

PENGARUH SENG SULFAT TERHADAP PERKEMBANGAN TULANG FEMUR EMBRIO AYAM (*Gallus gallus*) GALUR TEGEL TM 70[#]

Oleh: Aceng Ruyani[†], Sri Sudarwati^{**}, Lien A. Sutasurya^{**}

SARI

Telah dilakukan penelitian tentang pengaruh kelebihan seng sulfat terhadap perkembangan tulang femur embrio ayam (*Gallus gallus*) galur Tegel TM 70. ZnSO₄ dengan dosis 0,2 mg, 0,4 mg dan 0,9 mg per telur, diinjeksikan secara tunggal melalui kantung yolk pada hari ke-2, ke-4 dan ke-6 inkubasi. Keadaan embrio diamati pada hari ke-13 inkubasi. Perlakuan dengan 0,2 mg ZnSO₄ pada hari ke-2 inkubasi cenderung meningkatkan panjang dan luas tulang femur, namun dosis 0,9 mg nyata menurunkannya ($p < 0,05$ dan $p < 0,01$). ZnSO₄ lebih berpengaruh terhadap luas penampang bagian yang menulang daripada terhadap panjang bagian yang menulang. Disimpulkan bahwa seng dalam konsentrasi tertentu dibutuhkan untuk perkembangan optimal tulang femur, sedangkan kelebihan seng lebih berpengaruh dalam menghambat aktivitas osteogenik periosteum daripada aktivitas lempeng epifisis.

ABSTRACT

The effect of excess zinc sulphate (ZnSO₄) on the development of the femur in the Tegel TM 70 chick embryo (*Gallus gallus*) has been investigated by injecting the substance into the yolk sac of 2, 4 and 6 days incubated eggs. Three kinds of a single dose of ZnSO₄ 0.2 mg, 0.5 mg and 0.9 mg per egg were used. The embryos were examined on day 13 of incubation. Treatment with 0.2 mg ZnSO₄ on day 2 incubation inclined to increase the width and length of the femur. Conversely, the dose of 0.9 mg significantly decreased the width and length of the femur ($p < 0.05$ and $p < 0.01$). ZnSO₄ exerts its influence on the width of ossified parts of the femur, rather than on the length. It can be concluded that a certain concentration of zinc was necessary for optimal development of the femur, while zinc in excess influenced more the delay of periosteal osteogenic activity than that of epiphyseal plate osteogenic activity.

[#] Penelitian ini dilaksanakan dalam rangka Program S-2 Biologi Institut Teknologi Bandung, dibiayai melalui TMPD

• Jurusan Pendidikan Biologi, FKIP, Universitas Bengkulu

** Laboratorium Biologi Perkembangan Hewan, Institut Teknologi Bandung

PENDAHULUAN

Seng (Zn) sudah dikenal sebagai unsur esensial bagi tumbuhan maupun hewan. Unsur ini berperan pada berbagai proses dalam tubuh sebagai metaloenzim. Di antara 20 macam enzim, enzim seperti karbonik anhidrase, alkalik fosfatase dan laktat dehidrogenase tidak bisa berfungsi tanpa adanya seng (Ferm, 1972). Menurut Sandstead dan Evans (1984), lebih dari 70 macam enzim pada berbagai spesies fungsinya tergantung pada seng, bahkan berdasarkan laporan terakhir Vallee dan Auld (1990), sudah bisa diidentifikasi sekitar 300 jenis enzim yang mengandung seng. Hal ini menunjukkan bahwa cukup besar perhatian peneliti untuk mengungkap lebih rinci peranan seng dalam tubuh organisme.

Studi kasus atau eksperimen mengenai pengaruh defisiensi seng telah banyak dilakukan. Pada aves misalnya, kekurangan seng menimbulkan mikromelia, punggung melengkung, badan vertebra toraks serta badan vertebra lumbar yang pendek dan berfusi, juga pengembangan pada otot leher (Tienhoven, 1968). Logam berat, termasuk seng, melimpah jumlahnya di lingkungan (Suprianti dkk., 1983). Oleh karena itu, keracunan seng melalui proses bernapas dan menelan, kemungkinannya akan lebih mudah terjadi. Berg dan Martison (dalam Miller & Neathery, 1981) melaporkan bahwa keracunan seng pada anak ayam dapat menurunkan kadar abu dalam tulang. Penelitian tentang pengaruh keracunan atau kelebihan seng terhadap perkembangan, belum jelas dan masih kurang diteliti dibandingkan dengan efek defisiensi. Atas dasar uraian tersebut, dipandang perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh kelebihan seng terhadap perkembangan embrio ayam.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh kelebihan seng terhadap perkembangan tulang femur embrio ayam jika diinjeksikan ke dalam kantung yolk pada umur inkubasi dua, empat dan enam hari. Hasil penelitian dapat dijadikan pelengkap informasi dalam bidang teratologi dan ekotoksikologi.

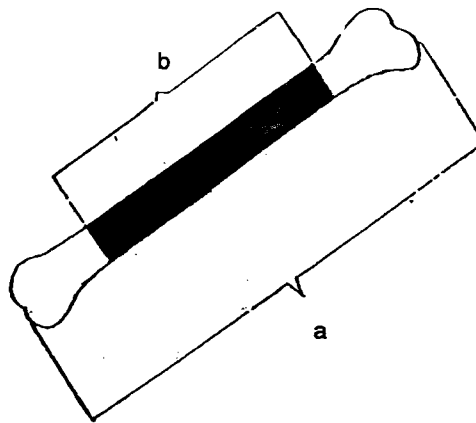
BAHAN DAN TATA KERJA

Telur ayam ras broiler (*Gallus gallus*) galur Tegel Tm 70 diinkubasikan pada suhu 38,5–40,0°C dan kelembapan relatif 55–65%. Penyuntikan dilakukan pada tiga macam umur inkubasi, yaitu hari ke-2, ke-4 dan ke-6. Seng sulfat yang telah dilarutkan dalam akuabidestilata steril diinjeksikan ke dalam kantung yolk dengan dosis 0,2 mg, 0,5 mg dan 0,9 mg serta volume injeksi 0,1 ml per telur. Sebagai pembanding, pada kelompok telur kontrol diinjeksikan pelarut pada umur inkubasi dan volume yang sama.

Setelah telur diinkubasi selama 13 hari, kelompok telur kontrol maupun kelompok telur perlakuan dibuka dan hanya embrio yang hidup yang dijadikan data penelitian. Untuk pengamatan rangka, dilakukan langkah kerja sebagai berikut terhadap embrio. a) Dibuang visceranya dalam NaCl 0,9%. b) Difiksasi dalam alkohol 96% selama satu minggu. c) Diredam dalam KOH 1% sampai jaringan di sekitar tulang transparan. d) Diwarnai dengan Aliz-

arin Red S 0,01% dalam KOH 1% sampai tulang berwarna merah. e) Dicuci dalam KOH 1%. f) Dijernihkan dalam KOH 1%: gliserol = 3:1 selama dua hari. g) Dijernihkan dalam KOH 1%: gliserol = 1:1 selama dua hari. h) Dijernihkan dalam KOH 1%: gliserol = 1:3 selama dua hari. i) Hasil pewarnaan tulang direndam dalam gliserol murni dan siap untuk diamati (modifikasi dari Conn dkk., 1960).

Panjang bagian femur yang menulang. Tulang femur diukur dengan menggunakan kaliper di bawah mikroskop bedah. Panjang tulang ditentukan dengan mengukur jarak di antara epifisis, sedangkan panjang bagian yang menulang adalah bagian diafisis yang terwarnai oleh Alizarin Red S (gambar 1). Indeks panjang bagian yang menulang adalah panjang bagian yang menulang dibagi dengan panjang tulang.

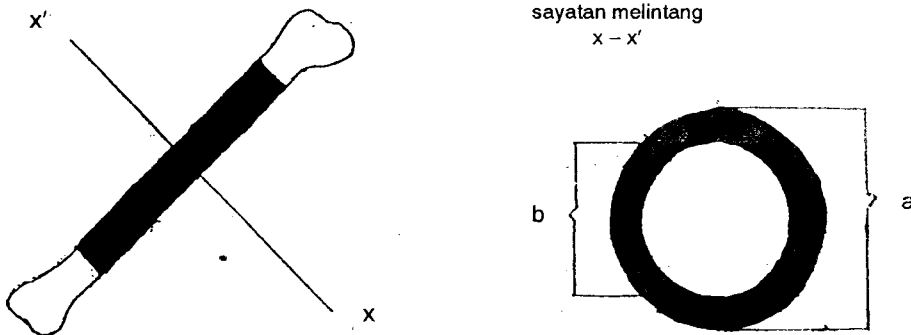


$$\text{Indeks panjang bagian yang menulang} = \frac{\text{Panjang bagian yang menulang (b)}}{\text{Panjang tulang (a)}}$$

Gambar 1 Cara menentukan panjang bagian yang menulang (b), panjang tulang (a) dan indeks panjang bagian yang menulang

Luas penampang bagian femur yang menulang. Dibuat sayatan melintang di bagian tengah diafisis tulang. Penyayatan dilakukan dengan pisau silet di bawah mikroskop bedah. Sayatan melintang tulang diletakkan di atas kaca-objek untuk diukur diameternya dengan menggunakan mikrometer-okuler. Luas penampang tulang didapat setelah diketahui diameter tulang, sedangkan diameter lumen digunakan untuk menentukan luas penampang lumen (gambar 2). Luas penampang bagian yang menulang adalah luas penampang tulang dikurangi luas penampang lumen. Indeks luas penampang bagian yang menulang adalah luas penampang bagian yang menulang dibagi dengan luas penampang tulang.

Hasil pengukuran dianalisis dengan Rancangan Acak Lengkap (*Completely Randomized Design*) yang dilanjutkan dengan uji "LSR" (Steel & Torrie, 1981).



$$\begin{aligned} \text{Luas penampang tulang} &= A = \pi (a/2)^2 \\ \text{Luas penampang lumen} &= B = \pi (b/2)^2 \\ \text{Luas penampang bagian yang menulang} &= C = A - B \\ \text{Indeks luas penampang bagian yang menulang} &= I = C/A \end{aligned}$$

Gambar 2 Cara menentukan luas penampang bagian yang menulang (C), luas penampang tulang (A), luas penampang lumen (B) dan indeks luas penampang bagian yang menulang (I)

HASIL PENGAMATAN

1. Mortalitas embrio

Mortalitas dan hasil pewarnaan tulang dengan Alizarin Red S pada embrio yang hidup sampai hari ke-13 inkubasi disajikan pada tabel 1 dan gambar 3.

Injeksi seng sulfat yang dilaksanakan pada hari ke-2 inkubasi menyebabkan mortalitas embrio meningkat sejalan dengan pertambahan dosis. Perlakuan dengan dosis 0,5 mg dan 0,9 mg seng sulfat per telur mengakibatkan mortalitas embrio berbeda sangat nyata dibandingkan dengan kontrol ($p < 0,01$).

Persentase mortalitas embrio tidak dipengaruhi secara nyata oleh perlakuan seng sulfat pada hari ke-4 inkubasi.

Perlakuan dengan seng sulfat pada hari ke-6 inkubasi tidak berpengaruh nyata terhadap mortalitas embrio.

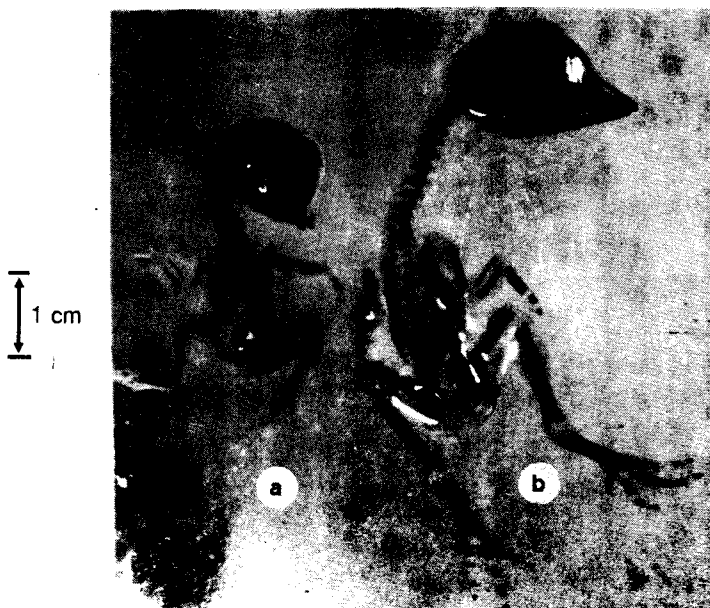
2. Panjang tulang femur

Panjang bagian yang menulang, panjang tulang dan indeks panjang bagian yang menulang tulang femur embrio ayam yang hidup sampai hari ke-13 inkubasi dapat dilihat pada tabel 2 dan gambar 4.

Tabel 1 Pengaruh seng sulfat terhadap mortalitas embrio ayam broiler (Tegel Tm 70) yang diinkubasi sampai hari ke-13.

Umur inkubasi (hari)	Dosis ZnSO ₄ per telur (mg)	Jumlah telur yang dibuahi	Jumlah embrio hidup pada hari ke-13	Jumlah embrio mati sebelum hari ke-13 (%)
2	0,0	22	18	4 (18,2)
	0,2	23	16	7 (30,4)
	0,5	31	11	20 (64,5) **
	0,9	33	5	28 (84,8) **
4	0,0	25	23	2 (8,0)
	0,2	25	20	5 (20,0)
	0,5	25	20	5 (20,0)
	0,9	25	20	5 (20,0)
6	0,0	25	22	3 (12,0)
	0,2	24	20	4 (16,7)
	0,5	23	18	5 (21,7)
	0,9	25	22	3 (12,0)

** : tanda berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) dibandingkan dengan kontrol – uji bebas X^2



Gambar 3 Hasil pewarnaan tulang dengan Alizarin Red S. Embrio ayam kerdil, perlakuan dengan seng sulfat 0,9 mg per telur pada hari ke-2 inkubasi (a). Kontrol (b).

Perlakuan dengan seng sulfat pada hari ke-2 inkubasi menunjukkan bahwa dosis 0,2 mg menyebabkan panjang bagian yang menulang paling panjang, namun tidak berbeda nyata dari kontrol. Perlakuan dengan dosis 0,5 mg tidak berpengaruh nyata terhadap panjang bagian yang menulang. Hanya perlakuan dengan dosis 0,9 mg yang nyata memperpendek panjang bagian yang menulang dibandingkan dengan kontrol ($p < 0,05$). Perlakuan dengan dosis 0,2 mg menambah panjang tulang, namun tidak berbeda nyata dari kontrol. Perlakuan dengan dosis 0,5 mg dan dosis 0,9 mg nyata memperpendek panjang tulang dibandingkan dengan kontrol ($p < 0,05$). Indeks panjang bagian yang menulang tidak dipengaruhi secara nyata oleh perlakuan dengan seng sulfat.

Pengaruh perlakuan dengan seng sulfat pada hari ke-4 inkubasi terhadap panjang bagian yang menulang dan panjang tulang tidak berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol. Perlakuan dengan dosis 0,2 mg dan 0,9 mg nyata menurunkan indeks panjang bagian yang menulang dibandingkan dengan kontrol ($p < 0,05$).

Panjang bagian yang menulang tidak dipengaruhi secara nyata oleh perlakuan dengan seng sulfat pada hari ke-6 inkubasi. Perlakuan dengan seng sulfat 0,2 mg sangat nyata meningkatkan panjang tulang dibandingkan dengan kontrol ($p < 0,01$), sedangkan dengan

Tabel 2 Pengaruh seng sulfat terhadap panjang bagian yang menulang dan panjang tulang femur embrio ayam broiler (Tegel Tm 70) yang hidup pada umur 13 hari inkubasi.

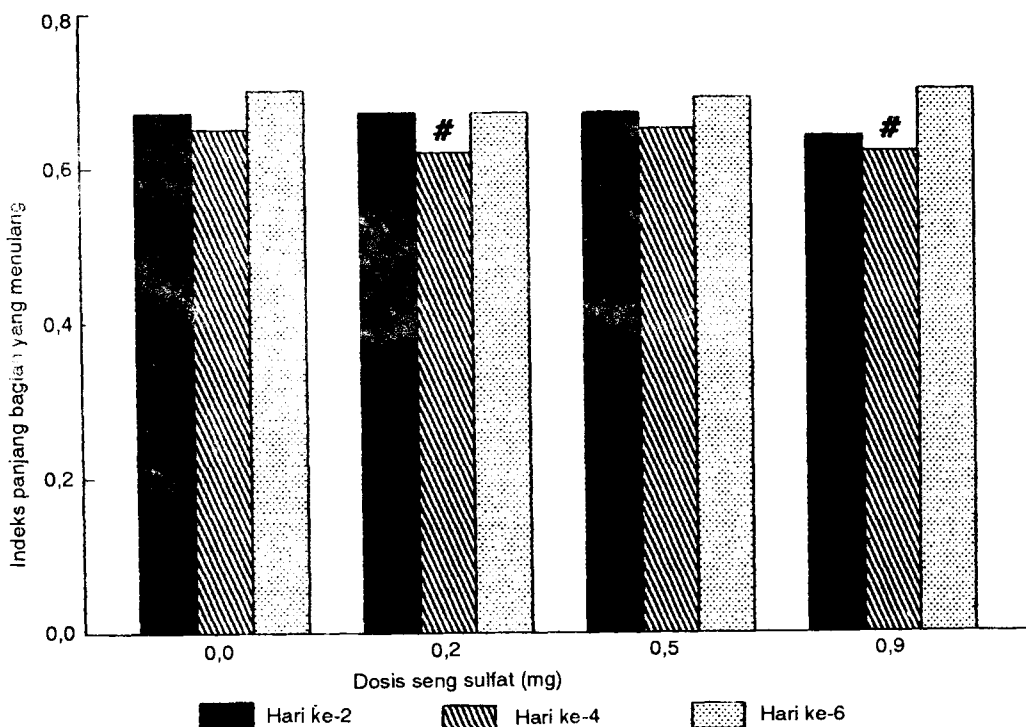
Umur inkubasi (hari)	Dosis ZnSO ₄ per telur (mg)	Jumlah embrio yang diamati	Panjang (mm) @		Indeks @ panjang bagian yang menulang (x/y)
			Bagian yang menulang	Tulang (y)	
2	0,0	18	6,95 ± 0,98 ^{ac}	10,32 ± 1,08 ^a	0,67 ± 0,04 ^a
	0,2	16	7,27 ± 0,23 ^a	10,85 ± 0,54 ^a	0,67 ± 0,03 ^a
	0,5	11	6,44 ± 0,95 ^{bc}	9,63 ± 1,26 ^b #	0,67 ± 0,03 ^a
	0,9	5	6,01 ± 1,43 ^b #	9,39 ± 2,08 ^b #	0,64 ± 0,02 ^a
4	0,0	23	6,22 ± 0,48 ^{ab}	9,59 ± 0,56 ^a	0,65 ± 0,04 ^a
	0,2	20	5,96 ± 0,55 ^b	9,69 ± 0,76 ^a	0,62 ± 0,03 ^b #
	0,5	20	6,43 ± 0,48 ^a	9,96 ± 0,36 ^a	0,65 ± 0,03 ^a
	0,9	20	6,20 ± 0,54 ^{ab}	10,01 ± 0,81 ^a	0,62 ± 0,02 ^b #
6	0,0	22	7,14 ± 0,51 ^a	10,23 ± 0,69 ^a	0,70 ± 0,04 ^a
	0,2	20	7,52 ± 0,46 ^a	11,07 ± 0,49 ^a ##	0,67 ± 0,03 ^a
	0,5	18	7,48 ± 0,49 ^a	10,89 ± 0,69 ^a #	0,69 ± 0,03 ^a
	0,9	22	7,21 ± 0,62 ^a	10,38 ± 1,19 ^{ac}	0,70 ± 0,02 ^a

@ : Rata-rata ± simpangan baku

a, b, c : tanda berbeda nyata hasil uji LSR untuk baris dalam kolom yang sama

: berbeda nyata ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kontrol – uji LSR

: berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) dibandingkan dengan kontrol – uji LSR



Gambar 4 Indeks panjang bagian yang menulang femur embrio ayam broiler (Tegel TM 70) yang hidup sampai hari ke-13 inkubasi. # = berbeda nyata ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kontrol

dosis 0,5 mg nyata meningkatkan panjang tulang dibandingkan dengan kontrol ($p < 0,05$). Perlakuan dengan seng sulfat tidak berpengaruh nyata terhadap indeks panjang bagian yang menulang.

3. Luas penampang tulang femur

Pada tabel 3 dan gambar 5 disajikan luas penampang bagian yang menulang, luas penampang tulang dan indeks luas penampang bagian yang menulang tulang femur embrio ayam yang hidup sampai hari ke-13 inkubasi.

Perlakuan dengan seng sulfat pada hari ke-2 inkubasi mempersempit luas penampang bagian yang menulang sejalan dengan penambahan dosis. Perlakuan dengan dosis 0,2 mg dan 0,5 mg tidak berpengaruh nyata terhadap luas penampang bagian yang menulang. Hanya perlakuan dengan dosis 0,9 mg per telur yang menyebabkan luas penampang bagian yang menulang sangat nyata lebih sempit dibandingkan dengan kontrol ($p < 0,01$). Perlakuan

Tabel 3 Pengaruh seng sulfat terhadap luas penampang bagian yang menulang dan luas penampang tulang femur embrio ayam broiler (Tegel Tm 70) yang hidup pada umur 13 hari inkubasi

Umur inkubasi (hari)	Dosis ZnSO ₄ per telur (mg)	Jumlah embrio yang diamati	Luas penampang (mm ²) @		Indeks luas penampang @ bagian yang menulang (x/y)
			Bagian yang menulang (x)	Tulang (y)	
2	0,0	18	0,71 ± 0,16 ^a	0,92 ± 0,20 ^a	0,79 ± 0,22 ^a
	0,2	16	0,66 ± 0,17 ^a	0,94 ± 0,13 ^a	0,68 ± 0,12 ^a
	0,5	11	0,64 ± 0,22 ^a	0,89 ± 0,19 ^a	0,70 ± 0,14 ^a
	0,9	5	0,37 ± 0,09 ^{b##}	0,69 ± 0,21 ^{b##}	0,55 ± 0,05 ^{b#}
4	0,0	23	0,59 ± 0,12 ^a	0,79 ± 0,12 ^a	0,74 ± 0,05 ^a
	0,2	20	0,58 ± 0,14 ^a	0,79 ± 0,14 ^a	0,73 ± 0,05 ^a
	0,5	20	0,57 ± 0,10 ^a	0,83 ± 0,10 ^a	0,69 ± 0,07 ^{b#}
	0,9	20	0,56 ± 0,10 ^a	0,81 ± 0,09 ^a	0,69 ± 0,09 ^{b#}
6	0,0	22	0,79 ± 0,19 ^a	1,06 ± 0,22 ^a	0,75 ± 0,19 ^a
	0,2	20	0,71 ± 0,21 ^a	1,03 ± 0,23 ^a	0,68 ± 0,13 ^a
	0,5	18	0,52 ± 0,16 ^{b##}	0,89 ± 0,16 ^{b#}	0,58 ± 0,14 ^{b#}
	0,9	22	0,54 ± 0,14 ^{b##}	0,97 ± 0,14 ^{ab}	0,55 ± 0,09 ^{b#}

@ : rata-rata ± simpangan baku

a, b, : tanda berbeda nyata hasil uji LSR untuk baris dalam kolom yang sama

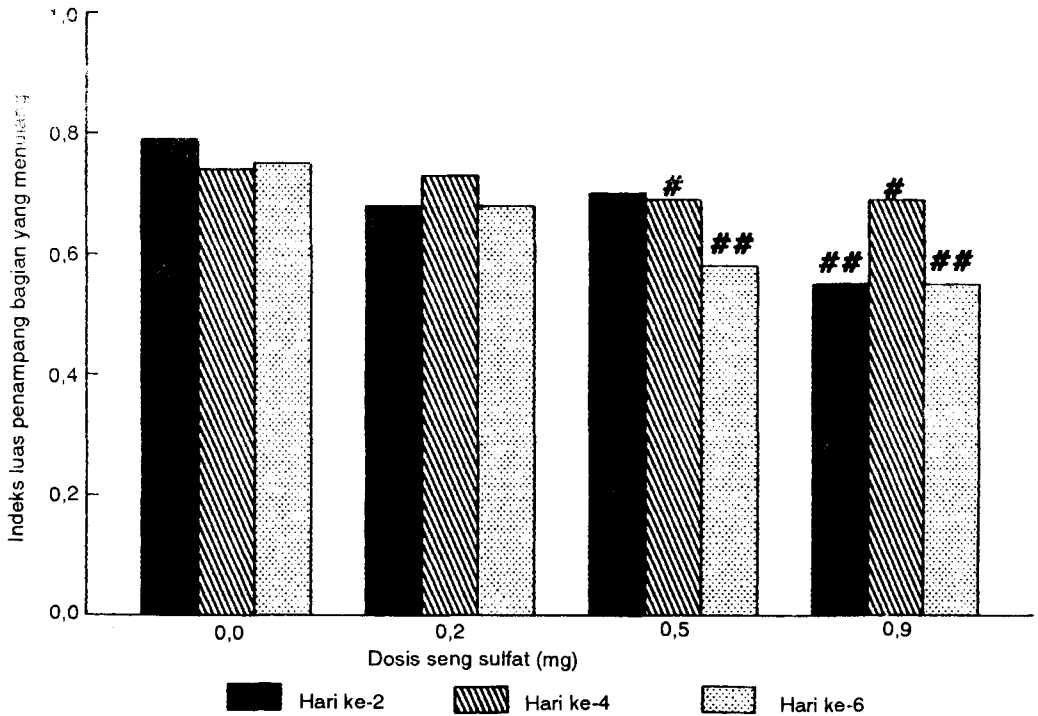
: berbeda nyata ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kontrol – uji LSR

: berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) dibandingkan dengan kontrol – uji LSR

dengan dosis 0,2 mg menyebabkan luas penampang tulang bertambah, tetapi tidak berbeda nyata dari kontrol. Perlakuan dengan dosis 0,5 mg tidak berpengaruh nyata terhadap luas penampang tulang. Luas penampang tulang sangat nyata lebih sempit dibandingkan dengan kontrol pada perlakuan dengan dosis 0,9 mg ($p < 0,01$). Perlakuan dengan dosis 0,2 mg dan 0,5 mg tidak berpengaruh nyata terhadap indeks luas penampang bagian yang menulang. Indeks luas penampang bagian yang menulang sangat nyata menurun dibandingkan dengan kontrol pada perlakuan dengan dosis 0,9 mg seng sulfat per telur ($p < 0,01$).

Pengaruh perlakuan dengan seng sulfat pada hari ke-4 inkubasi terhadap luas penampang bagian yang menulang dan luas penampang tulang tidak berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol. Perlakuan dengan dosis 0,5 mg dan 0,9 mg nyata menurunkan indeks luas penampang bagian yang menulang dibandingkan dengan kontrol ($p < 0,05$).

Perlakuan dengan seng sulfat 0,2 mg pada hari ke-6 inkubasi tidak berpengaruh nyata terhadap luas penampang bagian yang menulang. Dosis 0,5 mg dan dosis 0,9 mg seng sulfat sangat nyata mempersempit luas penampang bagian yang menulang dibandingkan dengan



Gambar 5 Indeks luas penampang bagian yang menulangi tulang femur pada embrio ayam broiler (Tegel TM 70) yang hidup sampai hari ke-13 inkubasi. # = berbeda nyata ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kontrol – uji LSR. ## = berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) dibandingkan dengan kontrol – uji LSR

kontrol ($p < 0,01$). Perlakuan dengan dosis 0,2 mg dan 0,9 mg tidak berpengaruh nyata terhadap luas penampang tulang. Hanya perlakuan dengan dosis 0,5 mg yang menyebabkan luas penampang tulang nyata lebih sempit dibandingkan dengan kontrol ($p < 0,05$). Perlakuan dengan dosis 0,2 mg tidak berpengaruh nyata terhadap indeks luas penampang bagian yang menulangi. Indeks luas penampang bagian yang menulangi sangat nyata lebih kecil dibandingkan dengan kontrol ($p < 0,01$), setelah mendapat perlakuan dengan dosis 0,5 mg dan 0,9 mg seng sulfat per telur.

Pembahasan

Baik rawan maupun tulang mengandung matriks organik kolagen yang merupakan penentu sifat fisikokimia kedua jaringan tersebut. Keras dan resisten sebagai sifat utama tulang disebabkan adanya interaksi antara serabut kolagen dan kristal hidroksiapatit (Schuette & Linkswiler, 1984). Serabut kolagen tersusun atas molekul dasar yang disebut tropokolagen.

Susunan tropokolagen bervariasi, sehingga bisa dibedakan serabut kolagen jenis I yang terdapat pada tulang dengan serabut kolagen jenis II yang banyak ditemukan pada rawan. Tropokolagen dirangkai dengan ikatan silang kovalen (*covalent cross-link*) yang disebut sindesin, sehingga terbentuk serabut kolagen yang kokoh (White dkk., 1978).

Prokolagen sebagai bentuk awal tropokolagen, disintesis oleh mesenkim, fibroblast dan kondroblast. Sindesin yang diperlukan untuk merangkai tropokolagen yang kokoh dibentuk dengan bantuan enzim lisil oksidase (Devlin, 1981). Lisil oksidase telah berhasil diisolasi, misalnya dari epifisis embrio ayam. Enzim ini mempunyai berat molekul 32.000 dan mengandung satu atom tembaga (Cu) per mol (Iguchi & Sano, 1985). Telah dilaporkan bahwa aktivitas enzim tergantung pada ion tembaga. Penambahan seng dapat menurunkan kadar tembaga dalam serum atau jaringan lain. Hal ini terjadi karena terganggunya enzim pengangkut kedua logam itu dari usus, atau ada kompetisi di antara logam tersebut dalam mendapatkan "ligand" yang terdiri atas N-S. Pada tikus muda, penambahan seng cenderung menghambat aktivitas lisil oksidase (Chvapil & Misiorowski, 1980). Lisil oksidase yang diisolasi dari epifisis embrio ayam jika embrio itu diinkubasikan dengan 1×10^{-4} M seng menunjukkan 0,38 g-atom seng terikat pada enzim, sedangkan 65% tembaga dilepaskan. Akibat perlakuan itu akan terjadi penghambatan 34% aktivitas lisil oksidase (Iguchi & Sano, 1985). Bila aktivitas lisil oksidase menurun, maka sintesis kolagen akan terhambat.

Pada tabel 2 dan 3 disampaikan hasil pengukuran tulang femur. Panjang tulang dan panjang bagian yang menulang masing-masing menggambarkan proses kondrifikasi dan osifikasi yang terjadi. Laju osifikasi pada tulang femur tercermin dari perhitungan indeks panjang bagian yang menulang. Cara pengukuran ini sama seperti yang dilakukan oleh Djuhanda (1984). Pada osifikasi endokondral, pertumbuhan longitudinal diafisis terutama terjadi sebagai akibat kegiatan osteogenik lempeng epifisis, sedangkan pertumbuhan tulang transversal disebabkan pembentukan tulang oleh periosteum.

Osteoblast pada periosteum mensintesis matriks kolagen, namun dari pihak yang berlawanan osteoklast meresorpsi matriks tulang tersebut dengan cara mensekresikan kolagenase dan enzim katalitik lain. Kolagenase sudah diketahui membutuhkan seng untuk aktivitasnya (Starcher dkk., 1980). Luas rongga sumsum dan tebal tulang atau penampang bagian yang menulang ditentukan oleh kedua aktivitas yang berlawanan tersebut. Adanya pembentukan dan penghancuran mengakibatkan struktur dan bentuk tulang bersifat dinamis. Menurut Urist (dalam Wozný dkk., 1988), sifat dinamis tulang dikendalikan oleh protein morfogenetik tulang (BMP = *Bone Morphogenetic Protein*) yang mirip dengan protein perangsang pertumbuhan fibroblast. Namun yang secara luas sudah diakui, hormon mempunyai peranan penting dalam menentukan keseimbangan itu.

Berdasarkan uraian tersebut, mekanisme efek seng pada proses penulangan berlangsung dalam dua kejadian. Pertama, seng menggeser dan menggantikan kedudukan tembaga dari enzim lisil oksidase, sehingga aktivitas biosintesis kolagen menurun. Kedua, penambahan seng meningkatkan aktivitas kolagenase sebagai metaloenzim seng, dengan akibat kegiatan meresorpsi matriks kolagen bertambah.

Jika penambahan seng bisa menghambat biosintesis kolagen, maka tulang akan menjadi tipis atau luas penampang bagian yang menulang menjadi sempit. Berdasarkan kenyataan tersebut, dalam mempelajari pengaruh seng sulfat terhadap proses penulangan, dilakukan pengukuran luas penampang bagian yang menulang dan luas penampang tulang. Hasil perhitungan indeks luas penampang bagian yang menulang mencerminkan laju pertumbuhan tulang secara transversal. Ketebalan tulang telah dikaji pula oleh Iguchi dan Sano (1982). Mereka membuat sayatan membujur tulang panjang dan membandingkan secara kualitatif antara kontrol dan perlakuan, namun mereka tidak membuat sayatan melintang dan tidak mengukur luas penampang tulang.

Hasil analisis penulangan pada tulang femur tampak jelas: perlakuan dengan seng sulfat pada hari ke-2 dan ke-6 inkubasi memberikan pengaruh yang lebih nyata dibandingkan dengan pengaruh pada hari ke-4. Kenyataan itu sejalan dengan mortalitas embrio seperti yang tercantum pada tabel 1. Dosis 0,5 mg dan 0,9 yang diinjeksikan pada hari ke-2 inkubasi sangat nyata meningkatkan mortalitas embrio dibandingkan dengan kontrol, maka bisa diartikan bahwa embrio ayam berumur dua hari inkubasi paling peka terhadap perlakuan dengan seng sulfat. Kontrol dari kelompok telur yang diinjeksi pada hari ke-4 inkubasi menunjukkan angka mortalitas yang paling rendah dibandingkan dengan telur kontrol yang diinjeksi pada hari ke-2 dan ke-6. Dari kenyataan itu bisa disimpulkan bahwa hari ke-2 dan ke-6 inkubasi adalah periode kritis bagi ayam galur Tegel TM 70. Romanoff dan Romanoff (1972) menyatakan, bahwa pada keadaan normal, mortalitas embrio ayam (*Gallus gallus*) terbesar akan terjadi pada tiga periode kritis, yaitu hari ke-4, ke-11 dan ke-19 inkubasi. Perbedaan ini diduga karena galur yang dipergunakan tidak sama.

Perlakuan dengan dosis 0,9 mg seng sulfat per telur pada hari ke-4 inkubasi cenderung meningkatkan panjang dan luas penampang tulang, meskipun tidak berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol. Sementara itu, perlakuan dengan dosis 0,9 mg pada hari ke-2, inkubasi nyata menurunkan panjang bagian yang menulang, panjang tulang, luas penampang bagian yang menulang serta luas penampang tulang. Perlakuan pada hari ke-6 inkubasi paling efektif menurunkan luas penampang bagian yang menulang dan luas penampang tulang. Meskipun demikian, seng sulfat lebih berpengaruh terhadap luas penampang bagian yang menulang daripada terhadap panjang bagian yang menulang. Demikian pula, seng lebih berpengaruh terhadap laju pertumbuhan tulang secara transversal daripada terhadap laju pertumbuhan tulang secara longitudinal (gambar 4 dan 5). Kejadian tersebut dapat diartikan bahwa seng lebih berpengaruh menghambat aktivitas osteogenik periosteum daripada aktivitas osteogenik lempeng epifisis.

Kesimpulan

1. Perlakuan dengan seng sulfat dosis 0,9 mg per telur pada hari ke-2 inkubasi nyata menurunkan panjang dan luas penampang tulang femur.

2. Pengaruh seng sulfat lebih nampak terhadap tebal bagian diafisis yang menulang daripada terhadap panjang bagian difisis yang menulang. Tebal tulang diafisis tampak lebih tipis.
3. Seng tampaknya lebih berpengaruh menghambat aktivitas osteogenik periosteum daripada aktivitas osteogenik lempeng epifisis.

Ucapan terima kasih

Pelaksanaan penelitian ini sebagian dilakukan di Bagian Virologi Bio Farma Bandung dan untuk itu kami mengucapkan terima kasih atas segala fasilitas yang diberikan.

Daftar pustaka

- Chvapil, M. & R. Misorowski. 1980. *In vivo* inhibition of lysyl oxidase by high dose of zinc. *Proc. Soc. Exp. Med.* **164**: 134-41.
- Conn, H.J., M.A. Darrow & V.M. Emmel. 1960. *Staining procedures*. The Williams & Wilkins Co. Baltimore.
- Devlin, T.M. 1981. *Textbook of biochemistry with clinical correlation*. Wiley Medical. h. 944-50.
- Djuhanda, T. 1984. *Perkembangan rangka sayap dan tungkai embrio ayam (Gallus gallus) setelah diadakan perlakuan dengan insektisida karbaril*. Tesis S-2 Biologi. Universitas Gajah Mada Yogyakarta.
- Ferm, V.H. 1972. *The teratogenic effects of the metals on mammalian embryos*. Department of Anatomy/Cytology, Dartmouth Medical School. New Hampshire USA. h. 54-5.
- Iguchi, H. & S. Sano. 1982. Effect of cadmium on the bone collagen metabolism of rat. *Toxicol. and Applied Pharmacol.* **62**: 126-38.
- Iguchi, H. & S. Sano. 1985. Cadmium- or zinc-binding to bone lysyl oxidase and copper replacement. *Connective Tissue Research.* **14**: 129-39.
- Miller, J.M. & M.W. Neathery. 1981. Manifestation of zinc abnormalities in animals. Dalam: *Zinc in the environment*. J.O. Nriagu (ed). A Wiley-Interscience Publication, John Wiley & Sons. New York. h. 61-70.
- Romanoff, A.L. & A.J. Romanoff. 1972. *Pathogenesis of the avian embryo*. Wiley-Interscience. New York. h. 25.
- Sandstead, H.H. & G.W. Evans. 1984. Seng. Dalam: *Pengetahuan gizi mutakhir, mineral*. R.E. Olson. Alih bahasa oleh A.H. Nasoetion. Penerbit PT. Gramedia. Jakarta. h. 98-127.

- Schuette, S.A. & H.M. Linkswiler. 1984. Kalsium. Dalam: *Pengetahuan gizi mutakhir, mineral*. R.E. Olson. Alih bahasa oleh A.H. Nasoetion. Penerbit PT. Gramedia. Jakarta. h. 1-16.
- Sancher, B.C., C.H. Hill & J.G. Madaras. 1980. Effect of zinc deficiency on bone collagenase and collagen turnover. *J. Nutr.* **110**: 2095-102.
- Steel, R.G.D. & J.H. Torrie. 1981. *Principles and procedures of statistics*. McGraw-Hill International Book Company. Singapore.
- Suprianti, S., S. Suwirna & Y. Sofyan. 1983. Penentuan kadar logam berat Hg, Pb, Cd, Ni, Zn, Cr, As dan Th dalam air limbah industri di daerah Jakarta-Tangerang-Bekasi (Jabotabek). *Majalah Batan.* **16**: 17-26.
- Tienhoven, V.A. 1968. *Reproductive physiology of vertebrata*. W.B. Saunders Co. London. h. 378.
- Vallee, B.L. & D.S. Auld. 1990. Zinc coordination, function and structure of zinc enzymes and other protein. *Biochemistry.* **29**: 5647-59.
- White, A., P. Handler, E.L. Smith & I.R. Lehmen. 1978. *Principles of biochemistry*. McGraw-Hill Kogakusha. Tokyo. h. 1135-43.
- Wozney, J.M., V. Rosen, A.J. Celeste, L.M. Mitsock, M.J. Whitters, R.W. Kriz, R.H. Hewick & E.A. Wang. 1988. Novel regulators of bone formation: molecular clones and activities. *Science.* **243**: 1528-34.