2 sebesar 70,6 persen, kemudian hari pada inkubasi ke-3 sebesar 80 persen dan pada hari inkubasi ke-4 sebesar 93,3 persen.

Jumlah embryo yang belum membentuk 5-vesicula pada perlakuan Furadan 3G I pada hari inkubasi ke-2 dan ke-3 sama besarnya yaitu 44,4 persen, sedangkan dengan bertambahnya umur inkubasi jumlahnya menjadi berkurang, yaitu 35,3 persen. Pada perlakuan Furadan 3G III jumlahnya semakin besar dengan bertambahnya umur inkubasi yaitu pada pengamatan hari inkubasi ke-2 sebesar 53 persen dan 70,6 persen, kemudian pada hari inkubasi ke-3 sebesar 68,7 persen dan 80 persen, sedangkan pada pengamatan hari inkubasi ke-4 sebesar 75 persen dan 93,3 persen.

Berdasarkan analisis chi-square test baik pada pengamatan hari inkubasi ke-2, ke-3 maupun ke-4 perbandingan jumlah embryo yang mengalami malformasi berupa belum terbentuknya 5 vesicula antara kontrol, akuades dan 3 macam perlakuan Furadan 3G didapatkan $P < 0,01$ yang berarti ada perbedaan sangat bermakna, sehingga dapat dikatakan bahwa perlakuan Furadan 3G menyebabkan malformasi berupa belum terbentuknya 5 vesicula. Pada perlakuan dengan 3 macam dosis Furadan 3G didapatkan perbedaan sangat bermakna ($P < 0,01$) yang berarti bahwa perlakuan Furadan 3G dengan dosis yang berbeda menimbulkan malformasi berupa belum terbentuknya 5 vesicula.

Perlakuan insektisida Furadan 3G ternyata tidak mempengaruhi penutupan neuroporus, pembentukan 3-vesicula dan pembentukan flexura. Penutupan tubus neuralis seharusnya sudah terjadi sebelum hari inkubasi ke-2 yaitu pada pengamatan umur inkubasi 25 jam (Arey, 1954). Setelah embryo tersebut diberi perlakuan insektisida Furadan 3G pada hari inkubasi ke-1 ternyata terjadi malformasi berupa belum menutupnya tubus neuralis di daerah rhombencephalon pada pengamatan hari inkubasi ke-2, ke-3 dan ke-4.

Penutupan tubus neuralis dalam perkembangan embryonal terjadi karena adanya proliferasi sel-sel di sepanjang canalis neuralis sehingga dihasilkan fusi plica neuralis kanan kiri. Karena adanya perlakuan insektisida Furadan 3G diduga terjadi gangguan proliferasi sel-sel di bagian canalis neuralis di daerah rhombencephalon sehingga terjadi fusi yang tidak sempurna. Malformasi ini banyak terjadi pada pemberian perlakuan dosis 11 mg yang merupakan dosis tertinggi. Dengan perlakuan dosis tinggi pada individu terdapat respon yang lebih nyata terhadap pemberian insektisida Furadan 3G.

Malformasi yang terjadi berupa belum menutupnya tubus neuralis antara kontrol, akuades dan 3 macam perlakuan Furadan 3G ternyata ada perbedaan sangat bermakna baik pengamatan pada hari inkubasi ke-2 maupun hari ke-3 dan ke-4. Ini berarti bahwa perlakuan Furadan 3G menyebabkan terjadinya malformasi embryo Gallus. Perbandingan pada embryo perlakuan berdasarkan variasi dosis pada pengamatan hari inkubasi ke-2, ke-3 dan ke-4 terhadap terjadinya malformasi tubus neuralis ternyata ada perbedaan sangat bermakna. Ini berarti bahwa perlakuan dengan dosis yang berbeda menyebabkan malformasi embryo Gallus.

Terbentuknya 5-vesicula sudah terlihat pada kelompok kontrol dan akuades pengamatan hari inkubasi ke-2, ke-3 dan ke-4, akan tetapi pada 3 macam perlakuan Furadan 3G ada beberapa embryo yang mengalami malformasi berupa belum terbentuk atau terhambatnya pembentukan 5 vesicula. Belum terbentuknya 5 vesicula ini karena belum adanya pembagian prosencephalon menjadi 2 bagian yaitu telencephalon dan diencephalon. Hal ini mungkin karena insektisida Furadan 3G mengganggu lobulasi primordium yang mendasari pembentukan vesicula pada tingkat 5 vesicula (3 hari umur embryo). Gangguan pembentukan protein-protein dapat menyebabkan gangguan lobulasi dan percabangan pada primordia embryonal (Bernfield, 1978).

Hasil analisis statistik terhadap terjadinya malformasi berupa belum terbentuknya 5 vesicula antara kelompok kontrol, perlakuan akuades dan perlakuan 3 macam dosis Furadan 3G pengamatan hari inkubasi ke-2, ke-3 dan ke-4 menunjukkan perbedaan sangat bermakna. Ini berarti perlakuan Furadan 3G menyebabkan malformasi berupa belum terbentuknya 5 vesicula. Pada embryo antar perlakuan berdasarkan variasi dosis ada perbedaan sangat bermakna. Jadi perlakuan dengan dosis yang berbeda menyebabkan malformasi pada embryo Gallus.

Ternyata pada penelitian ini setelah embryo diberi perlakuan Furadan 3G dengan variasi 3 macam dosis tunggal yang disuntikkan pada hari inkubasi ke-1, yang diamati pada hari inkubasi ke-2 sampai ke-4, tidak menimbulkan pengaruh terhadap penutupan neuroporus anterior dan posterior, pembentukan 3 vesicula serta pembentukan flexura cephalica dan flexura cervicalis. Akan tetapi Furadan 3G ternyata menyebabkan embryo mengalami malformasi, yaitu berupa terbukanya tubus neuralis dan belum terbentuknya 5 vesicula. Penulis berpendapat bahwa perkembangan awal *systema nervosum centrale* embryo Gallus yang terkena insektisida Furadan 3G mengalami gangguan dengan dihasilkannya malformasi pada tubus neuralis dan pembentukan 5 vesicula, karena keduanya merupakan bagian dari *systema nervosum centrale* dan juga kelihatan paling jelas efeknya terhadap bahan teratogenik (Tuchmann-Duplessis, 1975). Dengan demikian dapat diambil kesimpulan bahwa pada Gallus pemberian Furadan 3G pada umur inkubasi hari ke-1 akan menghambat atau mengganggu perkembangan awal *systema nervosum centrale* embryo.

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil penelitian yang menunjukkan bahwa insektisida Furadan 3G dengan dosis-dosis 2,75 mg, 5,5 mg dan 11 mg yang diberikan secara langsung dengan disuntikkan ke dalam telur menimbulkan malformasi berupa hambatan penutupan tubus neuralis dan hambatan pembentukan 5-vesicula, dapat diambil kesimpulan bahwa Furadan 3G yang diberikan pada telur secara penyuntikan menghambat perkembangan awal *systema nervosum centrale* embryo Gallus.

Meskipun hasil-hasil penelitian ini tidak dapat secara langsung diekstrapolasikan kepada manusia namun untuk mencegah kemungkinan tim-

bulnya kelainan pada embryo, maka disarankan : agar sedapat mungkin ibu-ibu hamil yang kuat bekerja di sawah dihindarkan dari persawahan atau tempat-tempat pemberantasan hama yang sudah terkena insektisida.

DAFTAR PUSTAKA

- Arey, L. B. 1954, *Development Anatomy. A textbook and Laboratory Manual of Embryology*, 6th edit W.B. Saunders Co., Philadelphia and London.
- Bernfield, M. R. 1978, The cell periphery in morphogenesis, dalam J. Littlefield & J. de Grouchy (eds): *Birth Defects*, pp.111-25, Excerta Medica, Amsterdam.
- Djuhanda, T. 1984, *Perkembangan Rangka Sayap dan Tungkai Embrio Ayam (Gallus gallus gallus L) setelah Diadakan Perlakuan dengan Insektisida Karbaril*, Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Howland, J.L. 1975, *Environmental Cell Biology*, W.A. Benjamin, Inc. Menlo Park, California.
- Tuchmann-Duplessis, H. 1975, *Drugs effects on the fetus*, Adis Press., New York.